



**Facultad de Veterinaria
Universidad Zaragoza**



Trabajo Fin de

Autor/es

Director/es

Facultad de Veterinaria



ÍNDICE

1.	Resumen	2
2.	Abstract.....	3
3.	Introducción.....	4
	3.1 La perdiz roja (<i>Alectoris rufa</i>).....	4
	3.2 Virus Bagaza (BAGV)	6
4.	Justificación y objetivos	9
5.	Metodología.....	10
	5.1. Búsqueda bibliográfica.....	10
	5.2. Área de estudio	10
	5.3. Captura de aves y toma de muestras	11
	5.4. Análisis laboratorial	12
	5.5. Fototrampeo	12
	5.6. Análisis estadístico	14
6.	Resultados y discusión	15
	6.1. Captura de aves y toma de muestras	15
	6.2. Serología	17
	6.3. Fototrampeo	19
7.	Conclusiones	28
8.	Conclusions	28
9.	Valoración personal	29
10.	Referencias bibliográficas	30
	ANEXO I. Modelo de tabla de recogida de datos de cada ave muestreada.....	34

1. Resumen

La perdiz roja (*Alectoris rufa*) es una especie de ave esteparia, de la península ibérica, de gran relevancia ecológica y cinegética. En las últimas décadas, ha sufrido un notable descenso poblacional.

En 2010, un brote de mortalidad en Andalucía, sur de España, afectó severamente a las poblaciones de perdiz roja. Este brote fue causado por el virus Bagaza (BAGV), que volvió a ser detectado en el año 2019, siendo el último brote reportado en 2021 en España y en Portugal.

Los objetivos de este trabajo se centran en dos fincas ubicadas en Cádiz y han sido: (i) identificar factores externos que podrían influir en la aparición de brotes de mortalidad por BAGV en perdices rojas, (ii) detectar posibles especies reservorio del virus y (iii) determinar la proporción de perdices con anticuerpos frente a BAGV y otros Flavivirus tras el último brote. Para ello, se utilizaron un total de 234 sueros de perdices y 182 de otras aves silvestres, que fueron sometidos a pruebas ELISA para permitir un seguimiento más exhaustivo del virus. También se empleó el fototrampeo para conocer la riqueza específica, observar interacciones entre especies y contabilizar contactos directos entre especies silvestres y perdices rojas.

Los resultados mostraron una prevalencia de anticuerpos del 14.53% (34 de 234) en perdices y del 2,20% (4 de 182) en otras aves silvestres. No se pudieron identificar con certeza los factores externos que favorecen la aparición del BAGV, aunque se observó una estacionalidad en la seroprevalencia de Flavivirus en otoño. Se obtuvo un bajo número de aves silvestres con resultados positivos en la prueba ELISA, insuficiente para asegurar su contribución a la diseminación del BAGV. La seroprevalencia en perdices mostró una tendencia inversa entre las dos fincas. Finalmente, se destacó la utilidad del fototrampeo para estudiar la probabilidad de contacto entre especies y la riqueza específica en comunidades biológicas.

2. Abstract

The red-legged partridge (*Alectoris rufa*) is a steppe bird species from the Iberian Peninsula, with significant ecological and game value. In recent decades, it has experienced a notable population decline.

In 2010, a mortality outbreak in Andalusia, southern Spain, severely affected red-legged partridge populations. This outbreak was caused by the Bagaza virus (BAGV), which re-emerged in 2019, with the latest outbreak reported in 2021 in both Spain and Portugal.

The objectives of this study, conducted on two estates in Cádiz, were: (i) to identify external factors that might influence the occurrence of BAGV mortality outbreaks in red-legged partridges, (ii) to detect potential reservoir species of the virus, and (iii) to determine the proportion of partridges with antibodies against BAGV and other Flaviviruses following the latest outbreak. To achieve this, a total of 234 serum samples from red-legged partridges and 182 from other wild birds were collected and subjected to ELISA testing, allowing for more comprehensive monitoring of the virus. Camera trapping was also used to assess species richness, observe interspecies interactions, and count direct contacts between wild species and red-legged partridges.

The results showed an antibody prevalence of 14.53% (34 of 234) in partridges and 2.20% (4 of 182) in other wild birds. While external factors promoting BAGV outbreaks could not be definitively identified, a seasonal pattern in Flavivirus seroprevalence was observed in autumn. The low number of wild birds with positive ELISA results was insufficient to confirm their role in BAGV dissemination. Seroprevalence in partridges showed an inverse trend between the two studied estates. Finally, the usefulness of camera trapping was highlighted for studying the probability of contact between species and species richness in biological communities.

3. Introducción

3.1 La perdiz roja (*Alectoris rufa*)

La perdiz roja (*Alectoris rufa*) (Figura 1) es una especie de ave esteparia galliforme de la familia Phasianidae que es originaria de Europa Occidental. Se encuentra principalmente en el sur de Francia, la península ibérica (España y Portugal), algunas áreas del norte de Italia, Córcega y el oeste de Alemania (Blanco-Aguiar *et al.*, 2003).

En cuanto a su hábitat, la perdiz roja reside y se reproduce en gran variedad de entornos caracterizados por poseer poco relieve, aunque con un marcado predominio en campos de cultivo, pastizales, bosques de coscoja y prados costeros. Ocasionalmente, también se encuentra en áreas arenosas y montañosas que se elevan por encima de la línea del bosque (Svensson *et al.*, 2010).

La perdiz roja, además, cuenta con diferentes subespecies descritas, entre las cuales dos se encuentran presentes en España: *Alectoris rufa hispanica* y *Alectoris rufa intercedens*. La primera se localiza principalmente en el norte y oeste de la península ibérica. Por otro lado, *Alectoris rufa intercedens* predomina en el este y sur de la península ibérica, así como en el archipiélago balear. Estas subespecies presentan ligeras variaciones en su morfología y comportamiento adaptadas a sus respectivos hábitats, pero ambas contribuyen a la diversidad y riqueza de la fauna española (Blanco-Aguiar *et al.*, 2003).

Así mismo, cabe mencionar su histórica y exitosa introducción en Reino Unido y los archipiélagos de Azores y Madeira (Farfán *et al.* 2022). En la península ibérica, el papel de la perdiz roja cobra especial importancia debido a que es una de las aves esteparias más emblemáticas asentadas en el país, así como por su importancia en el ámbito ecológico y cinegético, siendo considerada la reina de la caza menor en el territorio español (Arroyo *et al.*, 2022).

Actualmente, según el libro rojo de especies amenazadas de la Unión Internacional para Conservación de la Naturaleza (IUCN), la perdiz roja se encuentra clasificada como “Near threatened” (“Casi amenazada”), debido a que la población ha descendido en un 20-29% (Birdlife International, 2020).

Son varias las causas responsables de esta regresión poblacional, (Buenestado Malfeito, 2018) describe con detalle varias de estas causas:

- El cambio en el uso del suelo de sus hábitats

La intensificación de la actividad agrícola supone una pérdida de cobertura vegetal que afecta tanto a la nidificación de esta especie, como al aumento de la tasa de depredación.

- Depredación y control de depredadores

La perdiz roja es presa de la depredación en todas las etapas de su ciclo vital, destacando la fase incubación. Conviene destacar la presencia de depredadores oportunistas, tales como zorros, perros y urracas, que atacan nidos de perdiz roja. El control de estos depredadores reduce la tasa de depredación de especies vulnerables como la perdiz roja.

- Enfermedades de etiología diversa.

La mayor parte de información sobre las enfermedades descritas en perdices rojas provienen principalmente de individuos de granja, ya que hay escasa información procedente de poblaciones silvestres debido, entre otras razones, a su limitada distribución global. Entre dichas enfermedades, destacan principalmente las de etiología vírica, como la viruela aviar (Buenestado Malfeito, 2018), en la que cobra un gran papel la presencia de mosquitos por ser vectores mecánicos en la transmisión del virus. En el caso de las de etiología bacteriana predomina la colibacilosis (Díaz-Sánchez *et al.*, 2013), una patología de las más frecuentes y que más número de bajas causa en granjas. En cuanto a las enfermedades de etiología parasitaria, son predominantes las infestaciones por protozoos como los coccidios, que provocan elevada mortalidad y morbilidad (Revilla *et al.*, 2007).



Figura 1. Perdiz roja (*Alectoris rufa*). Imagen cedida por Raquel Mansilla Cerdán.

3.2 Virus Bagaza (BAGV)

En agosto del año 2010, aconteció en la provincia de Cádiz, en el sur de España, un brote de mortalidad alarmante que azotó gran parte de las poblaciones de perdiz roja de la zona. Este brote fue causado por un virus perteneciente al género *OrthoFlavivirus* (Postler *et al.*, 2023), no detectado en la península ibérica hasta ese momento, que recibe el nombre de virus Bagaza (BAGV, del inglés Bagaza virus) (Agüero *et al.*, 2011).

El virus Bagaza (BAGV) fue aislado por primera vez en África en 1966, en el distrito del que recibe su nombre (Digoutte, 1978). Se trata de un virus ARN perteneciente a la familia *Flaviviridae*, que también alberga otros virus notorios, como son el Virus del Nilo Occidental (WNV, del inglés West Nile virus), y los virus Usutu (USUV, del inglés Usutu virus), Dengue y Zika (Benzarti *et al.*, 2019). A su vez, se trata de un patógeno que se encuadra dentro de los arbovirus, debido a que su principal vía de transmisión es mediante vectores (Moureau *et al.*, 2007).

Antes de profundizar únicamente en este virus, es oportuno explicar la taxonomía que hace que pueda encuadrarse dentro del género *OrthoFlavivirus* y que, por tanto, presente tantas similitudes con otros virus más conocidos.

Moureau *et al.* (2015) dividen filogenéticamente esta familia en tres principales grupos de acuerdo con las rutas de transmisión llevadas a cabo para los virus que forman parte de ellas (Figura 2):

- Los virus transmitidos por artrópodos, tanto mosquitos como garrapatas, transmitidos horizontalmente mediante picadura a otros hospedadores vertebrados.
- Flavivirus transmitidos por vectores aún desconocidos.
- Los que tienen su ciclo única y específicamente en insectos, es decir, Flavivirus que únicamente pueden replicarse en los insectos.

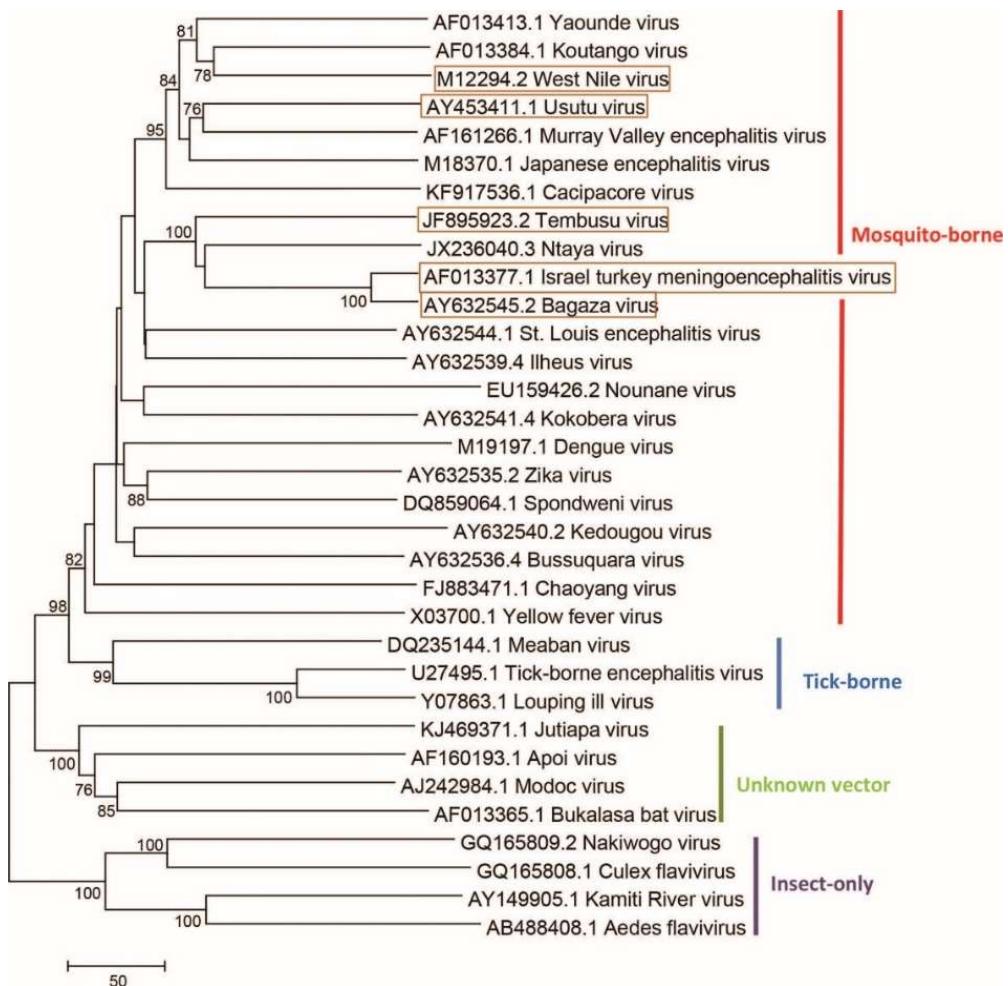


Figura 2. Filogenia de secuencias parciales conservadas de genes que codifican una proteína no estructural presente en diversas cepas representativas de la familia Flaviviridae (Benzarti *et al.*, 2019).

Por su parte, estos virus pueden clasificarse desde un punto de vista serológico en dos grandes grupos: el serocomplejo de la encefalitis japonesa, que se incluye el virus de la encefalitis japonesa (JEV, del inglés Japanese encephalitis virus), el virus de la fiebre del Nilo (WNV), o el virus Usutu (USUV); y el serocomplejo Ntaya (Benzarti *et al.*, 2019). El virus Bagaza se encuadra serológicamente dentro de este último, al que también pertenece el virus de la meningoencefalomielitis del pavo de Israel (ITV, del inglés Israel turkey meningoencephalitis virus), entre otros, siendo este último de características notablemente similares al virus Bagaza y filogenéticamente idénticos (Braverman *et al.*, 2003); Fernández-Pinero *et al.*, 2014).

El BAGV es un patógeno emergente en Europa, capaz de causar enfermedad y mortalidad en aves silvestres, tal y como se documentó por primera vez en el brote ocurrido en España en 2010 (Agüero *et al.*, 2011). A raíz de entonces, se observó que este virus afectaba a especies de caza menor como la perdiz roja y el faisán común (*Phaisanus colchicus*), y en menor medida

a la paloma torcaz (*Columba palumbus*). No obstante, la perdiz roja fue la especie notablemente más afectada que las otras (Gamino *et al.*, 2012). Entre la sintomatología presente en las especies afectadas, resaltan principalmente signos de carácter neurológico, tales como incoordinación, pérdida de capacidad para volar, debilidad y ceguera. En cuanto a la patogenia en dichas especies, Gamino (2013) explica cómo el BAGV presenta un amplio tropismo celular en perdices, dirigiéndose a diferentes tipos de células del organismo, aunque con especial predilección por el endotelio capilar. En el caso de los faisanes, se observa un tropismo neurológico específico, mientras que, en las palomas, solo unas pocas células endoteliales de los capilares esplénicos presentaban antígeno del BAGV.

Algunos estudios experimentales y la observación de brotes han revelado que las tasas de mortalidad en las poblaciones de perdiz roja atribuidas a la acción del virus Bagaza oscilan entre el 23% y el 30%. (Llorente *et al.*, 2015; García-Bocanegra *et al.*, 2012).

El BAGV había sido aislado anteriormente, a su vez, en India, en el año 1996. En este país, durante un brote de encefalitis japonesa en humanos reportado en distritos del estado de Kerala, se detectaron anticuerpos neutralizantes del virus BAGV en el 15% de la población humana afectada. Esta detección de anticuerpos sugiere, por tanto, que los humanos han estado expuestos a este virus, no obstante, su patogenicidad aún es incierta (Bondre *et al.*, 2009).

Después del brote en 2010 (Gamino *et al.*, 2012), dicho patógeno se registró de nuevo en España en el año 2019 (Höfle *et al.*, 2022) y también en 2021, momento en el que también se extendió a Portugal (Queirós *et al.*, 2022) causando igualmente un aumento sustancial de la mortalidad en sus poblaciones de perdiz roja.

Aunque el método por el que llegó el BAGV a España sigue siendo desconocido, su secuencia genética presenta una marcada similitud con la cepa encontrada en África y, en menor medida, con la detectada en la India (Agüero *et al.*, 2011). Esto sugiere la posibilidad de que haya sido introducido por aves migratorias procedentes de África (García-Bocanegra *et al.*, 2012).

La propagación del BAGV generalmente se produce mediante la picadura de mosquitos del género *Culex spp*, vectores culicoides en los que se aisló en primera instancia el virus en África. No obstante, se ha demostrado de manera experimental que también puede haber una transmisión directa entre las perdices rojas, de manera que las aves pueden infectarse entre sí

sin la necesidad de la intermediación de los mosquitos (Llorente *et al.*, 2015) (Figura 3). De este modo, probablemente las perdices infectadas puestas en estrecho contacto con otras sanas hubieran adquirido la infección a través de ruta oral-oral o mediante picoteo de piel y plumas. Además, existe la posibilidad de una transmisión indirecta a través de elementos contaminados, como el agua potable o los alimentos.

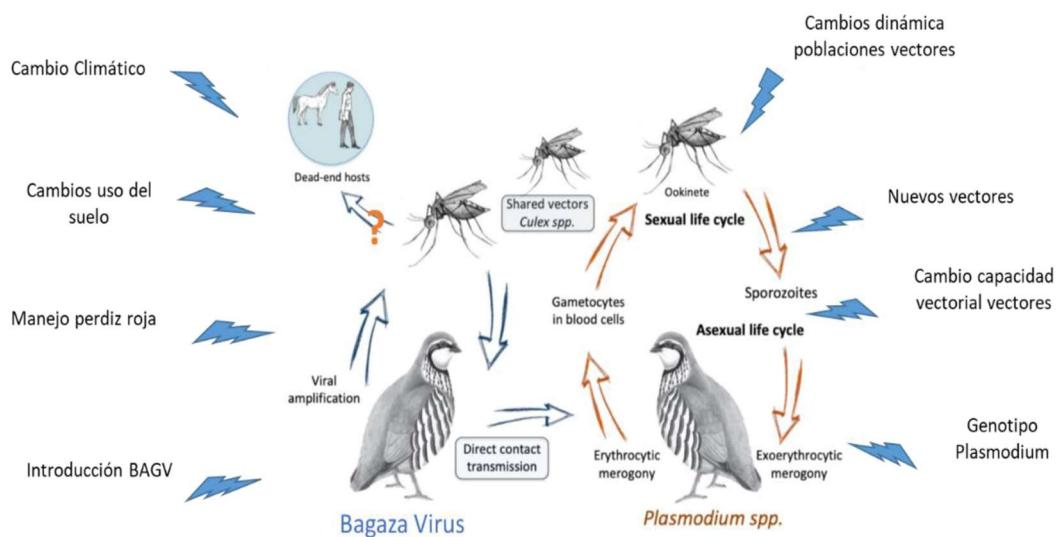


Figura 3. Ciclo de transmisión del BAGV en la perdiz roja junto con los factores que pueden modular y favorecer su transmisión (Imagen cedida por el IREC).

Se han descrito en perdices casos de coinfección del BAGV junto con *Plasmodium spp.*, parásito que ocasiona la malaria aviar, ocasionando una infección simultánea en el mismo hospedador por parte de ambos patógenos (Höffle *et al.*, 2022) (Figura 2). No obstante, aunque ambos patógenos comparten el mismo tipo de vectores para su transmisión en las aves, la relación y el tipo de interacciones entre Flavivirus y *Plasmodium spp.* en los mosquitos que se alimentan de aves y en sus huéspedes aviares no están claros, y la información disponible hasta la fecha es contradictoria (Medeiros *et al.*, 2014).

4. Justificación y objetivos

El interés que ha impulsado la realización de este trabajo se extiende a partir de una perspectiva investigadora con el propósito de conocer un nuevo patógeno emergente presente en la península ibérica, así como del efecto que produce en su hospedador diana, la perdiz roja. Este enfoque se justifica por el papel emblemático que desempeña esta especie no solo en el ámbito cinegético, sino también en el desequilibrio ecológico que puede suponer el declive poblacional de la misma.

Los objetivos planteados para este trabajo fueron:

- (I) Identificar los factores externos que pueden determinar la aparición de brotes de mortalidad por el virus Bagaza en las poblaciones de perdices afectadas en el sur de Cádiz con poblaciones autóctonas de perdiz roja.
- (II) Detectar posibles especies reservorio de mantenimiento del virus.
- (III) Determinar y cuantificar qué proporción de perdices en una población afectada presentan anticuerpos frente al virus Bagaza y frente a otros Flavivirus después del último brote de 2021.

5. Metodología

Este estudio se engloba dentro del proyecto denominado "Estudio de factores implicados en la aparición de brotes causado por coinfección entre virus Bagaza y malaria aviar en perdiz roja y de la eficacia de medidas de manejo para su mitigación" (Registro CEEA: PR-2022-11), informado favorablemente por la Comisión Ética para la Experimentación Animal de la Universidad de Castilla-La Mancha y autorizado por la dirección general de sostenibilidad y economía azul de la Junta de Andalucía.

5.1. Búsqueda bibliográfica

Durante el desarrollo de este trabajo, se han utilizado buscadores específicos para recopilar información, tales como Alcorze, PubMed, NCBI y Google Scholar. Para ello, se han buscado criterios y palabras específicas como: "BAGV", "Flavivirus" y "Alectoris rufa".

5.2. Área de estudio

El estudio tuvo lugar durante el periodo de tiempo comprendido entre los años 2022 y 2023, en dos fincas cinegéticas situadas al sur de la provincia de Cádiz, en Andalucía (Figura 4), donde gestionan de manera intensiva poblaciones autóctonas de perdiz roja. Esta región destaca por su clima mediterráneo, que se caracteriza por inviernos suaves y húmedos, así como veranos calurosos y secos, a menudo acompañados de períodos de sequía, y que supone un hábitat idóneo para la reproducción de aves esteparias como son las perdices.

En la primera de las dos fincas en cuestión, *El Pedroso* ($36^{\circ} 31' 19.4''$ N; $5^{\circ} 59' 12''$ W),

predomina el monte bajo, la actividad agrícola, con cultivos de cereales y árboles frutales y además hay presencia de ganado vacuno. Por otro lado, los terrenos de la otra finca, *Alquería* ($36^{\circ} 25' 03''$ N; $5^{\circ} 50' 15''$ W) incluyen olivares y pastizales, pero mayormente están dominados por monte mediterráneo medio y alto.

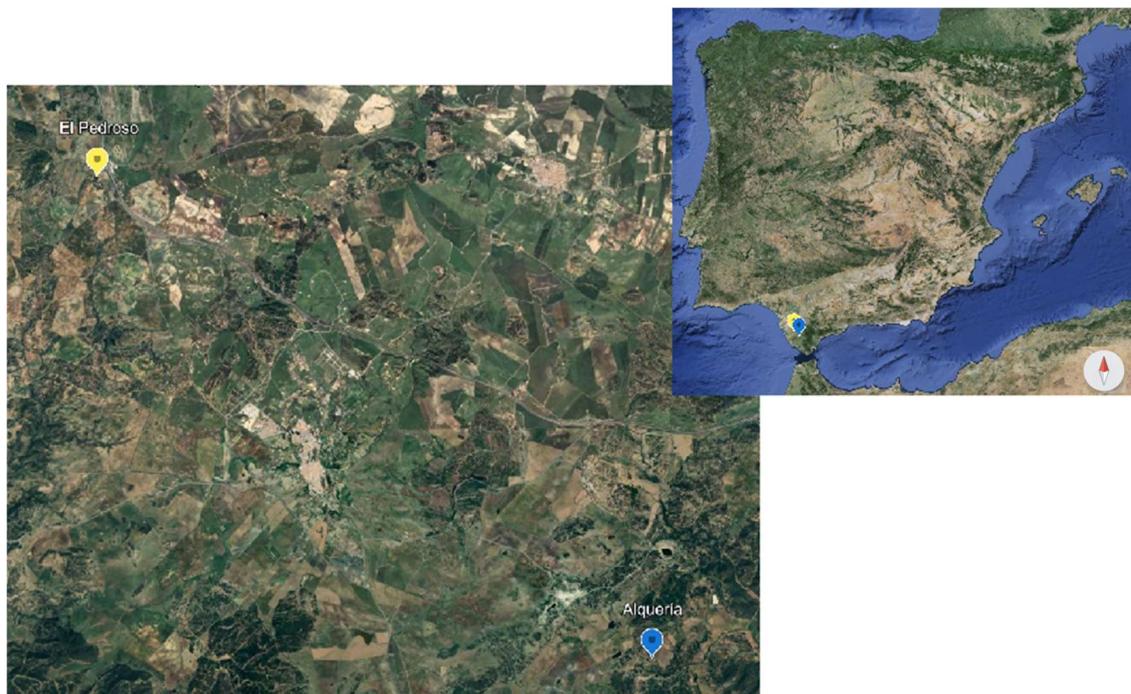


Figura 4. Mapa del área de estudio donde se representa la ubicación de las dos fincas cinegéticas de perdiz roja en el sur de Cádiz (marcador amarillo: finca *El Pedroso*; marcador azul: finca *Alquería*).

La selección de estas dos fincas como áreas de estudio tiene su justificación en que en la finca *El Pedroso* se detectó una mortalidad anormal de perdices en 2021, que se atribuyó a un brote de BAGV, mientras que en la finca *Alquería* no se detectó mortalidad.

5.3. Captura de aves y toma de muestras

Con el fin de obtener una muestra significativa de perdices y de otras especies de aves silvestres que frecuentan ambas fincas, se procedió a la captura de estas. El muestreo se realizó durante los años 2022 y 2023. La captura de las perdices se llevó a cabo mediante jaulas cebadas. Así mismo, se aprovecharon para el estudio y muestreo perdices cazadas en los ojos por el personal propietario de las fincas. Por otro lado, para el muestreo de las aves silvestres se empleó el uso de redes japonesas verticales, siguiendo el método descrito por

Dunn y Ralph (2004), llevado a cabo al amanecer y/o atardecer.

La identificación de cada ave (Anexo I) se realizó de manera exhaustiva a nivel de especie, se determinó su sexo y se tomaron datos biométricos (longitud de tarso, peso del animal), grados de engrasamiento y muscular, con posterior colocación de anilla metálica para su identificación siguiendo el esquema EURING.

Se obtuvieron muestras de sangre (0,2 ml) de la vena yugular empleando jeringas y agujas estériles de 30G. Posteriormente, la sangre fue transferida en recipientes estériles que contenían heparina de litio como anticoagulante. Cada muestra sanguínea fue sometida a centrifugación a 6000 rpm para separar el plasma y las células sanguíneas. El plasma, a su vez, se separó en alícuotas y se congeló a -20°C para su análisis posterior.

5.4. Análisis laboratorial

Las muestras de plasma obtenidas fueron sometidas a un proceso de inactivación durante 30 minutos a 56°C y se llevó a cabo un análisis serológico con el fin de determinar anticuerpos frente a Flavivirus con reacciones cruzadas. Para ello, utilizando 10 µl de plasma se realizó un ensayo de inmunoabsorción enzimática de bloqueo multiespecie comercial (ELISA; Ingezim West Nile Compac 10.WNV.K.3, Ingenasa, Madrid, España), que emplea como antígeno el WNV inactivado.

5.5. Fototrampeo

Se instalaron un total de 33 cámaras de fototrampeo (Strike Force HD Pro-X) en comederos y bebederos de ambas fincas. En la finca *El pedroso* se instalaron 19 (9 cámaras durante el verano de 2022 y 10 cámaras durante el invierno de 2023). En la finca *Alquería*, se instalaron 14 cámaras (4 cámaras durante el verano de 2022, mientras que en invierno de 2023 fueron colocadas 10 cámaras).

Las cámaras se instalaron a una distancia de 1 - 5 metros de comederos y bebederos existentes en las fincas, a una altura de 0,5 y hasta 1 metro (Figura 5). Las cámaras fueron orientadas hacia el norte con el fin de evitar imágenes sobreexpuestas por la luz solar. En la instalación de estas, se aprovechó la vegetación cercana, como árboles y piedras para colocarlas. Las cámaras

fueron programadas para capturar imágenes tanto de día como de noche de manera continua, con un nivel medio de sensibilidad. Así mismo, cada cámara fue configurada para tomar 4 fotos seguidas con un periodo de inactivación de 5 minutos, siendo activada mediante sensores de movimiento y de gradiente de calor al detectar presencia de individuos.



Figura 5. Imagen obtenida por una cámara de fototrampeo, enfocando un bebedero ubicado en la finca *El Pedroso*.

El empleo de cámaras con sensores de movimiento permite capturar material fotográfico de gran utilidad con el fin de obtener imágenes de especies que pasan por la zona donde la cámara se encuentra posicionada. El uso de la técnica de fototrampeo nos permite, principalmente:

- (I) Conocer la riqueza de especies que utilizan los comederos y bebederos.
- (II) Observar cómo diferentes especies interactúan en torno a los comederos y bebederos. Esto aporta información detallada acerca de sus patrones más claros de actividad, interacciones directas y dinámica de la comunidad de animales en ese entorno. Para determinar qué especies de aves silvestres o mamíferos pueden compartir espacio o coincidir temporalmente con las perdices capturadas por las cámaras trampa, como base para comprender la posible transmisión del BAGV.
- (III) Contabilizar los contactos directos de especies silvestres con perdiz roja para cada zona de estudio, es decir, ver qué especies interaccionan de manera directa con la perdiz.

Con el fin de tener todos los datos organizados para su posterior análisis, se registraron todas las especies animales avistadas en archivos de Excel individuales para cada cámara. Cada archivo Excel mantenía la misma estructura, recopilando: finca de procedencia, número de cámara, número de imagen y nombre de la especie observada (así como el número de individuos detectados en esa misma imagen).

El número de días que cada cámara ha estado en funcionamiento nos permitió obtener la operatividad de estas. La operatividad permite saber el tiempo que ha estado en funcionamiento cada cámara de fototrampeo. Este parámetro, a su vez, fue de gran utilidad para calcular la abundancia relativa (A.R.), a partir del cociente entre el conteo de cada especie y la operatividad total de las cámaras en cada finca. La abundancia relativa aporta información sobre la proporción que una especie particular representa respecto al conjunto total de individuos en una comunidad.

Se calculó en cada finca y en cada época de estudio que se empleó el fototrampeo (verano de 2022 e invierno de 2023) el índice de Shannon (H'). El empleo de este índice resulta de gran utilidad, ya que permite obtener la diversidad específica de ambas fincas. Así mismo, nos ha permitido comparar la diversidad de especies obtenida en cada finca con el efecto de la teoría de la dilución, la cual sugiere que una mayor biodiversidad en una comunidad puede reducir la prevalencia de enfermedades infecciosas (Ostfeld y Keesing, 2000).

Así mismo, se calculó el número de contactos directos de aves silvestres con las perdices rojas en total. A su vez, se obtuvo el ritmo de actividad de la perdiz con las aves silvestres más abundantes, para obtener información del grado de solapamiento de una especie silvestre con la perdiz roja. Esto nos permite decir que ambas especies puedan tener cierto contacto directo entre sí en algún momento del día.

5.6. Análisis estadístico

En este estudio se han obtenido, por una parte, datos de seroprevalencia resultante de los ELISAS, y por otro, datos de captura (visual) de individuos mediante el uso de fototrampeo. Con estos datos se han realizado pruebas de Chi-cuadrado con el fin de comparar las seroprevalencias entre fincas en los diferentes años (2022 y 2023) y estaciones (verano, otoño, invierno) en las que ha tenido lugar el estudio. Para ello, se han tenido en cuenta diferentes variables, tales como el año y mes de muestreo, finca de procedencia, de manera separada en

perdices de las otras especies de aves silvestres capturadas. Para el cálculo de valores significativos o no significativos mediante las pruebas chi-cuadrado se utilizó el programa online WinEpi 2.0 aceptando un nivel de confianza del 95%.

6. Resultados y discusión

6.1. Captura de aves y toma de muestras

Durante los muestreos llevados a cabo durante 2022 y 2023, se obtuvo una muestra total de 234 perdices, 159 procedían de la finca *El Pedroso*, siendo 117 de ellas cazadas y 42 capturadas en jaulas. En la finca *Alquería* se obtuvo un total de 75 perdices, de ellas 21 fueron cazadas y 54 capturadas en las jaulas. Por tanto, en total se obtuvieron 138 perdices de caza y 96 perdices fueron capturadas para el muestreo (Tabla 1).

Tabla 1. Número de perdices muestreadas según el tipo de método de muestreo.

Finca	Año	Mes	N.º de perdices		TOTAL
			Cazada	Capturada	
El Pedroso	2022	Agosto	0	21	21
		Octubre	55	0	55
		Noviembre	25	10	35
	2023	Enero	0	11	11
		Octubre	22	0	22
		Noviembre	15	0	15
			117	42	
Alquería	2022	Agosto	0	26	26
		Octubre	7	0	7
		Noviembre	14	15	29
	2023	Enero	0	13	13
			21	54	
			TOTAL		234

Del total de 182 aves silvestres capturadas con red japones esa, 103 procedían de *El Pedroso* y 79 de *Alquería* (Tabla 2). En *El Pedroso* se capturó un total de 18 especies diferentes, mientras que en *Alquería* se capturó menor diversidad, un total de 15 especies.

En el año 2022, la especie capturada con mayor frecuencia en la finca *El Pedroso*, fue el jilguero europeo (*Carduelis carduelis*) (19 jilgueros europeos de 45 ejemplares), mientras que en la finca *Alquería* resultó ser la tórtola europea (*Streptopelia turtur*) (8 ejemplares de 17),

una especie migratoria transahariana. En el año 2023, la curruca capirotada fue la especie más frecuentemente capturada en ambas fincas: 20 ejemplares de 58 en la finca *El Pedroso* y 21 de 62 en la finca *Alquería*.

El tener mayor frecuencia de unas especies en vez de otras en cada finca tiene su explicación en que, al ser la finca *El Pedroso* predominantemente agrícola la zona está frecuentada por especies ligadas a estos ecosistemas, como ocurre con el jilguero europeo o el escribano triguero (*Emberiza calandra*).

Tabla 2. Aves silvestres muestreadas mediante red japonesa en las dos fincas estudiadas durante los dos años de estudio.

Especie	El Pedroso		Alquería		TOTAL
	2022	2023	2022	2023	
Abubilla común (<i>Upupa epops</i>)	1	0	0	0	1
Cogujada común (<i>Galerida cristata</i>)	2	0	0	0	2
Cogujada montesina (<i>Galerida theklae</i>)	0	0	0	1	1
Curruca cabecinegra (<i>Sylvia melanocephala</i>)	2	2	5	9	18
Curruca capirotada (<i>Sylvia atricapilla</i>)	0	20	0	21	41
Curruca zarcera (<i>Sylvia communis</i>)	0	0	0	1	1
Escribano triguero (<i>Emberiza calandra</i>)	9	0	0	0	9
Faisán común (<i>Phasianus colchicus</i>)	2	0	0	0	2
Gorrión común (<i>Passer domesticus</i>)	0	4	0	0	4
Gorrión moruno (<i>Passer hispaniolensis</i>)	1	9	0	2	12
Jilguero europeo (<i>Carduelis carduelis</i>)	19	1	0	0	20
Lavandera blanca (<i>Motacilla alba</i>)	0	1	0	0	1
Mirlo común (<i>Turdus merula</i>)	0	0	0	1	1
Petirrojo europeo (<i>Erithacus rubecula</i>)	0	2	0	1	3
Pinzón vulgar (<i>Fringilla coelebs</i>)	0	0	0	2	2
Ruiseñor bastardo (<i>Cettia cetti</i>)	0	2	0	0	2
Ruiseñor común (<i>Luscinia megarhynchos</i>)	2	4	2	8	16
Serín verdecillo (<i>Serinus serinus</i>)	2	2	0	6	10
Tarabilla común (<i>Saxicola rubicola</i>)	2	5	2	0	9
Tórtola europea (<i>Streptopelia turtur</i>)	0	0	8	0	8
Verderón común (<i>Chloris chloris</i>)	3	3	0	5	11
Zarcero común (<i>Hippolais polyglotta</i>)	0	2	0	4	6
Zorzal común (<i>Turdus philomelos</i>)	0	1	0	1	2
TOTAL	45	58	17	62	182

6.2. Serología

En la perdiz roja se detectó una seroprevalencia de 13,29% (23 positivas de 173) en el año 2022 y de 18,03% (11 positivas de 61) en el año 2023. En el año 2022 la seroprevalencia fue parecida en ambas fincas: 13,51% (15 positivas de 111) en *El Pedroso* y 12,90% (8 positivas de 62) en *Alquería*. En el año 2023, sin embargo, fue marcadamente diferente; en la finca *El Pedroso* la seroprevalencia aumentó al 20,83% (10 positivas de 48), en cambio, en la finca *Alquería* disminuyó al 7,69% (1 positiva de 13) (Figura 6).

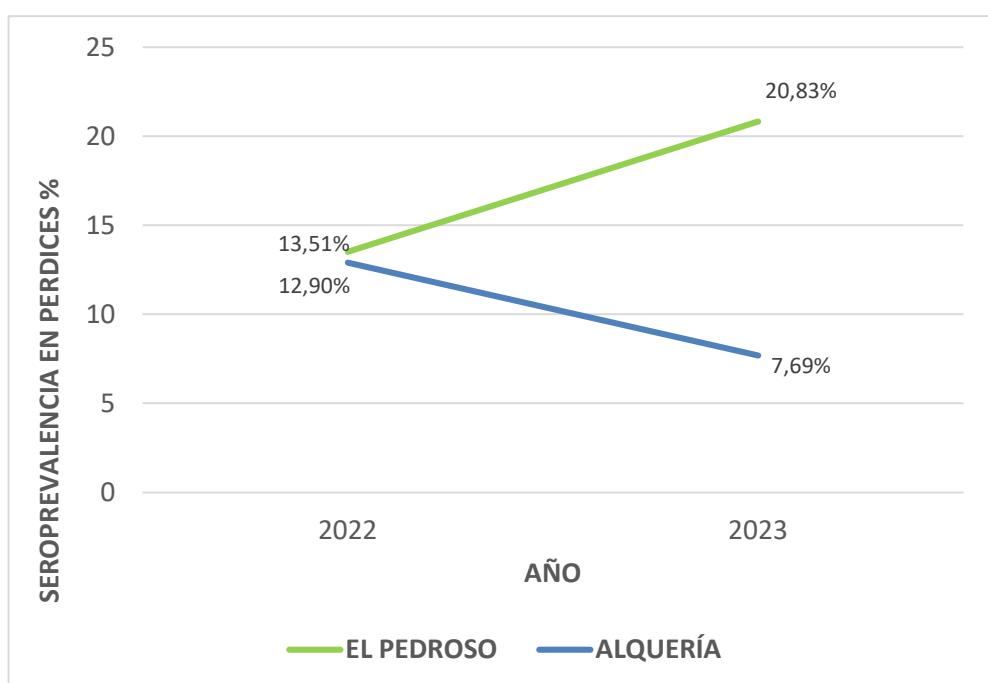


Figura 6. Proporción de perdices con anticuerpos frete a Flavivirus en ambas fincas de estudio en los periodos de muestreo de la temporada 22/23.

Para las variables “Seroprevalencia en perdices” y “Año” la prueba Chi-Cuadrado no mostró una asociación significativa ($p = 0,5991$).

Cuando analizamos los datos por estaciones se observó mayor seroprevalencia en perdices de ambas fincas en otoño que en verano e invierno. La seroprevalencia obtenida en otoño fue 20,24% (17 positivas de 84), notablemente aumentada frente a la obtenida en verano que fue 4,26% (2 positivas de 45) (Figura 7).

La prueba de Chi-cuadrado mostró una asociación significativa entre las variables “Seroprevalencia en perdices” y “Época” ($\chi^2 = 6,199$; $gl = 2$; $p = 0,0451$).

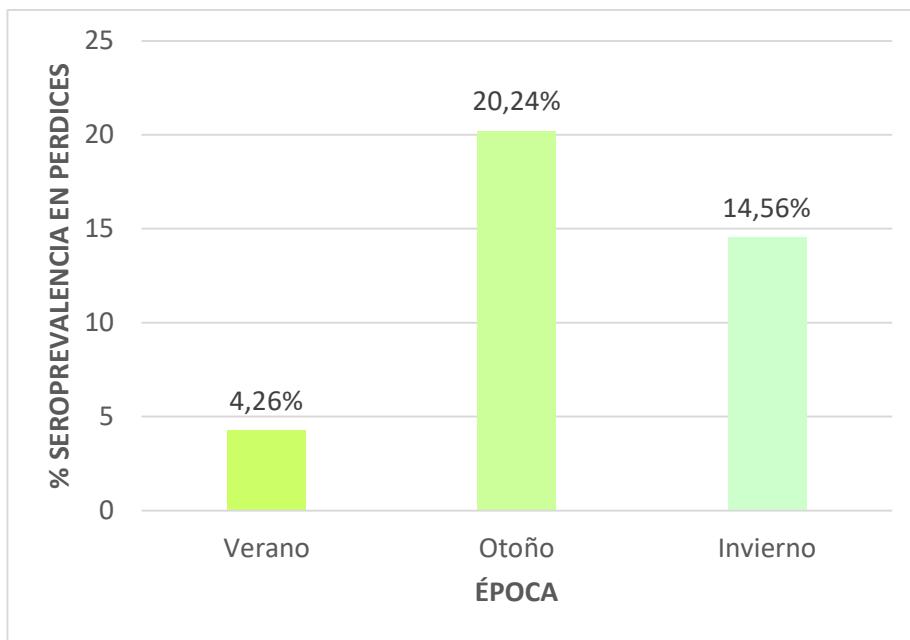


Figura 7. Seroprevalencia de Flavivirus en perdices de ambas fincas según estación del año (verano, otoño e invierno).

En cuanto a las otras especies de aves silvestres, cuatro ejemplares de las 182 capturadas presentaban anticuerpos frente a Flavivirus, siendo tres de ellos capturados en *Alquería* en 2022, que corresponden a dos tórtolas europeas y una curruca cabecinegra (*Sylvia melanocephala*). El otro ejemplar positivo procedente de *El Pedroso* se trataba de un ruiseñor común (*Luscinia megarhynchos*), capturado así mismo en 2022. Estas especies seropositivas en la prueba ELISA son especies migradoras que invernan en África y, por tanto, podría tratarse de WNV, de BAGV o USUV.

Por tanto, observamos mayor seroprevalencia frente a Flavivirus en perdices (14,53%) que en otras especies de aves silvestres (2,20%) (Figura 8). Con este resultado se demostró en la prueba Chi-Cuadrado que las variables “Seroprevalencia” y “Especies muestreadas” se encuentran significativamente asociadas ($\chi^2 = 18,622$; $gl = 1$; $p < 0,0001$).

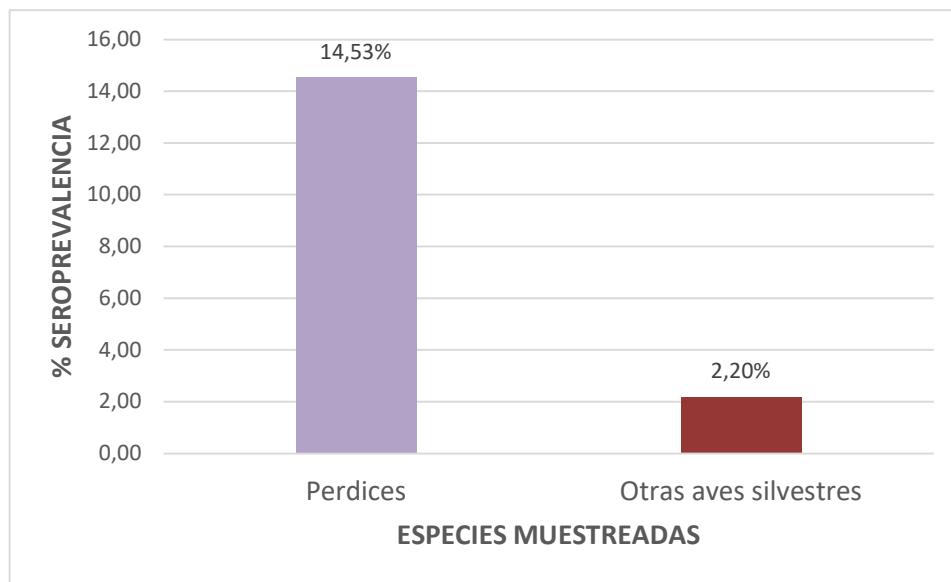


Figura 8. Comparación de seroprevalencias obtenidas en perdices y en otras aves silvestres en las dos fincas de estudio.

6.3. Fototrampeo

De ambas fincas se obtuvo un número total de 220014 imágenes (Tabla 3). Un total de 81491 imágenes (tanto en verano de 2022 como en invierno de 2023) procedían de la finca *El Pedroso*. 1388523 imágenes se obtuvieron de *Alquería* en ambas épocas de estudio.

Tabla 3. Número de imágenes obtenidas de cada cámara ubicada en las dos épocas de estudio (verano 2022 e invierno 2023) en ambas fincas del área de estudio

Finca	Época	N.º cámara	N.º imágenes /cámara	
El Pedroso	Verano 2022	3	4623	
		71	12255	
		72	3211	
		86	15792	
	Invierno 2023	32	974	
		36	4668	
		46	5272	
		49	7548	
		61	4825	
		74	773	
		77	5318	
		89	7797	
		104	4149	
		116	4286	
Total			81491	
Alquería	Verano 2022	44	2203	
		50	3721	
		61	19998	
		111	16662	
		116	13229	
		119	7687	
		128	5230	
		132	774	
		134	8330	
	Invierno 2023	7	11506	
		38	4124	
		65	4394	
		108	7874	
		118	10059	
		123	8345	
		125	2114	
		135	3758	
		138	1172	
		178	7343	
Total			138523	
TOTAL			220014	

Operatividad

Se calculó la operatividad de las cámaras de fototrampeo en cada época de estudio y en ambas fincas (Tabla 4).

Tabla 4. Operatividad individual y total de las cámaras colocadas en cada finca durante cada estación y año del estudio.

Operatividad				
Finca	Época	Nº cámara	Días	Total (días)
Alquería	Verano 2022	44	7	264
		50	10	
		61	30	
		111	32	
		116	37	
		119	37	
		128	37	
		132	37	
		134	37	
		7	22	
El Pedroso	Invierno 2023	38	22	221
		65	22	
		108	18	
		118	22	
		123	22	
		125	22	
		135	22	
		138	22	
		172	27	
		3	31	
El Pedroso	Verano 2022	71	31	137
		72	31	
		86	44	
		32	12	
	Invierno 2023	36	24	220
		46	16	
		49	24	
		61	24	
		74	24	
		77	24	
		89	24	
		104	24	
		116	24	

Riqueza de especies y abundancia relativa

Mediante las cámaras de fototrampeo ubicadas en ambas fincas, se ha podido estimar la riqueza específica de cada finca contando el número de especies de aves avistadas en cada finca. La finca *El Pedroso* presentó una mayor riqueza específica (número de especies = 32) con respecto a *Alquería* (número de especies = 27) (Tabla 5).

Así mismo, se ha obtenido el conteo total de cada especie, así como su abundancia relativa. En ambas fincas, la perdiz roja fue la especie con mayor número de conteo obtenido (resultando 4339 en *El Pedroso* y 29526 en *Alquería*), seguida de la curruca capirotada.

La especie con mayor abundancia relativa (A.R.) en ambas fincas fue la perdiz roja siendo la finca *Alquería* (A.R. = 112.82) más abundante en perdices que *El Pedroso* (A. R. = 28.70).

Tabla 5. Tabla comparativa de ambas fincas según riqueza específica, conteo y abundancia relativa.

Especie	El Pedroso			Alquería		
	Presencia	Conteo	Abundancia relativa	Presencia	Conteo	Abundancia relativa
Abubilla común (<i>Upupa epops</i>)	si	6	0,04	si	1	0,00
Águila real (<i>Aquila chrysaetos</i>)	no	0	0,00	si	8	0,04
Alcaraván común (<i>Burhinus oedicnemus</i>)	si	13	0,08	no	0	0,00
Alcaudón común (<i>Lanius senator</i>)	no	0	0,00	si	2	0,01
Azor común (<i>Accipiter gentilis</i>)	si	2	0,01	no	0	0,00
Búho real (<i>Bubo bubo</i>)	si	4	0,03	si	84	0,32
Cárabo común (<i>Strix aluco</i>)	si	25	0,18	si	21	0,10
Carbonero común (<i>Parus major</i>)	si	65	0,47	no	5	0,02
Carricero común (<i>Acrocephalus scirpaceus</i>)	si	1	0,01	si	14	0,05
Cigüeñuela común (<i>Himantopus himantopus</i>)	si	2	0,01	no	0	0,00
Cogujada común (<i>Galerida cristata</i>)	si	10	0,07	no	0	0,00
Colirrojo real (<i>Phoenicurus phoenicurus</i>)	no	0	0,00	si	18	0,07
Colirrojo tizón (<i>Phoenicurus ochruros</i>)	si	7	0,03	si	191	0,86
Curruca cabecinegra (<i>Sylvia melanocephala</i>)	si	266	1,40	si	595	2,42
Curruca capirotada (<i>Sylvia atricapilla</i>)	si	3052	13,87	si	18242	82,54
Estornino negro (<i>Sturnus unicolor</i>)	si	155	1,13	no	0	0,00
Faisán común (<i>Phasianus colchicus</i>)	si	536	3,53	no	0	0,00
Gorrion común (<i>Passer domesticus</i>)	si	439	2,54	si	40	0,18
Jilguero europeo (<i>Carduelis carduelis</i>)	si	21	0,14	si	228	0,90
Lavandera blanca (<i>Motacilla alba</i>)	si	1	0,00	si	2	0,01
Mirlo común (<i>Turdus merula</i>)	si	993	6,35	si	86	0,33
Mosquitero común (<i>Phylloscopus collybita</i>)	si	32	0,15	si	24	0,11
Paloma torcaz (<i>Columba palumbus</i>)	si	108	0,73	si	194	0,79
Perdiz roja (<i>Alectoris rufa</i>)	si	4339	28,70	si	29526	112,82
Petirrojo europeo (<i>Erithacus rubecula</i>)	si	1896	8,62	si	918	4,15
Pinzón vulgar (<i>Fringilla coelebs</i>)	si	56	0,25	si	360	1,63
Pito real (<i>Picus viridis</i>)	si	6	0,04	si	30	0,11
Rabilargo ibérico (<i>Cyanopica cooki</i>)	si	2	0,01	no	0	0,00
Ruisseñor común (<i>Luscinia megarhynchos</i>)	si	1	0,01	si	3	0,01
Serín verdecillo (<i>Serinus serinus</i>)	si	7	0,04	si	41	0,16
Tarabilla europea (<i>Saxicola rubicola</i>)	si	5	0,03	si	47	0,19
Tórtola europea (<i>Streptopelia turtur</i>)	si	760	5,55	si	28	0,11
Verderón común (<i>Chloris chloris</i>)	si	401	2,18	si	1238	5,26
Zarcero común (<i>Hippolais polyglotta</i>)	si	7	0,05	si	41	0,16
Zorzal común (<i>Turdus philomelos</i>)	si	972	4,42	si	2038	9,22
Riqueza específica	32			27		

Índice de Shannon (H')

El índice de Shannon ha resultado mayor en la finca *El Pedroso* que en *Alquería*. En *El Pedroso* se ha obtenido un $H' < 1.5$ tanto en verano como en invierno. En *Alquería*, sin embargo, se ha obtenido un $H' < 0.5$ en verano y en invierno $H' = 1$. (Figura 9), lo que supone una mayor diversidad de especies en la finca *El Pedroso*.

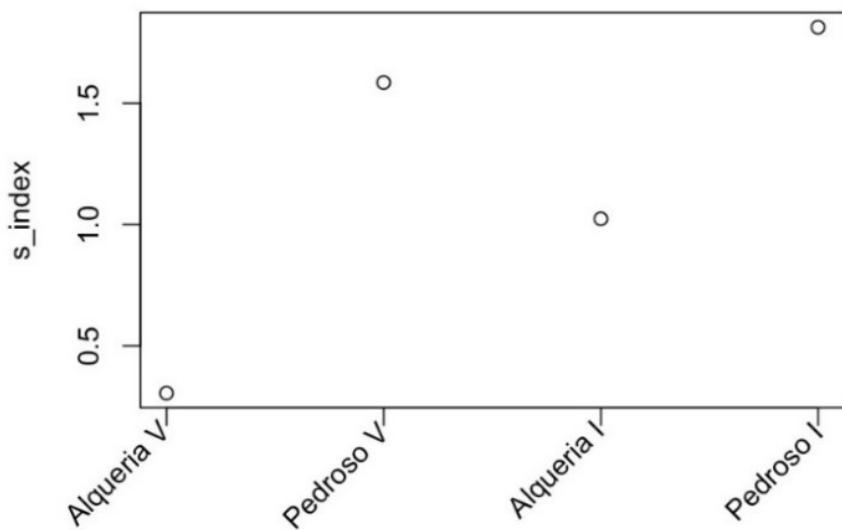


Figura 9. Índice de Shannon (H') obtenido en ambas fincas y en ambas épocas de estudio. (V = Verano; I = Invierno).

Según la teoría de la dilución (Ostfeld y Keesing, 2000) habríamos esperado menor seroprevalencia de Flavivirus en las perdices en la finca con menor diversidad de especies, sin embargo, aquí ha sucedido lo contrario. Si bien es cierto que en el ámbito del Parque Nacional de Doñana se ha constatado un resultado similar que contradice la teoría de la dilución, que dice que a mayor diversidad menos dispersión menor prevalencia de patógenos, es similar a lo hallado por Ferraguti *et al.*, (2021) en Doñana.

Contactos directos con perdiz roja

Se ha evidenciado que, especies como la curruca capirotada, el petirrojo europeo (*Erithacus rubecula*), la paloma torcáz y tórtola europea, han tenido mayor contacto directo con perdices en ambas fincas en comparación con otras especies (Tabla 6).

Tabla 6. Contactos directos con perdiz roja de cada especie registrada, en cada finca y en cada época de estudio.

Especie	Contactos directos con perdiz roja			
	Finca El Pedroso		Finca Alquería	
	Verano 2022	Invierno 2023	Verano 2022	Invierno 2023
Abubilla común (<i>Upupa epops</i>)	0	0	1	0
Alcaraván común (<i>Burhinus oedicnemus</i>)	0	0	0	0
Carricero común (<i>Acrocephalus scirpaceus</i>)	0	0	0	0
Colirrojo tizón (<i>Phoenicurus ochruros</i>)	0	0	0	1
Colirrojo real (<i>Phoenicurus phoenicurus</i>)	0	0	1	0
Curruca cabecinegra (<i>Sylvia melanocephala</i>)	0	1	0	0
Curruca capirotada (<i>Sylvia atricapilla</i>)	0	135	0	228
Faisán común (<i>Phasianus colchicus</i>)	4	0	0	0
Mosquitero común (<i>Phylloscopus collybita</i>)	0	0	0	0
Paloma torcaz (<i>Columba palumbus</i>)	10	1	52	2
Petirrojo europeo (<i>Erythacus rubecula</i>)	0	138	0	26
Tarabilla europea (<i>Saxicola rubicola</i>)	0	0	3	0
Tórtola europea (<i>Streptopelia turtur</i>)	124	0	15	0
Zarcero común (<i>Hippolais polyglotta</i>)	1	0	0	0
Zorzal común (<i>Turdus philomelos</i>)	0	81	0	39
Total	139	356	72	296

Solapamiento de actividad temporal

En la finca *El Pedroso*, durante el verano de 2022 la especie con mayor porcentaje de solapamiento de actividad temporal con la perdiz roja resultó ser la tórtola europea (81.45%); en invierno de 2022/2023, sin embargo, la especie con mayor solapamiento fue el petirrojo europeo (87.65%). En la finca *Alquería*, los resultados obtenidos fueron notablemente diferentes con respecto a la otra finca: en verano de 2022 la especie que presentó mayor porcentaje de solapamiento fue la tarabilla europea (*Saxicola rubicola*) (78.19%); mientras que en invierno de 2022/2023 fue la paloma torcaz (70.55%) (Tabla 7).

Tabla 7. Solapamiento de actividad temporal de cada especie registrada respecto a la perdiz roja, en cada finca y en cada época de estudio.

Especie	Solapamiento de actividad temporal (%)			
	Finca El Pedroso		Finca Alquería	
	Verano 2022	Invierno 2023	Verano 2022	Invierno 2023
Abubilla común (<i>Upupa epops</i>)	69,80%	0	NA	0
Alcaraván común (<i>Burhinus oedicnemus</i>)	1,18%	0	0	0
Carricero común (<i>Acrocephalus scirpaceus</i>)	0	0	58,34%	0
Colirrojo tizón (<i>Phoenicurus ochruros</i>)	0	0	0	62,73%
Colirrojo real (<i>Phoenicurus phoenicurus</i>)	0	0	55,01%	0
Curruca cabecinegra (<i>Sylvia melanocephala</i>)	0	54,65%	0	0
Curruca capirotada (<i>Sylvia atricapilla</i>)	0	84,31%	0	64,63%
Faisán común (<i>Phasianus colchicus</i>)	0	87,47%	0	67,83%
Mosquitero común (<i>Phylloscopus collybita</i>)	0	70,18%	0	0
Paloma torcaz (<i>Columba palumbus</i>)	69,21%	75,92%	69,51%	70,55%
Petirrojo europeo (<i>Erithacus rubecula</i>)	0	87,65%	0	68,66%
Tarabilla europea (<i>Saxicola rubicola</i>)	0	0	78,19%	45,21%
Tórtola europea (<i>Streptopelia turtur</i>)	81,45%	0	45,90%	0
Zarcero común (<i>Hippolais polyglotta</i>)	0	0	60,04%	0
Zorzal común (<i>Turdus philomelos</i>)	0	86,37%	0	65,33%

Se obtuvieron las gráficas de solapamiento de actividad temporal correspondientes a las especies que presentaron un mayor porcentaje de coincidencia con la perdiz roja. En la finca *El Pedroso* (Figura 10), hay una mayor densidad de tórtola europea (densidad > 0.15), que se encuentra con la perdiz roja alrededor de las 18:00 en el verano de 2022. En invierno de 2023, en cambio, el petirrojo europeo fue la especie que más coincidió con la perdiz roja, presentando una densidad mayor (= 0.10) alrededor de las 10:00 a.m.

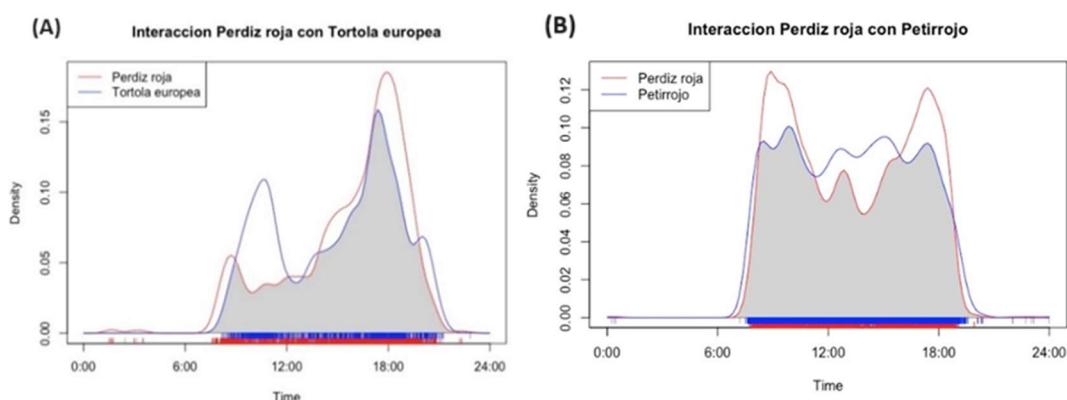


Figura 10. Especies con mayor porcentaje de solapamiento de actividad temporal en la finca *El Pedroso* en verano de 2022 (A) y en invierno de 2023 (B).

En la finca *Alquería* (Figura 11), por su parte, en verano de 2022, la tarabilla europea (común) coincidió más tiempo con la perdiz roja, mientras que en invierno de 2023 fue la paloma torcaz, coincidiendo con la perdiz roja desde las 6:00 hasta las 20:00 p.m., obteniéndose una mayor densidad de ambas especies alrededor de las 10:00 a.m. y las 18:00 p.m.

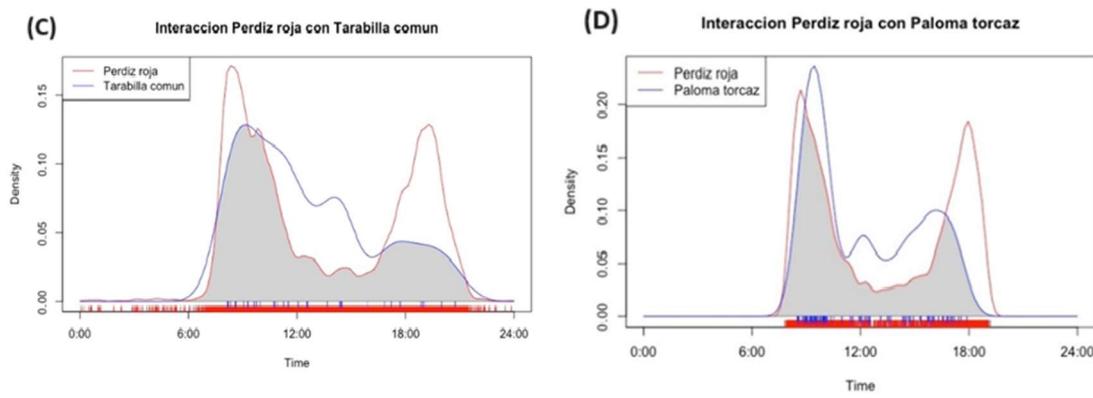


Figura 11. Especies con mayor porcentaje de solapamiento de actividad temporal en la finca *Alquería* en verano de 2022 (C) y en invierno de 2023 (D).

Aunque los resultados obtenidos de este trabajo son limitados, se han conseguido algunos datos de interés, concretamente que una de las especies con mayor seroprevalencia aparte de la perdiz roja es la tórtola europea. Esta misma especie es una de las que presenta mayor solapamiento de actividad temporal con la perdiz roja, y, en la perdiz roja hay evidencia experimental y circunstancial de transmisión directa. (Llorente et al., 2015). Esto, por tanto, no nos permite descartar con certeza el posible origen de entrada del BAGV a través de la tórtola europea.

7. Conclusiones

1. No se ha podido determinar con certeza qué factores externos pueden favorecer la aparición del virus; no obstante, se ha observado cierta estacionalidad en la presencia de anticuerpos frente a Flavivirus en ambos años, obteniéndose mayor seroprevalencia en los meses de otoño tanto en la finca *El Pedroso* como en *Alquería*.
2. Se ha obtenido un bajo número de especies silvestres con resultados positivos en la prueba ELISA, no siendo lo suficientemente significativos como para poder asegurar que dichas especies contribuyan a la diseminación del BAGV en perdices. No obstante, llama la atención el alto porcentaje de solapamiento obtenido entre la tórtola europea y la perdiz roja, debido a que ambas especies han resultado seropositivas la prueba ELISA frente a Flavivirus.
3. La seroprevalencia en perdices en el año 2023 con respecto al año 2022 sigue una tendencia inversa en ambas fincas; en la finca *El Pedroso* va en aumento, y en *Alquería* disminuye a pesar de haber una tendencia a una mayor diversidad de especies en *El Pedroso*, lo que contradice los efectos de la teoría de la dilución.
4. La técnica de fototrampeo resulta una herramienta muy útil, no solo para determinar la abundancia o diversidad de especies, sino también para conocer la probabilidad de contacto de determinadas especies con otras, así como la riqueza de especies en comunidades biológicas.

8. Conclusions

1. It has not been possible to determine with certainty which external factors potentially influencing the appearance of the virus; however, a certain seasonality in the presence of antibodies against Flaviviruses has been observed in both years, with higher seroprevalence in the autumn months in both *El Pedroso* and *Alquería* estates.
2. A low number of other wild bird species tested positive by ELISA, not allowing to obtain significant results about the role of these species in the dissemination of BAGV to the partridges. It is however of interest that in the estate with a higher Flavivirus seroprevalence the species that shows a higher overlap with RLP is the European turtle dove, one of the few Flavivirus seropositive species and a transsaharian migrant.
3. The seroprevalence in partridges in 2023 compared to 2022 follows an inverse trend in both estates; in *El Pedroso* it is increasing, and in *Alquería* it is decreasing in spite of a tendency to a higher species diversity in *El Pedroso* which is in contrast to the dilution

theory.

4. Camera trapping is a useful tool in studies where in addition to species richness in biological communities, the probability of contact between different species in locations such as feed and water is of interest.

9. Valoración personal

Realizar un Trabajo Fin de Grado en modalidad experimental ha supuesto un gran desafío para mí este curso no solo en el ámbito académico, sino también a nivel personal. La perdiz roja es una especie que siempre me ha interesado, y la oportunidad de investigar un virus aún poco estudiado en ella ha hecho que esta experiencia sea muy enriquecedora para mí.

Participar en este estudio, a su vez, me ha permitido acercarme al mundo de la investigación en primera persona y prácticamente en todas las etapas de un proyecto de investigación, desde el trabajo de campo en las fincas de estudio para la recolección de muestras, hasta el análisis en el laboratorio. Así mismo, me gustaría destacar lo fascinada que he quedado con la información que el fototrampeo puede llegar a aportar a este tipo de estudios, aunque para ello requiere una considerable dedicación, esfuerzo y conocimiento en especies silvestres.

Me gustaría concluir dándoles las gracias a mis tutoras, Mari Cruz y Úrsula por haberme permitido participar en este proyecto, así como por su constante paciencia, disponibilidad y atención. También estoy infinitamente agradecida con Alberto y Davide, por prestarme su escaso tiempo y ser de gran ayuda con el laboratorio y fototrampeo. Por último, quiero hacer mención a los compañeros y compañeras del IREC con quienes coincidí durante mi estancia en prácticas, y que dedicaron parte de su tiempo a compartir sus conocimientos conmigo.

10. Referencias bibliográficas

- Agüero, M., Fernández-Pinero, J., Buitrago, D., Sánchez, A., Elizalde, M., Miguel, E. S., Villalba, R., Llorente, F. y Jiménez-Clavero, M.Á. (2011). Bagaza virus in partridges and pheasants. *Emerging Infectious Diseases*, 17(8), 1498–1501. <https://doi.org/10.3201/eid1708.110077>.
- Arroyo, B., Caro, J. y Delibes-Mateos, M. (2022). Social and Economic Aspects of Red-Legged Partridge Hunting and Management in Spain. En F. Casas & J. T. García (Eds.), *The Future of the Red-legged Partridge* (Vol. 6, pp. 275-295). Springer.
- Benzarti, E., Linden, A., Desmecht, D. y Garigliany, M. (2019). Mosquito-borne epornitic Flaviviruses: An update and review. *Journal of General Virology*, 100(2), 119–132. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.001203>
- BirdLife International (2020). *Alectoris rufa*. The IUCN Red List of Threatened Species 2020: e.T22678711A183481909. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2020-3.RLTS.T22678711A183481909.en>. Accessed June 28, 2024.
- Blanco-Aguiar, J. A., Virgos, E. y Villafuerte, R. (2003). Perdiz roja (*Alectoris rufa*). En R. Martí y J. C. Del Moral (Eds.), *Atlas de las aves reproductoras de España* (pp. 212-213). Dirección General de Conservación de la Naturaleza y Sociedad Española de Ornitología.
- Bondre, V. P., Sapkal, G. N., Yergolkar, P. N., Fulmali, P. V., Sankararaman, V., Ayachit, V. M., Mishra, A. C. y Gore, M. M. (2009). Genetic characterization of Bagaza virus (BAGV) isolated in India and evidence of anti-BAGV antibodies in sera collected from encephalitis patients. *Journal of General Virology*, 90(11), 2644-2649. <https://doi.org/10.1099/vir.0.012336-0>
- Braverman Y., Davidson I., Chizov-Ginzburg A. y Chastel C. (2003) Detection of Israel turkey meningo-encephalitis virus from mosquito (Diptera: Culicidae) and *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) species and its survival in *Culex pipiens* and *Phlebotomus papatasii* (Diptera: Phlebotomidae). *Journal of Medical Entomology*, 40(4), 518-21. <https://doi.org/10.1603/0022-2585-40.4.518>

Buenestado Malfeito, F. (2018). *Ecología y dinámica poblacional de la perdiz roja (Alectoris rufa) en España*. [Tesis doctorado, Universidad de Córdoba]. Helvia.

Díaz-Sánchez, S., López, A., Gamino, V., Sánchez, S., Ewers, C. y Höfle, U. (2013). A colibacilosis outbreak in farmed red-legged partridges (*Alectoris rufa*). *Avian Diseases*, 57(1), 143–146. <https://doi.org/10.1637/10273-061112-case.1>

Digoutte, J. P. (1978). Bagaza (BAG) strain: Dak Ar B 209. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 27, 376–377. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.1978.27.376>

Dunn, E. H., & Ralph, C. J. (2004). Use of mist nets as a tool for bird population monitoring. *Studies in Avian Biology*, 29, 1–6.

Farfán, M. Á., Duarte, J., Meriggi, A., Reino, L., Viñuela, J. y Vargas, J. M. (2022). The Red-Legged Partridge: A Historical Overview on Distribution, Status, Research and Hunting En F. Casas & J. T. García (Eds.), *The Future of the Red-legged Partridge* (Vol. 6, pp. 1-19). Springer.

Fernández-Pinero, J., Davidson, I., Elizalde, M., Perk, S., Khinich, Y. y Jiménez-Clavero, M. Á. (2014). Bagaza virus and Israel turkey meningoencephalomyelitis virus are a single virus species. *The Journal of General Virology*, 95(4), 883–887. <https://doi.org/10.1099/vir.0.061465-0>

Ferraguti, M., Martínez-de la Puente, J., Jiménez, C. M. Á., Llorente, F., Roiz, D., Ruiz, S., Soriguer, R. y Figuerola, J. (2021). A field test of the dilution effect hypothesis in four avian multi-host pathogens. *PLoS Pathogens*, 17(6), 1–21. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1009637>

Gamino Rodríguez, V., (2013). *Infección por Flavivirus en aves cinegéticas en España: distribución del virus y alteraciones estructurales en los tejidos del hospedador*. [Tesis de doctorado, Universidad de Castilla-La Mancha]. Repositorio RUIdeRA.

Gamino, V., Gutiérrez-Guzmán, A. V., Fernández-De-Mera, I. G., Ortíz, J. A., Durán-Martín, M., De La Fuente, J., Gortázar, C. y Höfle, U. (2012). Natural Bagaza virus infection in game

birds in southern Spain. *Veterinary Research*, 43(1). <https://doi.org/10.1186/1297-9716-43-65>

García-Bocanegra, I., Zorrilla, I., Rodríguez, E., Rayas, E., Camacho, L., Redondo, I. y Gómez-Guillamón, F. (2012). Monitoring of the Bagaza Virus Epidemic in Wild Bird Species in Spain, 2010. *Transboundary and emerging diseases*, 60(2), 120–126. <https://doi.org/10.1111/j.1865-1682.2012.01324.x>

Höfle U., Cardona-Cabrera, T., Sánchez-Cano, A., Fernández de Mera, I. G., Risalde, M. A., Moraga-Fernández, A., y Ortiz, J. A., (2022). Bagaza virus and *Plasmodium* spp. coinfection in red-legged partridges (*Alectoris rufa*), in Southern Spain 2019. *Trnasboundary and Emerging Diseases*, 69(5), 3393-3399. <https://doi.org.cuarzo.unizar.es:9443/10.1111/tbed.14658>

Llorente, F., Pérez-Ramírez, E., Fernández-Pinero, J., Elizalde, M., Figuerola, J., Sorigué, R. C., y Jiménez-Clavero, M. Á. (2015). Bagaza virus is pathogenic and transmitted by direct contact in experimentally infected partridges, but is not infectious in house sparrows and adult mice. *Veterinary Research*, 46(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/s13567-015-0233-9>

Medeiros, M. C., Anderson, T. K., Higashiguchi, J. M., Kitron, U. D., Walker, E. D., Brawn, J. D., Krebs, B. L., Ruiz, M. O., Goldberg, T. L., Ricklefs, R. E. y Hamer, G. L. (2014). An inverse association between West Nile virus serostatus and avian malaria infection status. *Parasites & Vectors*, 7(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-415>

Moureau, G., Cook, S., Lemey, P., Nougairede, A., Forrester, N. L., Khasnatinov, M., Charrel, R. N., Firth, A. E, Gould, E. A. y De Lamballerie, X., (2015). New insights into Flavivirus evolution, taxonomy and biogeographic history, extended by analysis of canonical and alternative coding sequences. *PLoS ONE*, 10(2), e0117849. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0117849>

Moureau, G., Temmam, S., González, J. P., Charrel, R. N., Grard, G. y De Lamballerie, X. (2007). A real-time RT-PCR method for the universal detection and identification of Flaviviruses. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 7(4), 467–477. <https://doi.org/10.1089/vbz.2007.0206>

Ostfeld, R. S. y Keesing, F. (2000). Biodiversity and Disease Risk: the Case of Lyme Disease. *Conservation Biology*, 14(3), 722–728. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1739.2000.99014.x>

Postler, T. S., Beer, M., Blitvich, B. J., Bukh, J., de Lamballerie, X., Drexler, J. F., Imrie, A., Kapoor, A., Karganova, G. G., Lemey, P., Lohmann, V., Simmonds, P., Smith, D. B., Stapleton, J. T. y Kuhn, J. H. (2023). Renaming of the genus Flavivirus to OrthoFlavivirus and extension of binomial species names within the family Flaviviridae. *Archives of Virology*, 168(224). <https://doi.org/10.1007/s00705-023-05835-1>

Queirós, J., Barros, S. C., Sánchez-Cano, A., Henriques, A.M., Fagulha, T., Abade dos Santos, F., Duarte, M. D., Fontoura-Gonçalves, C., Gonçalves, D., Rodrigues, M., Cardona-Cabrera, T., Fernández de Mera, I. G., Gortázar, C., Höfle, U. y Alves, P. C. (2022). *Emerging infectious diseases*, 28(7), 1504-1506. <https://doi.org/10.3201/eid2807.212408>.

Revilla, M., Pérez, E., Arnal, M. C., Villanúa, D., Fernández de Luco, D. y Gortázar, C. (2007). Principales patologías de la perdiz roja (*Alectoris rufa*). En *Proceedings of the 24émes Rencontres du G.E.E.F.S.M.*, junio 2006, Reserva Nacional de Caza de los Puertos de Tortosa y Beceite, España.

Svensson, L., Mullarney, K., Zetterstrom, D. y Grant, P. R. (2010). *Guía de aves: España, Europa y región mediterránea* (2^a ed., p. 54). Omega.

ANEXO I. Modelo de tabla de recogida de datos de cada ave muestreada.