

ESCUELA POLITÉCNICA DEL EJÉRCITO

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA
INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA

**PREVALENCIA DE QUITRIDOMICOSIS EN LA POBLACIÓN
LARVARIA DE *Gastrotheca riobambae* DEL PARQUE
METROPOLITANO DE QUITO.**

Previa a la obtención de Grado Académico o Título de:

INGENIERA EN BIOTECNOLOGÍA

ELABORADO POR:

ANDREA LIZETHE MANZANO PASQUEL

SANGOLQUÍ, 17 de septiembre de 2010

LEGALIZACION DE FIRMAS

ELABORADO POR

Andrea Lizethe Manzano Pasquel

**COORDINADOR DE LA CARRERA DE
INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA**

Ing. Rafael Vargas

SECRETARIA ABOGADO ACADÉMICA

Abg. Vanessa Andrade

Lugar y fecha: Sangolquí, 17 de Septiembre del 2010.

CERTIFICACION

PhD. Ma. Soledad Benítez

Ing.-Mat. Pedro Romero Saker

Certifican:

Que el trabajo titulado “Prevalencia de quitridiomycosis en la población larvaria de *Gastrotheca riobambae* del Parque Metropolitano de Quito”, realizado por Andrea Lizethe Manzano Pasquel, ha sido guiado y revisado periódicamente y cumple normas estatutarias establecidas por la ESPE, en el Reglamento de Estudiantes de la Escuela Politécnica del Ejército.

El mencionado trabajo consta de (un) documento empastado y (un) disco compacto el cual contiene los archivos en formato portátil de Acrobat (pdf). Autorizan a Andrea Lizethe Manzano Pasquel que lo entregue al Ing. Rafael Vargas, en su calidad de Coordinador de la Carrera.

Sangolquí, 17 de septiembre de 2010.

PhD. Ma. Soledad Benítez

DIRECTOR

Ing.-Mat. Pedro Romero S

CODIRECTOR

DEDICATORIA

El presente trabajo lo dedicó en primer lugar a Dios, por permitirme culminar con éxito uno de mis objetivos propuestos y brindarme fortaleza para seguir siempre hacia adelante.

A mis abnegados padres Jaime y Mónica, por ser los pilares que siempre han inculcado valores en mí, para llegar a ser una buena persona y conseguir lo propuesto con mucho esfuerzo. Que siempre han velado por mi bienestar, educación y son mi apoyo en los buenos, gloriosos y malos momentos de mi corta vida. En especial en el desarrollo de mi trabajo de tesis en donde me brindaron su incondicional confianza y amor sin dudar ni un solo momento.

A mi hermano Leonardo, que durante esta importante etapa ante cualquier circunstancia ha sido mi amigo, compañero, y el mejor sin duda alguna el esencial ayudante de campo. Gracias por dedicar ese preciado tiempo a compartir experiencias que siempre las llevare en mi mente y corazón.

A todos los quiero con todo mi corazón.

Andrea L. Manzano P.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a la Escuela Politécnica del Ejército por abrirme las puertas del conocimiento pilares de mi formación profesional.

A mis profesores que supieron brindarme su conocimiento y sobre todo ser amigos en el momento indicado.

A la Pontificia Universidad Católica del Ecuador por brindarme todo el apoyo para que se llevara a cabo el desarrollo de este proyecto y abrirme las puertas de su institución in condicionalmente.

Al Dr. Santiago Ron por confiar en mí y permitirme crecer cada día profesional y personalmente. Por toda la ayuda proporcionada desde el primer momento en el que decidimos desarrollar el presente proyecto y muchos más que vendrán en un futuro.

Al museo y laboratorio QCAZ por toda la ayuda brindada durante el tiempo de desarrollo del presente proyecto pero sobre todo por su sincera amistad.

A la Universidad Central del Ecuador por la ayuda brindada durante todos los meses de muestreo, en especial al Laboratorio del Departamento de Petróleos, Energía y Contaminación (DPEC).

Al PhD. María Soledad Benítez por todos los consejos y apoyo brindado para culminar con éxito el presente proyecto.

Al Ing.-Mat. Pedro Romero Saker por la ayuda sin medida y todos los sabios consejos en el desarrollo de mi proyecto de tesis.

A mi abuelita Mamá Lala y mis tíos Mario y Sory; por siempre brindarme su apoyo, cariño y amor en cada momento que los requerí.

A mis primos y pequeños hermanos Gaby y David, por su colaboración en los momentos esenciales y brindarme todas esas risas, besos, abrazos y contagiosa alegría para seguir adelante sin decaer ni un solo momento.

A mis grandes amigos Pablo Cris y Caro por todas esas vivencias aprendidas, pero en especial por su amistad brindada durante todos estos años.

A mis amigos y compañeros que durante mi carrera compartieron imborrables momentos dentro y fuera de las aulas.

Andrea L. Manzano P.

RESUMEN

El presente trabajo estudia la prevalencia de quitridiomycosis en la población larvaria de *Gastrotheca riobambae* de una poza del Parque Metropolitano de Quito. Las poblaciones de *G. riobambae* se encuentran amenazadas debido a la pérdida de hábitat. Además la disminución de la población se explica por la presencia de patógenos como el quítrido *Batrachochytrium dendrobatidis* que inicia su infección en individuos larvarios.

Por lo tanto, el estudio se enfoca en individuos larvarios que fueron colectados de su hábitat natural, a lo largo de ocho meses, con estadios según Gosner entre 26 y 46 y que, posteriormente fueron analizados en laboratorio según protocolos ya establecidos para este tipo de muestras.

Se extrajo el aparato bucal de los individuos colectados debido a que es la única zona queratinizada en renacuajos. El aparato bucal fue utilizado para la extracción de ADN y la amplificación mediante PCR del gen 5.8S ribosomal utilizando primers específicos para *B. dendrobatidis*.

Los individuos se identificaron como positivos o negativos para quitridiomycosis y los resultados se analizaron mediante estadística cuantitativa realizando regresiones lineales, múltiples y logísticas.

Este análisis estadístico permitió determinar cómo las variables ambientales durante el periodo de estudio y las características del renacuajo se relacionan con la prevalencia de quitridiomycosis en una población estudiada. Se observó que la temperatura quincenal del agua, la profundidad de la poza, el estadio y la longitud total del renacuajo explican el comportamiento de la prevalencia de quitridiomycosis observada en los renacuajos analizados. La infección por *B. dendrobatidis* está presente en las primeras etapas de desarrollo de *G. riobambae* por lo que los renacuajo son los posibles portadores del quítrido.

Este estudio nos ha permitido determinar que la presencia de quitridiomycosis es posible en las condiciones ambientales y características del

renacuajo óptimas que actúan en conjunto aumentando su prevalencia sobre la población larvaria de *G. riobambae*.

ABSTRACT

The present study examines the prevalence of chytridiomycosis in larval population of *Gastrotheca riobambae* in a pond at the Metropolitan Park of Quito. *Gastrotheca riobambae* populations are threatened due to habitat loss. Furthermore, the population decline is explained by the presence of pathogens such as chytrid *Batrachochytrium dendrobatidis* that begins its infection in larval individuals.

Therefore, this study focuses on larvae individuals were collected from their natural habitat, over eight months, according to Gosner stages between 26 and 46, and subsequently they were analyzed in the laboratory according to protocols established for these samples.

We extracted the mouthparts of the collected individuals because it is the keratinized area in tadpoles. The oral appliance was used for DNA extraction and PCR amplification of 5.8S ribosomal DNA gene using specific primers for *B. dendrobatidis*.

Individuals were identified as positive or negative for chytridiomycosis and the results were analyzed using quantitative statistical such as linear, multiple and logistic regression.

The statistic analysis allowed determining how the environmental variables during the study period and the characteristics of the tadpole are related to the prevalence of chytridiomycosis in the population. It was noted that fortnightly water temperature, pool depth, the stage and total length of the tadpole explain the behavior of the observed prevalence of chytridiomycosis in the analyzed tadpoles. Infection with *B. dendrobatidis* is present in the early stages of *G. riobambae* tadpoles and they are the potential carriers of chytrid.

This study allowed to determine that the presence of chytridiomycosis is possible in optimal environmental conditions and tadpole characteristics that act together to up the prevalence in larvae *G. riobambae* population.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

Capítulo 1: INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Formulación del problema	2
1.2. Justificación del problema	3
1.3. Objetivos de la investigación	5
1.3.1. Objetivo General	5
1.3.2. Objetivos Específicos	5
1.4. Marco Teórico.....	6
1.4.1. Características y descripción de <i>Gastrotheca riobambae</i>	8
1.4.2. Descripción de <i>Batrachochytrium dendrobatidis</i>	11
1.4.3. Etiología de la enfermedad	16
1.4.4. Diagnóstico molecular de quitridiomycosis.....	19
Capítulo 2: MATERIALES Y MÉTODOS	20
2.1. Participantes.....	20
2.2. Zona de estudio.....	20
2.3. Período de investigación	21
2.4. Diseño y Análisis de Datos.....	22
2.5. Procedimiento.....	23
2.5.1. Muestreo en campo.....	23
2.5.2. Extracción de Tejidos	24
2.5.3. Extracción de ADN	25
2.5.3.1. Cuantificación de ADN.....	26
2.5.4. Pruebas de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)	26
2.5.5. Electroforesis de muestras.....	29
Capítulo 3: RESULTADOS	30
3.1. Datos generales	30
3.2. Análisis de Regresión Lineal	33
3.2.1. Regresión lineal de Abundancia Relativa de renacuajos	33

3.2.2. Regresión lineal de Prevalencia de quitridiomycosis en la población de renacuajos.....	35
3.3. Regresión Lineal Múltiple	37
3.4. Regresión Logística.....	40
Capítulo 4: DISCUSIÓN	43
Capítulo 5: CONCLUSIONES.....	50
Capítulo 6: RECOMENDACIONES	52
Capítulo 7: BIBLIOGRAFÍA	53

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2.1 Composición de Master Mix para amplificación del gen 5.8S ribosomal de <i>B. dendrobatidis</i>	26
Tabla 3.1 Prevalencia de quitridiomycosis en renacuajos de <i>Gastrotheca riobambae</i> en diferentes tiempos de muestreo, características de renacuajo y condiciones ambientales.....	28
Tabla 3.2. Precipitación y Temperatura ambiental proporcionados por el INAHMI para el período de tiempo de estudio.....	32
Tabla 3.3. Análisis de regresiones lineales de la abundancia relativa (variable dependiente) en relación a las condiciones ambientales y características de renacuajo (variables independientes).....	33
Tabla 3.4. Análisis de regresiones lineales de la prevalencia de quitridiomycosis (variable dependiente) en relación las condiciones ambientales y características del renacuajo (variables independientes).....	34
Tabla 3.5. Análisis de regresión múltiple de la prevalencia (variable dependiente) en relación la temperatura quincenal del agua, longitud total y estadio promedio del renacuajo	36
Tabla 3.6 Análisis de regresión múltiple de la prevalencia (variable dependiente) en relación la temperatura quincenal del agua, estadio promedio del renacuajo y profundidad del agua	37
Tabla 3.7 Regresión logística de presencia o ausencia de <i>B. dendrobatidis</i> (variable dependiente) en relación a las variables independientes.....	39

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1 Distribución geográfica de <i>Gastrotheca riobambae</i> en Ecuador.....	8
Figura 1.2 Hembra de <i>Gastrotheca riobambae</i> con embriones en la bolsa dorsal.....	10
Figura 1.3 Microfotografías electrónicas de piel infectada de rana <i>Litoria lesueuri</i>	13
Figura 1.4 Ciclo de vida de <i>B. dendrobatidis</i>	14
Figura 1.5 Muda de piel de un adulto muerto de <i>Litoria caerulea</i>	17
Figura 2.1 Ubicación de la poza de muestreo dentro de las instalaciones del Parque Metropolitano Guangüiltagua.	21

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo A. REGRESIÓN LINEAL TEMPERATURA QUINCENAL VS. PRECIPITACIÓN.....	I
Anexo B. REGRESIONES LINEALES DE ABUNDANCIA RELATIVA POBLACIONAL	II
Anexo C. REGRESIÓN LINEAL PREVALENCIA	v
Anexo D. REGRESIÓN MÚLTIPLE.....	XIII
Anexo E. REGRESIÓN LOGÍSTICA.....	XV
Anexo F. ESTADIOS EN LA METAMORFOSIS DE UN RENACUAJO SEGÚN GOSNER (1960).....	XIX
Anexo G. BASE DE DATOS COLECTADOS	XX
Anexo H. INFORMES DE CALIDAD DE AGUA.....	XLI

Capítulo 1: INTRODUCCIÓN

El Ecuador está incluido en el grupo de países “megadiversos” de la Tierra, caracterizado por poseer el 70% de las especies animales y vegetales del planeta. Esta extraordinaria riqueza natural se encuentra bien representada en la diversidad de anfibios (443 especies descritas en la actualidad), permitiendo que el Ecuador sea el tercer país con el mayor número de especies de anfibios del mundo. El 40% de estas especies son endémicas, es decir que únicamente habitan en el Ecuador (Coloma *et al*, 2004).

Actualmente se considera que la diversidad de anfibios del Ecuador es una de las más amenazadas del planeta. Recientes estimaciones sobre el estado de conservación de los anfibios en nuestro país, indican que no menos de 139 especies se encuentran en riesgo de extinción y de ellas 25 presumiblemente están extintas. No obstante, esta cantidad podría estar subestimada debido a que la información hasta ahora disponible es insuficiente para establecer el estado de conservación de otras 115 especies de anfibios (Coloma, 2006).

Los anfibios son considerados bioindicadores del estado del ecosistema ya que al poseer una piel sensible, son afectados por la presencia de químicos, incremento de luz ultravioleta e incremento de temperatura (Coloma, 2006). Las declinaciones de los mismos y su posterior desaparición puede iniciar una cascada de efectos sobre el ecosistema; debido a su estrecha vinculación con el medio terrestre y/o acuático y su limitada capacidad de desplazamiento (ya que están estrechamente ligados a sus biotipos de reproducción), son animales muy sensibles a las alteraciones locales del hábitat (Rice *et al.*, 2006).

Los anfibios presentan una doble vida, terrestre y acuática que les permite sobrellevar los cambios en ambos medios; sus pieles son muy permeables y sus huevos se muestran expuestos a los factores exógenos debido a que no poseen una cubierta rígida que les aisle del medio (Berger *et al.*, 1999).

El desequilibrio en los ecosistemas por diversos factores como contaminación ambiental e introducción de peces resulta una destrucción y degradación total del hábitat natural de los anfibios (Tyler, 1997), permitiendo que algunos patógenos se desarrollen rápidamente produciendo la declinación y extinción acelerada de poblaciones de anfibios alrededor del mundo (Kriger *et al.*, 2007a).

Entre las enfermedades causadas por patógenos esta la quitridiomicosis, producida por *B. dendrobatidis* (Bd). Este hongo quítrido desarrolla sus zoosporas en agua y pueden vivir por 24 horas infectando a ranas y renacuajos (Berger *et al* 1999).

1.1. Formulación del problema

El hongo quítrido *B. dendrobatidis* (Bd) se ha visto implicado como agente causal de la declinación de las poblaciones de por lo menos 93 especies de anfibios del orden Anura (ranas y sapos) y Caudata (salamandras), alrededor del mundo (Kriger *et al*, 2006a, 2006b, 2007b). Las poblaciones de anfibios afectadas por esta especie de hongo pueden declinar en pocos meses, sin embargo la declinación es selectiva debido a factores ambientales y la biología del hospedador para la expresión de la enfermedad (Berger *et al*, 1999).

Esta especie de hongo fue recientemente descrita como *Batrachochytrium dendrobatidis* siendo virulento para los adultos (Berger *et al*, 1999), mientras que los renacuajos presentan la infección en la zona bucal y mueren más tarde cuando la queratina junto con el hongo se extiende por todo el cuerpo al completar la metamorfosis; sin embargo se conoce que este hongo permanece como saprofito incluso cuando los anfibios ya han desaparecido (Kriger *et al*, 2006a).

Se ha propuesto que existe una relación entre el cambio climático y el desarrollo de este hongo debido al aumento de la temperatura nocturna en las

regiones tropicales favoreciendo el desarrollo del hongo que afecta a los anfibios (Kriger *et al*, 2007a). Alrededor del mundo la temperatura media a ascendido en 0.6 grados centígrados en el último siglo (Boletín electrónico, 2005), manteniendo temperaturas nocturnas en la zona ecuatorial de alrededor de 18 grados centígrados (Diario Hoy, 2010); lo que provee condiciones óptimas de incubación para diferentes patógenos.

Se ha sugerido que este hongo prefiere temperaturas entre 17 y 25 grados centígrados para el desarrollo de la quitridiomycosis (Kriger *et al.*, 2006a, 2007b; Piotrowski *et al*, 2004), resultando letal en mayor porcentaje para las ranas que viven en las altiplanicies debido a las temperaturas frescas que existen en la zona, a pesar del calentamiento existente en la actualidad.

Desde que *B. dendrobatidis* fue descrito y considerado causante de enfermedades emergentes en anfibios (Daszak *et al*, 2000) no se han reportado resultados de muestreos intensivos de prevalencia de *B. dendrobatidis* en la región neotropical sobre poblaciones larvarias de *G. riobambae*. A excepción de varios trabajos en los cuales se ha utilizado poblaciones larvarias de otras especies por ejemplo *Bufo bufo* (Trenton *et al*, 2009) variando las condiciones de muestreo. Estos estudios permiten aclarar la incógnita usada para *B. dendrobatidis* si enfermedad y mortalidad son sinónimos en presencia del quítrido. El presente estudio será el primero en Latinoamérica que lleve a cabo esos muestreos y explore la influencia del medio ambiente en la prevalencia de *B. dendrobatidis* en una población silvestre de *Gastrotheca riobambae*.

1.2. Justificación del problema

Evaluaciones recientes sobre el estado de conservación de los anfibios a nivel nacional indican que el 32% de las especies que habitan en Ecuador enfrentan alto riesgo de extinción (Coloma, 2006).

Desde 1998, se llevan a cabo estudios que permitan determinar la naturaleza, magnitud y causas de las declinaciones poblacionales y extinciones de anfibios de los Andes ecuatorianos (Coloma, 2006). A pesar de que anfibios y reptiles son elementos clave en la salud de los ecosistemas (Retallick *et al.*, 2004, el desconocimiento generalizado de la sociedad acerca de los anfibios, ha permitido que la situación crítica de sus poblaciones no alcance el grado de preocupación conservacionista que existe en la sociedad respecto a otras especies más emblemáticas.

El manejo de quitridiomycosis como enfermedad infecciosa emergente es importante debido al efecto sobre las poblaciones de anfibios endémicos llegando a ser una causa de posibles extinciones permanentes. La prevalencia de la quitridiomycosis se ve influenciada por cambios climáticos como temperatura, calidad de agua y tiempo (Berger *et al.*, 1999). La prevalencia de una enfermedad permite determinar el efecto potencial del mismo en la población y la posibilidad de problemas en el futuro (Retallick *et al.*, 2004). Por lo que un estudio de prevalencia de quitridiomycosis en la población larvaria de *G. riobambae* del Parque Metropolitano de Quito permitirá obtener información necesaria para un manejo adecuado de esta enfermedad emergente que perjudica gravemente a poblaciones endémicas de la zona.

Gastrotheca riobambae es considerada una especie de rana muy común en zonas andinas, sin embargo su población ha disminuido debido al crecimiento urbano, cambios climáticos, presencia de patógenos, entre otros y a pesar de ser una especie tolerante a modificaciones de hábitat, sus poblaciones se restringen a zonas con remanentes de vegetación natural (amphibiaweb ecuador, 2007). Por lo que un estudio enfocado en la declinación de *G. riobambae* debido a patógenos como *B. dendrobatidis* permitirá una visualización del estado de conservación de esta especie endémica tan importante para el Ecuador.

Debido a estos aspectos de conservación de anfibios y hábitats la zona de estudio escogida fue el Parque Metropolitano de Quito, ya que a pesar de encontrarse dentro del casco urbano de la ciudad; mantiene zonas con

vegetación y condiciones naturales que permiten que este tipo de ranas se reproduzcan y no se pierda por completo las poblaciones endémicas, a pesar de que estas se vean afectadas por otras variables como las enfermedades (Ron S., comunicación personal, Julio 2009).

1.3. Objetivos de la investigación

1.3.1. Objetivo General

- Determinar la prevalencia de quitridiomycosis causada por *Batrachochytrium dendrobatidis* en la población larvaria de *Gastrotheca riobambae* en el Parque Metropolitano de Quito.

1.3.2. Objetivos Específicos

- Analizar el efecto de quitridiomycosis sobre la población de renacuajos de *Gastrotheca riobambae* durante ocho meses en el Parque Metropolitano de Quito.
- Identificar la correlación entre las condiciones ambientales (temperatura, calidad de agua, tiempo estacional) del Parque Metropolitano de Quito y la prevalencia del hongo en la población de *Gastrotheca riobambae*.
- Revelar el futuro de la población de *Gastrotheca riobambae* en condiciones naturales de hábitat en base a los datos obtenidos de la prevalencia hallada de *Batrachochytrium dendrobatidis* en el Parque Metropolitano de Quito.

1.4. Marco Teórico

Batrachochytrium dendrobatidis es el agente infeccioso responsable de una potencial enfermedad mortal para anfibios. La quitridiomycosis en la actualidad se encuentra diseminada alrededor de todo el mundo causando grandes bajas de poblaciones de anfibios y se considera una enfermedad infecciosa emergente; siendo la mayor amenaza de la diversidad biológica (Daszak et al, 2000; Morgan et al, 2007). Este hongo infecta a dos órdenes de anfibios (Anura y Caudata), sin conocerse con exactitud el origen del agente y las vías de transmisión (Hyatt et al, 2007).

La introducción de este agente patógeno en diferentes hábitats de anfibios está en debate. No se conoce con certeza si la presencia de este hongo es una nueva introducción o ya ha estado presente desde hace mucho tiempo atrás, causando declinaciones poblacionales. Esto permite analizar la susceptibilidad del hospedador conjuntamente con cambios medioambientales u otros factores que permiten el desarrollo de la enfermedad siendo un reto para la conservación de anfibios (Kilpatrick et al, 2010).

La Evaluación Global de los Anfibios (www.iucnredlist.org/anfibios) estima más de 6000 especies de anfibios, de los cuales aproximadamente el 92,5% se encuentra en “peligro crítico” posiblemente vinculados a la quitridiomycosis (Kilpatrick et al, 2009).

Batrachochytrium dendrobatidis ha sido encontrado desde tiempo atrás en muchas especies de anfibios, por ejemplo en Australia se encontró el quítrido desde 1989 en diferentes regiones tanto en anfibios silvestres como en cautiverio, Panamá en 1997, Washington y otros parques de América, Arizona e Illinois (Pressier et al, 1999). Recientemente quitridiomycosis fue detectada en Ecuador en adultos de *Telmatobius niger* capturadas en 1989 en los páramos del Azuay, adultos de *Atelopus* sp. recogidos en Riobamba 1991 (Merino y Coloma, comunicación personal, Junio, 2009). Estas investigaciones día a día se hacen

más comunes, debido a que la distribución de quítrido es probable que aumente en gran medida.

Para la detección de *B. dendrobatidis* se han empleado varios métodos dentro de los cuales los tratamientos más empleados son análisis histológicos e inmunohistoquímica de piel, análisis de dedos de individuos adultos, baño con solución DS, análisis de discos orales extirpados de renacuajos, hisopos (Hyatt et al, 2007). Se emplea como herramienta molecular Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) de punto final para determinar la presencia y/o ausencia de quitridiomycosis. En la actualidad se están desarrollando métodos de detección tanto para individuos adultos como renacuajos y con alto nivel de sensibilidad con la finalidad de la conservación de especies y al mismo tiempo para mantener el equilibrio en el ecosistema.

Análisis genéticos de *B. dendrobatidis* han constatado que existe muy poca variabilidad a nivel mundial (Morehouse et al, 2003) y ha permitido tener una secuenciación completa del genoma (James et al, 2000).

El pronóstico a largo plazo de los efectos de la quitridiomycosis permitirá que las diferentes especies de anfibios que han logrado sobrevivir en diferentes condiciones y se están recuperando, se mantengan por mucho más tiempo. Por lo que es necesario llevar una acción de protección de los hábitats naturales restantes de tal manera que se restablezcan las poblaciones. Sin embargo como actualmente se conoce poco sobre la interacción de las condiciones ambientales y el quítrido en los anfibios, muchas especies de ranas se consideran amenazadas (Berger et al, 1999).

1.4.1. Características y descripción de *Gastrotheca riobambae*

Gastrotheca riobambae o también conocida popularmente como rana marsupial, es una especie de anfibio perteneciente a la familia *Hemiphractidae*, descrita como especie por Fowler en 1913 (Frost *et al*, 2010).

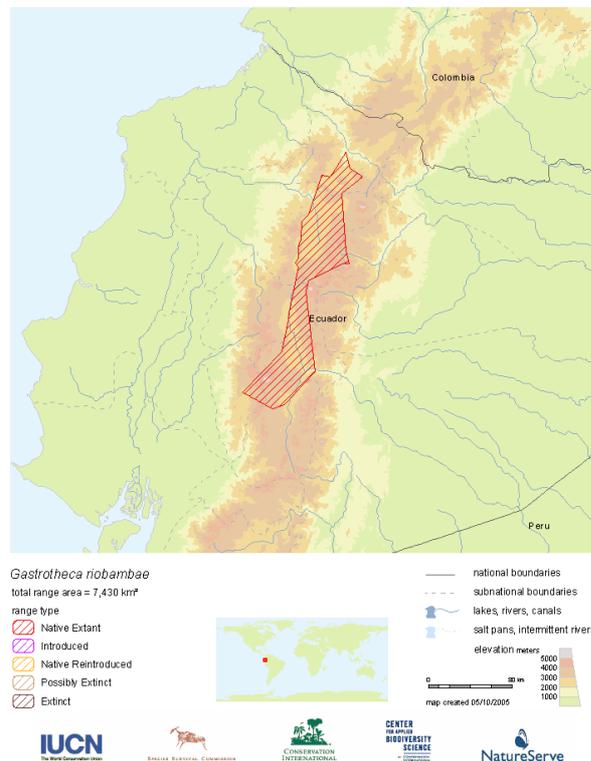


Figura 1.1 Distribución geográfica de *Gastrotheca riobambae* en Ecuador.

Fuente: amphibiaweb Ecuador.

Esta especie se distribuye ampliamente en Ecuador (Figura 1.1), especialmente en bosques y valles interandinos del norte y centro de Ecuador, a altitudes entre 2200-3500 msnm, en las zonas altitudinales altoandina, templada occidental y templada oriental (amphibiaweb Ecuador, 2007).

Gastrotheca riobambae se encuentra en peligro de extinción debido a la pérdida de los hábitats naturales como bosques montanos, valles interandinos húmedos y secos, zonas de cultivos, riachuelos, lagunas, entre otras (Amphibiaweb Ecuador, 2007). Los individuos de la rana marsupial habitan en hábitats naturales, sin embargo también son encontrados en hábitats modificados que mantienen una vegetación natural y están en las proximidades de las ciudades. *G. riobambae* es una especie crepuscular y nocturna, sin embargo en condiciones *in vitro* puede ser también activa durante el día (AMNH, 2001).

Morfológicamente se distingue a *G. riobambae* ya que las hembras adultas miden 6.5 cm y los machos 5 cm. En general poseen dos fases de colores: café y verde, pero también existen individuos con la mezcla de estas dos fases. El color de los individuos juveniles puede cambiar de café a verde, mientras crecen. También pueden ser individuos de colores uniformes o con rayas longitudinales en el dorso (Coloma, 2006).

El dimorfismo sexual permite diferenciar machos y hembras. Los machos poseen un saco gular que se infla cuando están cantando; mientras que las hembras tienen una bolsa con la entrada en la parte posterior del dorso. Machos y hembras tienen amplios discos digitales en los dedos y en los pies, que les permiten adherirse para una buena escalada en superficies verticales (Duellman K *et al*, 2010).

Durante el cortejo el macho llama atractivamente la atención de la hembra y si esta se siente atraída por él, inmediatamente se da el amplexus. Los huevos emergen de la cloaca de la hembra; mientras que el macho captura los huevos con sus pies y los dirige a la bolsa dorsal fertilizándolos (Duellman *et al*, 2010). La hembra se caracteriza por transportar los embriones en una bolsa dorsal (Figura 1.2), donde almacena, incuba los huevos y posteriormente libera alrededor de 130 renacuajos en aguas empozadas (Duellman *et al*, 2005). Los renacuajos son grises y una vez completa la metamorfosis miden alrededor de 2-3 cm (Duellman, 2001).



Figura 1.2 Hembra de *Gastrotheca riobambae* con embriones en la bolsa dorsal.
Fuente: PUCE Luis A. Coloma.

Durante la incubación, las paredes de la bolsa marsupial desarrollan un delgado revestimiento muy irrigado por vasos sanguíneos, este “tapiz” se ajusta a la forma de los huevos, creando una cámara, el embrión desarrolla una membrana vascular propia, formada por un conjunto de branquias especializado: las branquias acampanadas; así se establece un contacto directo en la madre y el embrión, permitiendo un intercambio de gases, líquidos y nutrientes, así como para la eliminación de desechos (Duellman *et al*, 2001,2005).

Los renacuajos se caracterizan por ser de desarrollo libre, en el cual completan su metamorfosis en alrededor de dos o tres meses dentro del agua. Las ranitas emergen del agua y de estos los machos juveniles comienzan a cantar dos meses después (Duellman *et al*, 2001).

Gastrotheca riobambae es considerada una especie en peligro de extinción (IUCN *et al*, 2004), debido a que sus poblaciones actualmente se encuentran muy fragmentadas por diferentes razones que interfieren con el hábitat natural de esta especie de anfibios; a pesar de ser considerada muy tolerante a condiciones extremas de modificación. Algunas especies pueden declinar o incluso llegar a la extinción, por razones aun no explicadas sustancialmente pero puede atribuirse a varios factores en los que se incluyen

enfermedades peligrosas para los anfibios como la quitridiomycosis (Kriger *et al*, 2007a).

1.4.2. Descripción de *Batrachochytrium dendrobatidis*

El hongo quítrido pertenece a un grupo grande y diverso del Reino Fungi División *Chytridiomycota*, Clase *Chytridiomycetes*, Orden *Chytridiales* que ha sido encontrado en casi todos los tipos de medio ambiente incluyendo selvas, desiertos y la tundra ártica (Powell, 1993). El principal sustrato de este tipo de hongos son compuestos que presentan queratina por ejemplo cadáveres de insectos, celulosa de materia vegetal, queratina de pelo, piel y uñas o incluso el polen (Berger *et al*, 1999).

Los *Chytridiales* generalmente se conocen por ser parásitos de plantas e invertebrados, siendo *B. dendrobatidis* el primer caso de un hongo quítrido que afecte a vertebrados y exclusivamente a la clase amphibia (Berger *et al*, 1998). Por lo que al quítrido de anfibios se ha colocado en un nuevo género *Batrachochytrium*. Su nombre se deriva de un aislado azul pardo de una rana en cautiverio (*Dendrobates azureus*) que murió en el Parque Zoológico Nacional de Washington y fue descrito por primera vez como *Batrachochytrium dendrobatidis* (Longcore *et al*, Berger *et al*, 1999).

Batrachochytrium dendrobatidis es considerado un biodegradador primario y posiblemente muy importante para el desarrollo del ecosistema (Barr, 1990); sin embargo otros son considerados parásitos de insectos, hongos, algas, plantas y nematodos causando enfermedades de gran importancia para cada una de estas especies (Powell, 1993).

Batrachochytrium dendrobatidis es originario de Sudáfrica al parecer era una infección estable en poblaciones silvestres de *Xenopus laevis*. Se cree que se propago alrededor del mundo a partir de los años 30 por causas que aún se

desconocen, pero que al parecer estarían relacionadas con ejemplares de *X. laevis* importados a terceros países (Kilpatrick *et al*, 2010).

Sparrow (1960) describe al quítrido como una epidemia de aparición repentina y con una rápida multiplicación causando un descenso poblacional excepcional dentro de las diferentes especies de anfibios. El inicio de parasitismo de los hongos de la clase de *Chytridiomycete* es muy a menudo correlacionada con un rápido descenso de la población hospedador causando un impacto en el ecosistema propio del hospedador (James *et al*, 2000).

Además se considera que la virulencia, la capacidad de reproducción y la pérdida de condiciones ambientales óptimas son factores que dan lugar al desarrollo de la enfermedad. Por ejemplo las epidemias en las poblaciones de *Litoria caerulea* en el sur de Queensland ocurrieron en las estaciones de invierno de 1996,1997 y 1998 demostrando una regularidad estacional de preferencia de *B. dendrobatidis* (Berger *et al*, 1998).

La quitridiomicosis se caracteriza por una severa hiperqueratosis en la piel afectando la respiración cutánea y la termorregulación del hospedador anfibio hasta ocasionarle la muerte por desbalances electrolíticos y de agua (Berger *et al*, 1999). Se ha sugerido que el cambio climático es una de las principales causas para el desarrollo y diseminación de este hongo (Kriger *et al*, 2006a, 2007b). Por este motivo las ranas tienen una baja resistencia y el hongo causa muertes masivas (Berger *et al*, 1999). Aunque *B. dendrobatidis* posee una amplia distribución y gama de hospedadores se sospecha que solo algunas especies son vulnerables a la quitridiomicosis (Kriger *et al*, 2006a).

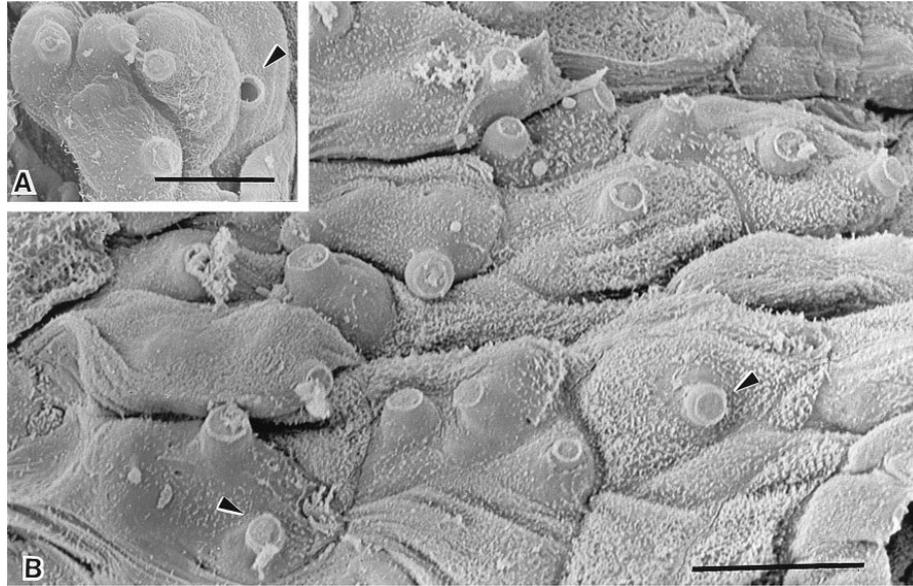
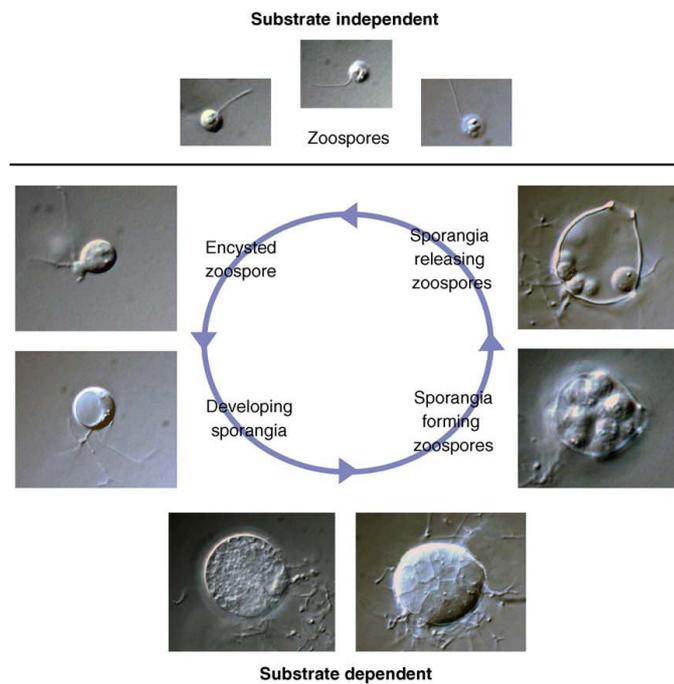


Figura 1.3 Microfotografías electrónicas de piel infectada de rana *Litoria lesueuri* de Queensland, Australia que murió con quitridiomycosis cutánea. (A) Esporangios maduros con tubos de descarga visibles hacia el exterior. El tapón de material en el tubo de descarga se ha lanzado en uno de los esporangios (punta de flecha). (Bar 5 10 mm). (B) Capa superficial de la epidermis con esporangios, evidente por la protrusión de tubos de descarga sin abrir a través de células infectadas (puntas de flecha). (Bar 5 10 mm).

Fuente: Berger *et al*, 1998.

La mayoría de quítridos (miembros del orden *Chytridiales*) se reproducen en medios acuáticos, ya que poseen zoosporas flageladas y móviles que se desarrollan dentro de un esporangio estacionario. Los esporangios de algunas especies forman uno o más tubos de descarga de zoosporas (Figura 1.3) (Berger *et al*, 1998). Estas zoosporas se presentan en pantallas de quimiotaxis hacia su sustrato específico que les permitirá llegar a los hospedadores o a los nutrientes en los alrededores que no son abundantes, siendo el agua probablemente la principal vía de difusión (Berger *et al*, 1999).

La infección en las diferentes especies de anfibios se produce principalmente a través de zoosporas de *B. dendrobatidis* que pueden vivir hasta 24 horas y son transmitidas por el agua invadiendo las capas superficiales de la epidermis tanto en ranas como en el aparato bucal de renacuajos, convirtiéndose así en una enfermedad terminal después de 10 a 47 días de exposición (Berger *et al* 1999).



TRENDS in Ecology & Evolution

Figura 1.4 Ciclo de vida de *B.dendrobatidis*. En la etapa de sustrato independiente, las zoosporas son flageladas, móviles y de vida libre. Por el contrario en el sustrato dependiente (después de infectar al huésped), la zoospora se encista y desarrolla un talo de reproducción con un único esporangio que producen y liberan zoosporas.

Fuente: Kilpatrick *et al*, 2010.

Batrachochytrium dendrobatidis posee dos etapas en su ciclo de vida (Figura 1.4) que son características de los quítridos: una sésil donde las zoosporas son flageladas, móviles y de sustrato independiente. La segunda etapa es cuando forma el talo de reproducción y las zoosporas son liberadas del esporangio inmaduro y a su vez el esporangio maduro forma nuevamente más zoosporas para su posterior liberación (Longcore *et al*, 1999).

Los esporangios de *B. dendrobatidis* se caracterizan por permanecer como saprofitos en el medio ambiente o una vez encontrada su fuente de sustrato tomarse de 4 a 5 días para crecer y convertirse en esporangios maduros conteniendo de esta manera numerosas zoosporas (Longcore *et al*, 1999). Sin

embargo algunos quítridos si pueden sobrevivir durante décadas en condiciones extremas (Powell, 1993), pero esto no se ha observado en *B. dendrobatidis* que pueden ser relativamente frágiles (Longcore *et al*, 1999).

Se ha investigado el quítrido *B. dendrobatidis* y se conoce que este crece y se reproduce óptimamente en temperaturas de 4 a 25 grados centígrados y pH entre 4 y 8; considerando que puede soportar la congelación (Gleason *et al*, 2008).

La temperatura juega un papel importante en el desarrollo del quítrido, ya que la maduración de los zoosporangios se acelera con la temperatura y el número de zoosporas producidos por la zoosporangia disminuye con la temperatura (Woodhams *et al*, 2008), por lo que se puede lograr un control de la tasa de crecimiento de la población del *B. dendrobatidis* a través de un rango de temperaturas.

Uno de los puntos de gran importancia durante el ciclo de vida del quítrido *B. dendrobatidis* es la supervivencia fuera del hospedador, ya que de esta depende la dinámica de transmisión de la enfermedad. Se considera que *B. dendrobatidis* puede existir como un organismo de vida libre en el medio ambiente y puede ser transportado por renacuajos saludables a varios hospedadores (Berger *et al* 1999), así se explica la capacidad de persistir y causar quitridiomycosis, incluso cuando poblaciones se han reducido considerablemente (Daszak *et al*, 2000, Kriger *et al*, 2006b).

En estudios de condiciones de laboratorio con arena y agua de lago estériles, *B. dendrobatidis* persistió alrededor de tres meses (Johnson *et al*, 2003), sin embargo, como es un quítrido cultivable en el correcto medio de cultivo; se considera que puede persistir indefinidamente. No se ha demostrado como actúa *B. dendrobatidis* en condiciones no estériles cuando se enfrentan a la competencia de otros microorganismos (Longcore *et al*, 1999).

Se desconoce la capacidad de reproducción sexual del quítrido, sin embargo existen algunas pruebas de que la reproducción es mediante recombinación (James *et al*, 2009).

1.4.3. Etiología de la enfermedad

La quitridiomycosis parece ser una enfermedad emergente causando una alta tasa de mortalidad en muchas especies de anuros y por ende la desaparición y extinción de algunas especies. Dependiendo de la especie de anfibio puede ser más o menos vulnerable a la quitridiomycosis ya que es necesaria una combinación de características de distribución y biológicas del quítrido con el hospedador (Berger *et al*, 1999).

Para entender de mejor manera la etiología de quitridiomycosis es importante considerar la epidemiología de la enfermedad que se ha propuesto que puede demostrarse a través de la actividad de las zoosporas, fisiología y producción de proteasas de *B. dendrobatidis* (Piotrowski *et al*, 2004). La quitridiomycosis en si como enfermedad presenta ciertos signos clínicos típicos en la mayoría de anfibios como son: letargo, inapetencia, delgadez extrema, decoloración de la piel, presencia de descamación de la piel, falta de coordinación (Berger *et al*, 1999).

Uno de los síntomas más comunes es la pérdida del reflejo de enderezamiento del anfibio, debido a que se siente muy decaído; prediciendo la muerte en pocos días después de la aparición de los signos clínicos (Berger *et al*, 1999). A pesar de que el individuo enfermo presenta los síntomas sigue mostrando un estado corporal bueno con tamaño de órganos y grasa adecuados ya que el quítrido ataca al anfibio externamente y no a órganos internos.

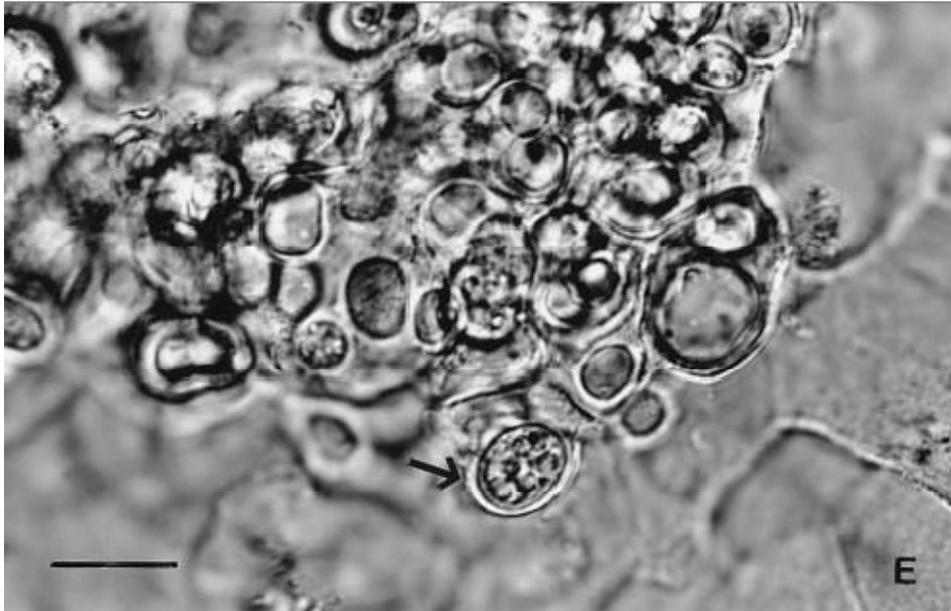


Figura 1.5 Muda de piel de un adulto muerto de *Litoria caerulea* de Thagoona, Queensland examinado con microscopía de luz. Quitrido refráctil, redondas y ovaladas. La mayoría están vacíos pero otros contienen zoosporas en desarrollo (flecha). Se observan esporangios vacíos divididos por tabiques delgados. E= células epidérmicas. Bar = 20 mm.

Fuente: Berger *et al*, 1999.

La presencia de desprendimiento de piel en el cuerpo del anfibio es un signo inespecífico que se observa en otras enfermedades. En algunas ranas se ha observado mediante microscopía (Figura 1.5) la presencia de tumores redondos u ovalados sobre la piel lo que permite un rápido diagnóstico de la enfermedad. Debido a este primer síntoma poco a poco las ranas se vuelven letárgicas y son incapaces de limpiarse ellas mismas, ya que el exceso de desprendimiento de piel puede ocurrir en respuesta a la infección de la piel (Berger *et al*, 1999).

La intensidad de la infección es variable dependiendo del tipo de rana, pero la piel de la parte ventral del cuerpo, extremidades y pies por lo general se encuentran infectados con mayor consistencia, debido a que son zonas con mayor presencia de queratina causando así la hiperqueratosis (Berger *et al*, 1998). En algunos casos se puede observar una falta de inflamación de la piel

debido a la ausencia de estimulación del sistema inmune del huésped, probablemente debido al sitio de infección, daño epidérmico insuficiente o el quítrido presenta antigenicidad inherente baja frente al hospedador (Berger *et al* 1998, 1999).

En renacuajos se puede detectar la presencia de quitridiomycosis en el aparato bucal debido a que es la única parte queratinizada que poseen durante el proceso de metamorfosis (Berger *et al*, 1999), sin embargo encontrar renacuajos muertos o moribundos debido a la enfermedad es complicado. El muestreo de individuos pre- metamorfosis es más sencillo debido a que se limitan a hábitats acuáticos, por lo que la técnica apropiada de identificación y evaluación de quitridiomycosis en renacuajos es mediante la escisión del aparato bucal (Retallick *et al*, 2006 Hyatt *et al*, 2007). Todo lo contrario sucede con individuos adultos, porque la piel completa del anfibio se convierte en una zona queratinizada permitiendo la infección del hongo y da lugar a su amplia propagación culminando en un posible descenso del individuo debido a la enfermedad (Trenton *et al*, 2009).

Por otro lado existe evidencia que algunos de renacuajos presentan anomalías en su aparato bucal como pérdida parcial o completa de piezas bucales queratinizadas (Rachowicz & Vredenburg, 2004). Este tipo de eventos se ha observado en Australia y Panamá, sin embargo las pruebas no fueron reportadas según lo expuesto por Blaustein *et al* (2005).

Actualmente se han propuesto dos hipótesis para explicar como el hongo quítrido limita la epidermis superficial de tal manera que lleva a la muerte a las ranas. La primera hipótesis es que el quítrido libera enzimas proteolíticas y otros componentes activos que se absorben por la piel permeable de los anfibios. La segunda hipótesis es que los daños en función de los resultados de la perturbación de la piel de agua o el equilibrio de electrolitos que resulta en muerte del anfibio (Berger *et al*, 1998, Pessier *et al*, 1999). Estas hipótesis siguen en cuestionamiento por lo que el verdadero desarrollo e infección del quítrido no se han determinado con exactitud.

1.4.4. Diagnóstico molecular de quitridiomycosis

Se han realizado estudios de variación genética de diferentes cepas de *B. dendrobatidis* pertenecientes a América del Norte, América Central, Australia y África. Se demostró que existe un bajo nivel de variación genética dentro de estas muestras intercontinentales (Morehouse *et al*, 2003), concluyendo en que el quítrido probablemente es diploide y posee una reproducción clonal (Rosenblum *et al*, 2009).

Annis *et al* (2004) desarrollaron primers específicos para *B. dendrobatidis*, a partir de los primers universales de secuenciación para hongos en las regiones ITS5 e ITS4 (White *et al*, 1990), los cuales reconocen las regiones conservadas entre los genes 28S y 18S de ARNr. Estos fueron usados para amplificar el gen 5.8S ARNr y el espacio interno transcrito (ITS) con las regiones ITS1 y ITS2 para el quítrido *B. dendrobatidis* y otros géneros de quitridos. Los primers diseñados fueron probados para detectar sus límites, amplificando diferentes concentraciones de ADN y diferentes aislados de zoosporas de *B. dendrobatidis* (James *et al*, 2000). Demostrando que los primers funcionan y amplifican específicamente una banda de aproximadamente 300 pares de bases correspondiente a *B. dendrobatidis* (Annis *et al*, 2004).

Capítulo 2: MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Participantes

Se identificaron los cuerpos de agua, comúnmente llamados pozas existentes en el Parque Metropolitano de Quito, los cuales se considera como el mejor hábitat para los renacuajos de *G. riobambae*. Las pozas se seleccionaron en base a que estas mantengan un nivel de agua constante durante el tiempo de muestreo. Para el presente estudio se trabajo con la población larvaria de *Gastrotheca riobambae* del Parque Metropolitano de Quito.

2.2. Zona de estudio

El Consorcio Ciudad-Ecogestión (www.parquemropolitano.ec) describe a la zona de estudio con el nombre de Parque Metropolitano Guangüiltagua de Quito, que se encuentra ubicado en el sector nororiental del Distrito Metropolitano de Quito, a 2988 metros sobre el nivel del mar y registra una temperatura media de 11 grados centígrados. Con una extensión de 574 hectáreas es considerado el principal pulmón de la ciudad de Quito.

Este lugar está rodeado de una amplia vegetación así como una gamma de alrededor de sesenta especies de aves y diez especies de colibríes y el objeto de este estudio la rana marsupial (*G. riobambae*).

La zona específica de muestreo fue una poza de agua (Figura 2.1) ubicada dentro del Parque Metropolitano de Quito.

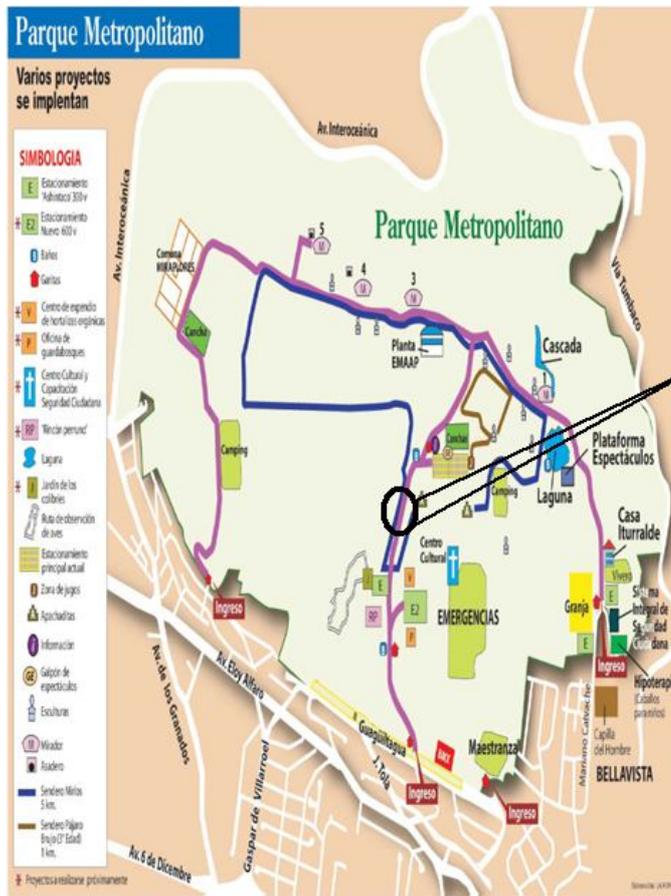


Figura 2.1 Ubicación de la poza de muestreo dentro de las instalaciones del Parque Metropolitano Guangüiltagua.

2.3. Período de investigación

El período de investigación de la prevalencia de quitridiomycosis fue durante ocho meses que comprenden desde el mes de agosto del 2009 a abril del 2010.

2.4. Diseño y Análisis de Datos

La prevalencia de quitridiomycosis en la población larvaria de *G. riobambae*, definida como la proporción de individuos que padecen una enfermedad a partir del análisis del aparato bucal de los renacuajos, y la amplificación de PCR para la confirmación de la presencia de *B. dendrobatidis* (banda correspondiente al gen 5.8S ribosomal de *B. dendrobatidis*), en un período de ocho meses.

Se utilizó JMP Statistical Discovery de SAS como herramienta de análisis. Se evaluó los requisitos de normalidad de la frecuencia de los datos colectados. En el caso de que los datos no cumplieran con este requisito se realizó una transformación no paramétrica logarítmica o box cox.

Se correlacionaron mediante regresión lineal los datos de prevalencia de quitridiomycosis y abundancia relativa poblacional de renacuajos como variables dependientes con las variables independientes de temperatura quincenal del agua de la poza, calidad de agua (concentración de nitritos, nitratos, fosfatos y pH), profundidad de poza, largo total del renacuajo, estadio promedio de renacuajo, precipitación quincenal y tiempo mediante una regresión lineal.

La distribución de las variables fue apreciada por un diagrama de dispersión generado por la distribución y la línea de tendencia de los datos colectados a través del periodo de tiempo determinaron la prevalencia de quitridiomycosis en la población de *G. riobambae*.

Una vez obtenidas todas las regresiones lineales se escogió las tres variables más influyentes sobre la prevalencia para realizar una regresión múltiple y analizar el grado de influencia de estas variables independiente en el desarrollo de quitridiomycosis. De la misma manera se procedió a realizar una regresión logarítmica y se evaluó cada una de las variables independientes sobre cada uno de los individuos analizados para quitridiomycosis.

2.5. Procedimiento

2.5.1. Muestreo en campo

Se colocó un punto de referencia en la poza seleccionada, para coleccionar datos de las condiciones ambientales como temperatura del agua, calidad de agua, profundidad de la poza, hora de colección (tiempo) (Heyer *et al*, 1994).

El muestreo seriado de renacuajos se llevó a cabo cada 15 días durante ocho meses seguidos, empleando el método de muestreo cuantitativo con ciertas variaciones para estimar la abundancia relativa de la población de renacuajos en cada poza (Heyer *et al*, 1994). Se utilizó redes de malla con agujeros moderados y mangos de madera para atrapar 20 renacuajos por poza tomando en cuenta el estadio de desarrollo de los renacuajos entre 26 y 46 según lo sugerido por Gosner (1960) en el libro de Duellman & Trueb (1994). Anexo F.

Se prefieren estos estadios debido a que el renacuajo posee el aparato bucal más desarrollado y por lo tanto más queratinizado, importante para el desarrollo de *B. dendrobatididis* (Berger *et al*, 1999). Los renacuajos se colocaron en recipientes de vidrio individuales para ser cuantificados y se determinó el estadio de cada renacuajo muestreado.

Las muestras individualmente se conservaron a una temperatura moderada en un rango de 15 a 17 grados centígrados que permitió que los renacuajos no sufran estrés ya que esto podría afectar en el desarrollo del estudio. Una de las consecuencias más frecuentes debido al aumento de temperatura en cada uno de los recipientes es que el animal muera antes de tomar el tejido adecuado objeto de estudio (Blaustein *et al*, 2005).

Para el análisis de los parámetros de calidad de agua se determinó concentración de nitritos, nitratos, fosfatos y pH. Se tomó una muestra de agua de la poza en un recipiente de aproximadamente tres litros, se conservó en un medio

fresco y de preferencia en refrigeración hasta su posterior entrega en el Laboratorio del Departamento de Petróleos, Energía y Contaminación (DPEC) de la Universidad Central del Ecuador.

2.5.2. Extracción de Tejidos

A cada uno de los renacuajos colectados en el campo, se le sometió al análisis del aparato bucal. Es importante el análisis de la zona bucal en renacuajos, debido a que la infección en estos se limita a la zona queratinizada y puede resultar en deformación y erosión, lo que puede ser usado para el diagnóstico (Drake *et al*, 2007, Rachowicz & Vredenburg, 2004).

Se preparó una zona de trabajo completamente estéril. Cada individuo fue sumergido en un recipiente con alcohol al 95% de tal manera que se lo deshidrató por completo llegando por último a la muerte.

Se midió el largo total del renacuajo en milímetros, empleando un calibrador (pie de rey). La medida de longitud total del renacuajo se consideró desde la punta de la boca hasta la punta de la cola.

Previo a la extracción del aparato bucal se revisó cuidadosamente si este no poseía alguna deformación (Kriger *et al*, 2007c). Se prosiguió a cortar el aparato bucal con la ayuda de una tijera de tejidos previamente esterilizada, cortando lo más profundo posible el aparato bucal de tal manera que se pueda conservar todas las partes queratinizadas que posee cada individuo.

Las muestras de aparato bucal extraídas de los renacuajos fueron conservadas en tubos previamente marcados que contienen alcohol al 70% para la posterior extracción de ADN.

2.5.3. Extracción de ADN

A partir del tejido almacenado en alcohol al 70% se procedió con el protocolo de extracción de ADN modificado de Hyatt *et al*, 2007.

1. Pesar de 0.002 a 0.003 g de perlas de Zirconia y colocarlas en un tubo de 1.5 ml conjuntamente con 55 μ L de PrepMan Ultra (Sample Preparation Reagent. Applied Biosystems).
2. Cortar el aparto bucal lo mas finamente posible y añadir al tubo anteriormente preparado.
3. Homogenizar la muestra con vortex durante dos minutos, permitiendo que la muestra entre en contacto con las perlas de zirconia uniforme.
4. Centrifugar por dos minutos a 13000 rpm.
5. Repetir el paso tres y cuatro.
6. Incubar la muestra en un termobloque a 92 grados centígrados, durante diez minutos.
7. Enfriar la muestra durante cinco minutos.
8. Centrifugar la muestra durante 8 minutos a 13000 rpm.
9. Transvasar el sobrenadante del tubo en un tubo nuevo. Este es nuestro ADN extraído y listo para seguir con el proceso.
10. Almacenar el ADN a -20 grados centígrados para conservar la calidad de la muestra.

2.5.3.1. Cuantificación de ADN

Con protocolo ya establecido por el Laboratorio Molecular de Anfibios de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador QCAZ para el uso del espectrofotómetro “nanodrop” se cuantificó cada uno de los ADN extraídos dándonos una concentración en ng de ADN/ μ L.

1. Iniciar el nanodrop y realizar un blanco con agua grado PCR.
2. Realizar un re-blanco con la solución final en la que se encuentra el ADN extraído (en nuestro caso es PrePman Ultra).
3. Colocar de 1.5 a 1.8 μ L de la muestra en el objetivo y cuantificar (MEASURE).
4. Una buena concentración (pureza) y calidad de ADN se considera cuando se evalúa los valores dados en las absorbancias de 230/280 y 260/280 respectivamente. Un valor óptimo que se lee en estas absorbancias es de 1.8-2.
5. El reporte con cada una de las muestras cuantificadas se almacena automáticamente en el reporte correspondiente a cada muestreo.

2.5.4. Pruebas de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)

Con el ADN de cada renacuajo extraído y cuantificado se procedió a realizar una Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) según el protocolo ya establecido (Annis *et al*, 2004). Se trabajó con una concentración de ADN ajustada a 20 ng/ μ L de ADN.

La composición de la PCR para la amplificación del gen 5.8S ribosomal de *B. dendrobatidis* se tomo de Annis *et al*, 2004 con ciertas modificaciones; como se describe a continuación (Tabla 2.1):

Tabla 2.1 Composición de Master Mix para amplificación del gen 5.8S ribosomal de *B. dendrobatidis*.

Reactivo	1X (µL)	Concentración Final	Especificaciones
Taq Polimerasa	0.16	0.8 U/ µL	Taq DNA Polimerasa Recombinante. 500 unidades (5U/µL). Invitrogen
Bd1A	2.5	10 mM	5´-CAGTGTGCCATATGTCACG-3´ Tm=53.6 °C, PM=5,803.8
Bd2A	2.5	10mM	5´-CATGGTTCATATCTGTCCAG-3´ Tm=50.3 °C, PM=6,083.0
dNTP´s	0.25	20 mM	100 mM dNTP Set, Grado PCR. Invitrogen.
Buffer 10X	2.5	10 X	Buffer de reacción (-MgCl ₂) 1.25 ml. Invitrogen.
MgCl ₂	1.5	50 mM	50 mM MgCl ₂ 1 ml. Invitrogen.
H ₂ O	10.6		Grado PCR
ADN	5	20 ng/ µL	Dilusión de ADN extraído.
Volumen Final de Reacción	25		

Fuente: Modificado de Annis *et al*, 2004.

Los reactivos usados durante la preparación del Master Mix se conservaron en un bloque de frío para que ninguno de estos se degrade con los

cambios de temperatura y en especial la Taq Polimerasa Recombinante, durante el ensamblaje.

Se realizó una reacción de PCR con cada uno de los individuos colectados a lo largo del tiempo de muestreo, empleando en cada reacción un control positivo y negativo para asegurar las condiciones de amplificación en la PCR.

El control positivo que se usó en cada reacción de PCR, corresponde a un individuo analizado anteriormente y que forma parte del archivo de los individuos positivos de quitridiomycosis en el laboratorio molecular QCAZ con número de identificación T1660.

Las amplificaciones se llevaron a cabo en un termociclador (Multigene Labnet) empleando las siguientes condiciones de amplificación:

- ❖ Denaturación inicial de 93 °C por 10 minutos
- ❖ 35 ciclos de:
 - a) 45 segundos a 93 °C (Denaturación)
 - b) 45 segundos a 60 °C (Alineamiento)
 - c) 1 minuto a 72 °C (Extensión)
- ❖ Extensión final de 72 °C por 10 minutos
- ❖ Conservación 4 °C.

El producto de PCR se almacenó a una temperatura de 4 grados centígrados para evitar cualquier degradación del ADN y poder proceder con el siguiente paso de electroforesis.

2.5.5. Electroforesis de muestras

Los fragmentos de ADN amplificados se separaron mediante electroforesis en gel de agarosa (AGR-LE-500. AXYGEN Biosciences) al 1% en 0.5X TBE (Tris, Borato, EDTA).

Cada uno de los productos de PCR se mezclaron con 1 μ L de marcador de carga (Blue/Orange 6X. Loading Dye 1ml. Promega) que nos permitió la visualización de las bandas en el gel de agarosa. El peso molecular de cada producto de PCR fue estimado utilizando una escalera o ladder (TrackIt™ 100 bp DNA ladder. 100 appls (0.1 μ g/ μ L).Invitrogen).

Las condiciones de electroforesis empleadas para correr cada una de las muestras mediante una fuente de poder (Enduro Power Supplies 300V. Labnet International Inc.) fueron: 1 hora, 90 voltios y 399 amperios; permitiéndonos identificar la banda que corresponde al gen 5.8S ribosomal de *B. dendrobatidis* de aproximadamente 300 pares de bases y que finalmente es nuestro resultado de evaluación si un individuo está infectado o no con quitridiomycosis.

Capítulo 3: RESULTADOS

3.1. Datos generales

Durante los ocho meses de desarrollo del proyecto se realizaron cada quince días muestreos de renacuajos llegando a un total de 19 muestreos. La prevalencia promedio de *B. dendrobatidis* en el período de estudio fue de 33.94% (n=380) en la poza con agua permanente. Los niveles de prevalencia varían de 0.5% a 85% a través del tiempo (Tabla 3.1), por lo que se podría pensar que este efecto se debe a las fluctuaciones ambientales observadas ocurridos durante el tiempo de estudio.

Tabla 3.2 Prevalencia de quitridiomycosis en renacuajos de *Gastrotheca riobambae* en diferentes tiempos de muestreo, características de renacuajo y condiciones ambientales.

Fecha	n	Prevalencia ⁺⁺ (%)	LT Renacuajo promedio (mm)	Estadio Renacuajo (Promedio)	Abundancia relativa poblacional (promedio)	Temperatura Agua (°C)	Precipitación* (mm)
8-Aug-09	20	25.0	58.55	35.60	20	ND	0
24-Aug-09	20	40.0	59.13	36.70	25	ND	0.3
7-Sep-09	20	10.0	50.39	32.90	15	ND	0.7
21-Sep-09	20	14.3	64.17	38.65	20	15.76	7.4
5-Oct-09	20	20.0	67.70	38.50	16	14.85	1.6
19-Oct-09	20	40.0	52.20	35.65	10	14.57	36.3
3-Nov-09	20	0.5	34.88	32.40	10	13.23	32
21-Nov-09	20	30.0	51.60	35.80	16	14.00	15.5

Fecha	n	Prevalencia ^{**} (%)	LT Renacuajo promedio (mm)	Estadio Renacuajo (Promedio)	Abundancia relativa poblacional (promedio)	Temperatura Agua (°C)	Precipitación* (mm)
5-Dec-09	20	5.0	42.50	33.75	28	14.60	75.2
21-Dec-09	20	5.0	51.00	35.20	30	14.40	17.8
4-Jan-10	20	10.0	46.65	34.85	45	13.73	81.4
16-Jan-10	20	5.0	63.00	37.20	50	13.89	0.3
30-Jan-10	20	25.0	60.30	37.55	29	16.22	4.3
11-Feb-10	20	45.0	54.58	36.35	20	15.55	37.9
1-Mar-10	20	70.0	65.42	37.60	20	15.51	7.5
13-Mar-10	20	65.0	60.06	37.25	40	16.02	13.8
27-Mar-10	20	85.0	64.25	37.15	40	15.16	15
10-Apr-10	20	60.0	64.15	37.30	40	15.18	144.4
24-Apr-10	20	75.0	59.98	36.30	25	15.18	71

^{**} Prevalencia= (No. individuos afectados/ n)*100

* Fuente: INAMHI

ND: No determinado

Durante todo el período de muestreo Agosto 2009 a Abril 2010 el verano fue intenso, es decir, la temperatura ambiental registrada por el INAMHI en ese lapso de tiempo fue mayor en aproximadamente un grado centígrado que la temperatura ambiental normal esperada y la precipitación fue menor de la esperada en esos meses como se muestra en la Tabla 3.2.

Tabla 3.2. Precipitación y Temperatura ambiental proporcionados por el INAHMI para el período de tiempo de estudio.

MES	PRECIPITACIÓN (mm)		TEMPERATURA (°C)	
	NORMAL	MES	NORMAL	MES
Agosto 09	28.5	0.9	15.6	16.8
Septiembre 09	78.4	7.4	15.5	17.4
Octubre 09	107.4	69.3	15.3	17.1
Noviembre 09	103.2	71.3	15.2	16.8
Diciembre 09	86	120	15.3	16.6
Enero 10	85.1	4.6	15.2	16.9
Febrero 10	117.1	45.4	15.3	17.7
Marzo 10	145.9	26.5	15.2	17
Abril 10	153.4	209.4	15.3	16.7
TOTAL	905	554.8	15.32	17

La temperatura promedio del agua de poza varió entre 13.23 °C a 16.22 °C lo que no nos permite hacer una inferencia de la prevalencia, debido a que no existe una amplia variación dentro de la poza estudiada. Al mismo tiempo no existe una correlación significativa ($R^2=0.003038$; $F=0.0427$; $p=0.8393$) entre la temperatura promedio del agua de poza y la precipitación en el período (Ver ANEXO A).

Estas temperaturas no se encuentra dentro del rango de temperatura de 17-25 °C preferido por *B. dendrobatidis* (Piotrowski *et al*, 2004), sin embargo en estos muestreos se observó una prevalencia de quitridiomycosis de alrededor del 25%, indicando la evidencia de que existen individuos infectados cerca del rango de temperatura.

Adicionalmente, se obtuvieron varias correlaciones de los datos tomados en campo y en laboratorio con relación a la prevalencia de quitridiomycosis en la población larvaria de *G. riobambae* y la abundancia relativa poblacional durante el período de muestreo correspondiente Agosto 2009 a Abril 2010.

3.2. Análisis de Regresión Lineal

Mediante regresión lineal de las condiciones ambientales y características de los renacuajos (variables independientes) se pretende explicar el comportamiento de la variación de la abundancia relativa poblacional larvaria y la prevalencia de quitridiomycosis en la población de renacuajos (variables dependientes) para observar la relación lineal entre estas variables.

3.2.1. Regresión lineal de Abundancia Relativa de renacuajos

Con este análisis se pretende explicar la relación entre la abundancia relativa poblacional de renacuajos (variable dependiente) estimada en cada muestreo empleando el método de muestreo cuantitativo con ciertas variaciones (Heyer *et al*, 1994), y las otras variables. Por lo tanto, mediante el uso de un modelo de regresión lineal simple esta variable no estuvo correlacionada con ninguna de las variables ambientales, características de los renacuajos o con la prevalencia (Tabla 3.3).

Tabla 3.3. Análisis de regresiones lineales de la abundancia relativa (variable dependiente) en relación a las condiciones ambientales y características de renacuajo (variables independientes).

VARIABLES INDEPENDIENTES	R cuadrado	F_o (ANOVA)	P
Temperatura quincenal (agua)	0.0034	0.0481	0.8296
Precipitación quincenal	0.0063	0.1026	0.7529
Promedio estadio (renacuajo)	0.0831	1.5424	0.2311
LT (renacuajo)	0.0880	1.6417	0.2173
Profundidad del agua (poza)	0.0012	0.0211	0.8861
Nitritos	0.0017	0.0301	0.8642
Fosfatos	0.0733	1.3457	0.2621

El promedio del estadio del renacuajo explica el 8.32% de la abundancia relativa poblacional ($R^2=0.083182$; $F=1.5424$; $p>0.2311$), sin embargo no se considera un modelo significativo de regresión que explique la correlación con la abundancia relativa debido a que el valor de p es mayor que 0.05 (Ver Anexo B.1).

El promedio de longitud total del renacuajo explica un 8.80% la abundancia relativa ($R^2=0.088066$; $F=1.6417$; $p>0.2173$), por lo tanto es un modelo no significativo (Ver Anexo B.2). En el presente estudio se consideró capturar prioritariamente renacuajos con estadios avanzados, por lo tanto se

estaba colectando renacuajos de longitudes grandes; sin embargo estos parámetros no influyen en la abundancia poblacional relativa.

La concentración de fosfatos es uno de los parámetros medidos y evaluados en la calidad de agua de la poza y es el único dentro de los parámetros físico-químicos medidos que en un 7,34% ($R^2=0.073354$; $F=1.3457$; $p>0.2621$) explica el comportamiento de la abundancia relativa poblacional (Ver Anexo B.3), considerándose aún una correlación no significativa. Esto podría deberse al producto del azar ocurrido durante los muestreos, sin que la variable influyera sobre la abundancia relativa de la población larvaria.

3.2.2. Regresión lineal de Prevalencia de quitridiomycosis en la población de renacuajos

El modelo de regresión simple permite determinar la correlación entre la prevalencia de quitridiomycosis con las condiciones ambientales y las características de renacuajo (variables independientes) como se resume en la Tabla 3.4.

Tabla 3.4. Análisis de regresiones lineales de la prevalencia de quitridiomycosis (variable dependiente) en relación las condiciones ambientales y características del renacuajo (variables independientes).

VARIABLES INDEPENDIENTES	R cuadrado (r^2)	p >F (ANOVA)	P
Temperatura quincenal (agua)	0.37983	8.5745	0.0110
Precipitación quincenal	0.0357	0.5917	0.4530

VARIABLES INDEPENDIENTES	R cuadrado (r^2)	p > F (ANOVA)	P
Profundidad del agua	0.35088	9.1894	0.03566
Nitritos	0.0076	0.1300	0.7229
Fosfatos	0.03170	0.5566	0.4658
Abundancia Relativa	0.00441	0.0753	0.7871
Estadio renacuajo (promedio)	0.27228	6.3608	0.0219
LT renacuajo	0.3368	8.6317	0.0092

La variable temperatura quincenal del agua de la poza explica el 37.98% la variación en la prevalencia de quitridiomycosis ($R^2=0.379831$; $F=8.5745$; $p>0.0110$). Este porcentaje de correlación permite rechazar la hipótesis nula propuesta en cada uno de los análisis. El modelo demuestra que mientras menor es la temperatura del agua de la poza, la prevalencia de quitridiomycosis disminuye (Ver Anexo C.1). La correlación positiva presentada con esta variable ambiental en el estudio es de importancia ya que se trabajó con una temperatura menor a la preferida por el quítrido o como en otros estudios con temperaturas ambientales de 17.8 °C (Kriger *et al*, 2007c).

La profundidad del agua en la poza explicó el 35.08% ($R^2=0.350882$; $F=9.1894$; $p>0.03566$) de la variación en la prevalencia de quitridiomycosis (Ver Anexo C.2). La prevalencia de quitridiomycosis durante el periodo de muestreo fue mayor siempre que la profundidad del agua de la poza fuera mayor.

Entre las variables ambientales consideradas en el estudio la precipitación explica el 3.57% de la variación de prevalencia de quitridiomycosis ($R^2=0.03566$; $F=0.5917$; $p>0.4530$) (Ver Anexo C.3), los nitritos el 0.75%

($R^2=0.00759$; $F=0.1300$; $p>0.7229$) (Ver Anexo C.4); mientras que los fosfatos el 3.17% ($R^2=0.0317$; $F=0.5566$; $p>0.4658$) (Ver Anexo C.5). Además la abundancia relativa poblacional explica el 0.44% la prevalencia de quitridiomycosis ($R^2=0.004409$; $F=0.0753$; $p>0.7871$) (Ver Anexo C.6). Por lo tanto los nitritos y fosfatos medidos en la calidad de agua, la precipitación y la abundancia relativa poblacional no se consideran un modelo de regresión significativo para la prevalencia de quitridiomycosis.

Dentro de las variables independientes se considera a las características de los renacuajos en donde el promedio del estadio de los renacuajos explica el 27.22% de la prevalencia de quitridiomycosis ($R^2=0.272284$; $F=6.3608$; $p>0.0219$); con un modelo de regresión lineal significativo (Ver Anexo C.7). Este resultado quiere decir que, mientras más avanzado el estadio del renacuajo, mayor es la prevalencia de quitridiomycosis. La correlación podría deberse a que estadios más avanzados tienen los discos orales más grandes y con más queratina la cual es el sustrato del quítrido (Berger *et al*, 1998).

El promedio de la longitud total de los renacuajos explica el 33.68% y estuvo significativamente correlacionado con la prevalencia ($R^2=0.33676$; $F=8.6317$; $p>0.0092$) (Ver Anexo C.8). Esta correlación indica que mientras más largo es un renacuajo, la prevalencia va a ser mayor. Sin embargo esta variable está relacionada estrechamente con el estadio del renacuajo, ya que esta medida de largo total va a variar de acuerdo al individuo que se esté estudiando y el estadio que presente el mismo, por lo tanto esta correlación se explica de igual manera.

3.3. Regresión Lineal Múltiple

Tomando en cuenta que existen variables independientes que están fuertemente correlacionadas con la prevalencia de quitridiomycosis, es posible

realizar una regresión lineal múltiple (Tabla 3.5). Esta regresión nos permitió observar como estas variables actúan en conjunto frente a la variable dependiente prevalencia de quitridiomycosis y pronosticar su comportamiento (Gutiérrez *et al*, 2008).

Tabla 3.5. Análisis de regresión múltiple de la prevalencia (variable dependiente) en relación la temperatura quincenal del agua, longitud total y estadio promedio del renacuajo.

VARIABLES INDEPENDIENTES	R cuadrado	p > F (ANOVA)	P
Temperatura quincenal (agua)	0.555614	0.0178	0.0415
LT (renacuajo)			0.0545
Estadio renacuajo (promedio)			0.0869

Se realizaron varias combinaciones con todas las variables ambientales y características del renacuajo, para encontrar la mejor combinación de tres variables independientes influyentes sobre la prevalencia (Ron S, comunicación personal, 2010).

Esto nos permitió seleccionar como primera combinación a la temperatura quincenal del agua, longitud total promedio del renacuajo y estadio promedio del renacuajo (Tabla 3.5).

Las variables independientes de temperatura quincenal del agua de la poza, promedio de longitud total de los renacuajos estudiados y promedio de estadio del renacuajo en conjunto explican el 55,56% de la prevalencia de quitridiomycosis ($R^2=0.555614$; $F=0.0178$) (Ver anexo D.1). Este análisis corrobora lo observado en otros estudios en donde se ha demostrado que la temperatura es uno de los factores de mayor importancia para el desarrollo de la infección

(Berger et al, 1999) y posteriormente diseminación de la enfermedad sobre cada individuos desde su etapas iniciales (Drake *et al*, 2007).

Y como segunda combinación para la regresión múltiple se escogió a la temperatura quincenal del agua de poza, estadio promedio del renacuajo y profundidad del agua de la poza (Tabla 3.6).

Tabla 3.6. Análisis de regresión múltiple de la prevalencia (variable dependiente) en relación la temperatura quincenal del agua, estadio promedio del renacuajo y profundidad del agua.

VARIABLES INDEPENDIENTES	R cuadrado	p >F (ANOVA)	P
Temperatura quincenal (agua)	0.5805	0.0128	0.5110
Estadio renacuajo (promedio)			0.3062
Profundidad del agua			0.0367

Las variables independientes de temperatura quincenal del agua de la poza, promedio de estadio del renacuajo y profundidad del agua en la poza en conjunto explican el 58,05% de la prevalencia de quitridiomycosis ($R^2=0.5805$; $F=0.0128$) (Ver anexo D.2). Explicando que al tratarse de dos variables que no están directamente correlacionadas entre sí (estadio y longitud del renacuajo) como se mostró en el caso anterior. Se observa una mejor explicación tanto de condiciones ambientales como características del renacuajo sobre la prevalencia de quitridiomycosis en la población larvaria.

3.4. Regresión Logística

La regresión logística nos permite evaluar el efecto de las variables independientes en la probabilidad de que un individuo esté infectado o no por *B. dendrobatidis*, sus resultados se muestran en la Tabla 3.7.

Tabla 3.7 Regresión logística de presencia o ausencia de *B. dendrobatidis* (variable dependiente) en relación a las variables independientes.

VARIABLE INDEPENDIENTE	R ²	Chi ²	P
Abundancia Relativa	0.0491	23.8812	<.0001
Estadio	0.0001	0.0577	0.8101
Promedio Estadio	0.0988	48.019	<.0001
LT individual	0.0086	4.15764	0.0414
LT promedio	0.0011	0.52365	0.4693
Temperatura quincenal	0.0863	35.9646	<.0001
Precipitación quincenal	0.0059	2.8687	0.0903
Profundidad del agua	0.0926	45.0004	<.0001
Nitratos	0.0049	2.3929	0.1219
Nitritos	0.0000	0.0058	0.9394

VARIABLE INDEPENDIENTE	R ²	Chi ²	P
Fosfatos	0.0050	2.4504	0.1175
pH	0.0000	0.0214	0.8837

La probabilidad de infección con *B. dendrobatidis* esta correlacionada con las variables independientes abundancia relativa poblacional, temperatura quincenal del agua y profundidad del agua de poza.

La variabilidad de la presencia/ausencia de *B. dendrobatidis* se ve influenciada en un 4.91% ($R^2=0.0491$; $\chi^2=23.88$; $p<.0001$) por la abundancia relativa poblacional (Ver Anexo E.1). Esta influencia se refleja al analizar los individuos que presentan la infección, ya que se asume que representan una baja en la población de *G. riobambae*, sin embargo no se asegura esta declinación ya que no se ha realizado un estudio de seguimiento de cada uno de los individuos posterior a la identificación de la infección.

El promedio del estadio del renacuajo influye en el 9.88% ($R^2=0.0988$; $\chi^2=48.019$; $p<.0001$) sobre la presencia de *B. dendrobatidis* (Ver Anexo E.2). Es una de las variables más importantes que influye en la presencia del quítrido, ya que como se hizo mención antes este factor influye sobre la prevalencia de quitridiomycosis y como se ha demostrado en el estudio de Smith *et al* (2007) los renacuajos en estadios más avanzados presentan mayor prevalencia que los individuos con estadios tempranos. Por lo tanto se podría encontrar más presencia del quítrido en individuos con estadio avanzado.

La temperatura quincenal del agua de la poza en el estudio influye en el 8.63% ($R^2=0.0863$; $\chi^2=35.9646$; $p<.0001$) sobre la presencia de *B. dendrobatidis* (Ver Anexo E.3). En el rango de temperatura de 14.57 a 16,22 °C se evidenció en mayor proporción la presencia de quítrido y se correlacionan la temperatura y la prevalencia. En el presente trabajo se determina mientras más

cercana es la temperatura del agua de la poza al rango de temperaturas preferidas por el quítrido mayor es la prevalencia.

Finalmente la profundidad del agua de la poza influye en la presencia de *B. dendrobatidis* con el 9.26% ($R^2=0.926$ $\chi^2=45.00$; $p<.0001$) y viceversa, ya que el agua es el principal medio de dispersión para *B. dendrobatidis* en una población larvaria (Ver Anexo E.4).

Capítulo 4: DISCUSIÓN

La prevalencia promedio de quitridiomycosis en la población larvaria de *G. riobambae* del Parque Metropolitano de Quito en el período de estudio Agosto 2009 a Abril 2010 fue de 33.94%. Esta prevalencia se considera alta dentro de la población estudiada que fue bastante limitada por tratarse de un muestreo en una sola poza en estado natural, en comparación con estudios que se han llevado a cabo monitoreando una población de diferentes localidades y condiciones de temperatura durante un período de tiempo más amplio para observar el efecto de *B. dendrobatidis* sobre poblaciones larvarias y de adultos (Vredenburg *et al*, 2010).

Una vez encontrada la prevalencia de quitridiomycosis en la población larvaria de *G. riobambae* se puede suponer que la población adulta se ve afectada por la presencia del quítrido. Estas consideraciones llevaron a analizar las correlaciones existentes entre las condiciones ambientales así como de las características de los renacuajos para la abundancia relativa. A pesar de esto las correlaciones encontradas no resultaron significativas y por lo tanto no están afectando a la abundancia relativa promedio de los renacuajos en la poza de estudio. En varios estudios se analiza que la presencia de *B. dendrobatidis* en óptimas condiciones de temperatura y reservas de sustrato permite la persistencia del quítrido con un efecto negativo (Smith *et al*, 2007). La cadena de consecuencias por la infección de quitridiomycosis inicia en renacuajos con una reducción de tasa de crecimiento, inhibición de habilidad de competitividad, deformaciones del aparato bucal disminuyendo la eficiencia de alimentación y finalmente la afección del individuo cuando es adulto llevándolos hasta su extinción (Parris & Cornelius, 2004).

Entre las variables analizadas para la abundancia relativa poblacional (variable dependiente) el estadio promedio y el largo total del renacuajo no muestran correlación con la abundancia relativa poblacional. Esto sugiere que

mientras un individuo está en estado larvario y es identificado como infectado por quitridiomycosis, no quiere decir que dicho individuo va a morir a causa de la infección, ya que pueden existir otras causas de mortalidad en individuos larvarios o por simple selección natural. Este punto es importante destacar ya que existen muchas especies de anfibios que pueden ser infectados, sin embargo no mueren debido al desarrollo de quitridiomycosis (Trenton *et al*, 2009). Por esto las declinaciones de anfibios no solo se puede atribuir a un patógeno como *B. dendrobatidis* ya que el mismo individuo puede morir por otras enfermedades o predadores naturales (Blaustein *et al*, 2010).

Entre las variables ambientales analizadas para la abundancia relativa poblacional, la variable que destaca es los fosfatos medidos en la calidad de agua. Considerando que las aguas en donde se desarrollan naturalmente los renacuajos de *G. riobambae* son aguas estancadas y pocas veces tienen movimientos, la concentración de fosfatos fue baja (entre 0.12 a 1.07 mg/l) al igual que con los nitratos (0.05 a 0.9 mg/l) lo que indica una excelente calidad del agua según la norma INEN 1108. Estos parámetros de calidad de agua fueron las óptimas para el desarrollo de los renacuajos y no influyeron en la abundancia relativa poblacional. De estos importantes parámetros dependen el pH, la productividad primaria y el crecimiento de plantas como algas que pueden servir de sustrato para los anfibios y al mismo tiempo ayudar a la oxigenación de las aguas, de tal manera que los individuos adultos elijan el mejor lugar para la puesta de huevos (Fredericksen *et al*, 2001) que posteriormente se desarrollaran sin ninguna limitación.

Las correlaciones presentadas entre la prevalencia de quitridiomycosis con las condiciones ambientales y características de los renacuajos se mostraron influyentes en el modelo de regresión lineal y nos permiten evaluar el desarrollo de quitridiomycosis en la población larvaria de *G. riobambae*.

Estas correlaciones se observaron a pesar de que el muestreo usado no nos permitió visualizar claramente la variación de la prevalencia en relación de la temperatura del agua de la poza, debido a la limitación de datos obtenidos. Se

pretendía muestrear en varias pozas, sin embargo por las condiciones climáticas naturales estas pozas no mantuvieron agua constantemente, y por lo tanto la población de renacuajos no pudo ser monitoreada durante todo el período de muestreo.

Se obtuvo una variación de temperatura promedio quincenal del agua de poza máxima de 16.22 °C y mínima de 13.23 °C que a pesar de ser un rango de temperaturas fuera de los límites preferidos por *B. dendrobatidis* hubo evidencia de quitridiomycosis. Además la temperatura promedio del agua de la poza fue de 14.866 °C y se observó que en esta temperatura si puede desarrollarse quitridiomycosis afectando a las poblaciones con posteriores declinaciones siendo los renacuajos los principales portadores de la existencia de *B. dendrobatidis* (Smith *et al*, 2007). A pesar de este hallazgo no hay estudios que hayan probado con larvas en temperaturas de 14 °C que refuercen la hipótesis de la correlación positiva prevalencia- temperatura para el desarrollo de quitridiomycosis en estas condiciones.

La mayor prevalencia de quitridiomycosis se registró en el muestreo número 17 correspondiente al 27 de Marzo del 2010 en un 85% (Tabla 3.1), en el que la temperatura del agua fue de 15.159 °C. Este muestreo se considera dentro de un mes con altas temperaturas en comparación con las normales registradas en años anteriores (Tabla 3.2). Según el INAHMI la temperatura ambiental de Marzo 2010 fue de 17 °C y precipitación de 26.5 mm; sin embargo las medidas normales esperadas eran de temperatura 15.2 °C y 145.9mm de precipitación. El mes de marzo fue uno de los meses más calientes durante el período de investigación. A pesar de estas circunstancias se detectó la presencia de *B. dendrobatidis* en un alto porcentaje, ya que aumento en general la temperatura del Parque Metropolitano y la temperatura del agua de poza se acerca al rango preferido por el quítrido para su óptimo desarrollo.

La prevalencia de quitridiomycosis en este rango de temperatura puede explicarse mediante las acotaciones realizadas por Kriger *et al* (2007b), en donde se determinó que las ranas de regiones templadas tienen infecciones

significativamente más intensas que las contrapartes tropicales. El Parque Metropolitano de Quito se ubica a 2988 msnm con una temperatura media de 11°C, y el perfecto hábitat para la rana marsupial (*G. riobambae*) incurre dentro de una región templada más no dentro de una región tropical. La temperatura y la ubicación geográfica (a pesar de no ser una variable tomada en cuenta) nos llevan a un análisis a groso modo, de que las ranas en zonas templadas como el Parque Metropolitano poseen un mayor riesgo de mortalidad inducida por quitridiomycosis.

Otro factor ambiental a ser considerado es la precipitación, ya que se presenta mayor prevalencia e intensidad de infecciones por *B. dendrobatidis* en lugares con precipitaciones altas además de temperaturas ambientales frescas (Kriger *et al*, 2007b). Entre los datos colectados no se encontró correlación significativa entre la precipitación y la temperatura promedio quincenal del agua de poza, ya que en el período de muestreo la presencia de precipitación fue baja y solo se tuvo 554.8 mm en comparación con la precipitación esperada para el período que era de 905 mm, según lo reportado por el INAMHI (2010) por lo que se considera una etapa de verano intenso durante el período muestreo.

Otra variable considerada de importancia es la profundidad de agua en la poza que reportó una correlación importante con la prevalencia, ya que mientras mayor sea la profundidad, mayor será la prevalencia. Esta es una variable muy susceptible a otras variables consideradas en el estudio e incluso factores externos. El agua de la poza muestreada siempre se mantuvo empozada en un mismo lugar, excepto cuando existía presencia de precipitaciones o cuando agua de los depósitos de la EMMAP era liberada. Sin embargo, no se realizó ningún análisis en el que se explique la correlación de la profundidad del agua con estas variables.

Cuando se analizó las características del renacuajo, la proporción de prevalencia de quitridiomycosis fue significativa y positivamente relacionada con el estadio del renacuajo y se explica en un 35% (Tabla 3.3). Sin embargo, no existe evidencia de que estos renacuajos al cumplir con todo su proceso de

metamorfosis llegaran a desarrollar completamente la enfermedad terminando en muerte, ya que sería motivo de otro estudio en donde se mantenga una población de individuos enfermos y sanos, para posteriormente ir controlando a través del tiempo su desarrollo y poseer una mejor visualización de la prevalencia de quitridiomycosis.

En este estudio se observó que mientras mayor es el estadio del individuo, mayor será la prevalencia de quitridiomycosis. Por ejemplo, en los muestreos con un estadio promedio de 32 según Gosner (1960) existió un 0.5% de prevalencia de quitridiomycosis; mientras que con un estadio promedio de 36 la prevalencia fue de 75%. Esta correlación positiva entre la prevalencia de *B. dendrobatidis* y el estadio de desarrollo del renacuajo es similar a la reportada por Smith, *et al* (2007), en *Strongylopus hymenopus* donde reportó una prevalencia de 15.8% en un estadio de 30 mientras que en un estadio de 35 la prevalencia fue de 63.5%.

Además esta correlación nos permite evaluar y considerar que un renacuajo y su disposición a *B. dendrobatidis*, en un estadio más avanzado ha tenido más tiempo para el contagio. Por lo tanto, con más tiempo el renacuajo ha desarrollado de mejor manera el aparato bucal, permitiendo que la cantidad de queratina sea mayor para que el quítrido encuentre su fuente de energía y a la vez darse cambios en el comportamiento de inmunocompetencia haciendo más vulnerable al hospedador (Berger *et al*, 1998,1999). Es importante recalcar que el proceso para que un individuo se considere infectado por *B. dendrobatidis* puede ser dependiente del tiempo, de manera que solo se producen infecciones después de exposiciones repetidas o se detectan únicamente después que la infección ha alcanzado una magnitud crítica (Blaustein *et al*, 2005).

En el muestreo de campo se prefirió coleccionar siempre renacuajos en estadios avanzados y que a su vez eran grandes y tenían más tiempo de exposición al quítrido. Una variable relacionada con el estadio del renacuajo es la medida de longitud total que fue tomada desde el inicio de la boca hasta la punta de la cola de cada renacuajo. Esta variable se explica, ya que un individuo con

estadio avanzado va a poseer una mayor longitud. Además se ha demostrado que la longitud de un renacuajo es uno de los pronosticadores más importantes de supervivencia y dosis de infección que nos ayuda a evaluar la variación de prevalencia en una población larvaria como lo reportado por Carey *et al* (2006) en renacuajos de *Bufo boreas*.

El promedio de longitud total de los renacuajos así como el estadio promedio son variables que en el presente estudio se correlacionan entre ellas y con la prevalencia de quitridiomycosis en la población larvaria. El desarrollo del renacuajo influye mucho en la presencia o ausencia de *B. dendrobatidis*. En los renacuajos la parte queratinizada se presenta solo en el aparato bucal durante todo el proceso de metamorfosis (Berger *et al*, 1998; Kriger *et al* 2006b), mientras más grande es el renacuajo y más avanzado es su estadio de desarrollo se considera un buen objetivo de estudio y por lo tanto un blanco preferido por *B. dendrobatidis* para el desarrollo de infección (Smith *et al*, 2007).

Todas las variables evaluadas tanto ambientales como características del renacuajo, siempre presentan un mejor panorama del efecto de la prevalencia de quitridiomycosis si se las evalúa en conjunto. Esto nos permite observar que muchas de las variables evaluadas siempre se ven influenciadas por otros factores que proporcionan las condiciones esenciales para el desarrollo de quitridiomycosis.

Este es el caso cuando se seleccionó tres variables de las cuales dos están relacionadas entre ellas, como es el caso de temperatura quincenal del agua, promedio de longitud total y estadio del renacuajo. Este análisis permite verificar que mientras se seleccione a un renacuajo en un estadio más avanzado y con mayor longitud en las condiciones óptimas de temperatura va a dar lugar a un mejor desarrollo de quitridiomycosis afectando a este individuo.

Asimismo cuando se analizó las otras tres variables influyentes sobre la prevalencia de quitridiomycosis se puede ver que dos condiciones ambientales como la temperatura y profundidad del agua de poza permiten un mayor

desarrollo del renacuajo en buenas condiciones y dan lugar a que el renacuajo alcance estadios de metamorfosis con éxito. Como el renacuajo puede desarrollarse en el lugar adecuado con condiciones de temperatura y la profundidad del agua de poza este es más afectado. Especialmente al hablar de profundidad de la poza va a existir mayor prevalencia de quitridiomycosis cuando la profundidad es mayor, debido a que existe mayor extensión de área para que el quítrido sea transportado y posteriormente infectar a nuevos individuos persistiendo en el tiempo.

Al concluir con el desarrollo de este estudio de prevalencia de quitridiomycosis no se pudo cumplir con el tercer objetivo propuesto que incluía revelar el futuro de la población de *G. riobambae* ya que la prevalencia promedio de quitridiomycosis encontrada no asegura que esta población pueda llegar a una declinación como se ha visto en otros casos, pero si se afirma que la infección está presente en sus primeras etapas y los portadores del quítrido en este caso son los renacuajos de *G. riobambae*.

Capítulo 5: CONCLUSIONES

- Las condiciones ambientales y características del renacuajo son variables que presentaron baja correlación respecto a la abundancia relativa poblacional, indicando que no afectan a la población larvaria de *Gastrotheca riobambae*.
- La prevalencia de quitridiomycosis aumenta cuando la temperatura quincenal del agua y profundidad del agua de la poza aumentan y son evaluadas independientemente.
- Mientras más avanzado es el estadio según Gosner del renacuajo la prevalencia será mayor, por que el individuo ha tenido mucho más tiempo para la infección y presenta un aparato bucal mejor desarrollado con suficiente queratina para *B. dendrobatidis*.
- La longitud total del renacuajo al correlacionarse con la prevalencia indica que a mayor largo la prevalencia será mayor, y a su vez esta variable esta directamente correlacionada con el estadio promedio del renacuajo.
- Las variables temperatura quincenal del agua de poza, longitud total del renacuajo y estadio promedio del renacuajo cuando actúan en conjunto explican la prevalencia de quitridiomycosis en el 55.56% sobre la población larvaria de *Gastrotheca riobambae*.
- Las variables temperatura quincenal del agua de poza, estadio promedio del renacuajo y profundidad del agua de la poza cuando actúan en conjunto explican la prevalencia de quitridiomycosis en el 58.05% sobre la población larvaria de *Gastrotheca riobambae*.

- La población larvaria de *Gastrotheca riobambae* se ve afectada por la prevalencia de quitridiomycosis, sin embargo no se afirma que exista una disminución de la misma por la presencia de la enfermedad.

Capítulo 6: RECOMENDACIONES

- Realizar un estudio con *Gastrotheca riobambae*, incluyendo una mayor distribución de los individuos en diferentes condiciones ambientales y localidades que permitan visualizar ampliamente el efecto de quitridiomicosis.
- Realizar un proyecto en el que a los renacuajos capturados se les someta la prueba de presencia de *Batrachochytrium dendrobatidis* sin matarlos. Permitiendo mantener estos individuos en diferentes condiciones y monitorear su comportamiento en relación a los efectos de quitridiomicosis incluyendo una población control.
- Evaluar individuos adultos y larvas durante varias generaciones para correlacionar si quitridiomicosis está afectando la población de *G. riobambae* a través del tiempo.

Capítulo 7: BIBLIOGRAFÍA

1. Annis S., Dastoor F., Ziel H., Daszak P, Longcore J. (2004). A DNA- based assay identifies *Batrachochytrium dendrobatidis* in amphibians. Journal of Wildlife Diseases, 40 (3), 420-428.
2. Barr D., (Eds.). (1990). Phylum chytridiomycota. In handbook of Protoctista. Boston. pp. 454–466.
3. Berger L., *et al.* (1998). Chytridiomycosis causes amphibian mortality associated with population declines in the rain forest of Australia and Central America. National Academy of Sciences, 40, 9031–9036.
4. Berger L., Speare R., Hyatt AD. (1999). Chytrid fungi and amphibian declines: Overview, implications and future directions. In: Campbell A. (ed) Declines and disappearances of Australian frogs. Environment Australia: Canberra, 23-33.
5. Blaustein A., *et al.* (2005). Interspecific Variation in Susceptibility of Frog Tadpoles to the Pathogenic Fungus *Batrachochytrium dendrobatidis*. Society for Conservation Biology. 1460–1468.
6. Boletín Electrónico en Desarrollo Sostenible. (2005). Aumento de temperatura de 0.6°C rompió cadenas alimenticias. Centro de

Documentación en Desarrollo Sostenible. Universidad del Pacífico Lima-Perú. [Versión Electrónica], 4 (12). Contacto: cendoc_ds@up.edu.pe

7. Carey C., *et al.* (2006). Experimental exposures of boreal toads (*Bufo boreas*) to a pathogenic chytrid fungus (*Batrachochytrium dendrobatidis*). EcoHealth, 3, 5–21.
8. Coloma L., Rob S., Jungfer K. (2004). *Gastrotheca riobambae*. IUCN red List of Threatened Species.
9. Coloma Luis. (2006). Iniciativa Balsa de los Sapos. Implementando un plan estratégico para la conservación de los anfibios ecuatorianos en riesgo de extinción. Pontificia Universidad Católica del Ecuador.
10. Daszak P., Cunningham A., Hyatt A. (2000). Emerging Infectious Diseases of Wildlife Threats to Biodiversity and Human Health. WildLife Ecology, 287, 443-449.
11. Drake D., Altig R., Grace J. & Wall S. (2007). Occurrence of Oral Deformities in Larval Anurans. Copeia, 2, 449-458.
12. Duellman William and Trueb Linda. (1994). Biology of Amphibians. London: The Johns Hopkins University Press.
13. Duellman W. (2001). Hylid frogs of Middle America. Society for the study of Amphibians and Reptiles. 1159.

14. Duellman W., Köhler J. (2005). New species of marsupial frog (Hylidae: Hemiphractinae: Gastrotheca) from the Yungas of Bolivia. Journal of Herpetology, 39, 91–100.
15. Fisher M., et al. (2009). Proteomic and phenotypic profiling of the amphibian pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis* shows that genotype is linked to virulence. Molecular Ecology, 18, 415–429.
16. Frost D. (2010). Amphibian species of the World: an online reference. American Museum of Natural History, New York. (Versión 5.4)
17. Gutiérrez H & de la Vara R. (2008). Análisis y Diseño de experimentos. México: McGraw Hill Interamericana.
18. Hyatt A., et al. (2007). Diagnostic assays and sampling protocols for the detection of *Batrachochytrium dendrobatidis*. Diseases of Aquatic Organisms. Dis Aquat Org, 73, 175–192.
19. James T., Porter D., Leander C., Vilgalys R., Longcore J. (2000). Molecular phylogenetics of the Chytridiomycota supports the utility of ultrastructural data in chytrid systematic. Can. J. Bot., 78, 336–350.
20. Johnson M., Speare R. (2003). Survival of *Batrachochytrium dendrobatidis* in water: quarantine and disease control implications. Emerg. Infect. Ds., 9, 922–925.

21. Kilpatrick A., Briggs C., Daszak P. (2010). The ecology and impact of chytridiomycosis: an emerging disease of amphibians. Trends in Ecology and Evolution, *25*(2), 109–118.
22. Kriger, K.M., & Hero, J.-M. (2006a). Large-scale seasonal variation in the prevalence and severity of chytridiomycosis. Journal of Zoology.
23. Kriger, K.M., & Hero, J.-M. (2006b). Survivorship in Wild Frogs Infected with Chytridiomycosis. EcoHealth, *3*, 171-177.
24. Kriger, K.M., Hines, H., Hyatt, A., Boyle D., Hero, J.-M. (2006c). Techniques for detecting chytridiomycosis in wild frogs: comparing histology with real time Taqman PCR. Diseases of Aquatic Organisms, *71*, 141-148.
25. Kriger, K.M., & Hero, J.-M. (2007a). The chytrid fungus *Batrachochytrium dendrobatidis* is non-randomly distributed across amphibian breeding habitats. Biodiversity Research.
26. Kriger, K.M., pereoglou, F & Hero, J.-M. (2007b). Latitudinal Variation in the Prevalence and Intensity of Chytrid (*Batrachochytrium dendrobatidis*) Infection in Eastern Australia. Society for Conservation Biology, *21*, 1280-1290.
27. Kriger K., Hero J. (2007c). Large scale seasonal variation in the prevalence and severity of chytridiomycosis. Journal of Zoology, *271*, 352–359.

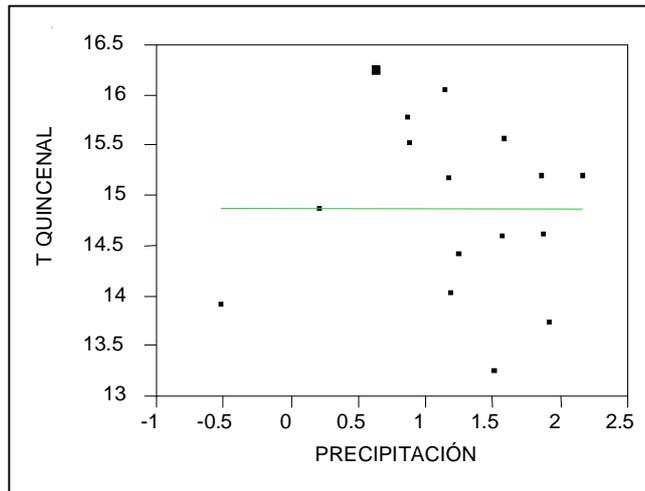
28. Longcore J., Pressier A., Nichols D. (1999). *Batrachochytrium dendrobatidis* gen. et sp. Nov., a chytrid pathogenic to amphibians. Mycologia, 91, 219–227.
29. Morehouse E., et al. (2003). Multilocus sequence typing suggests the chytrid pathogen of amphibians is a recently emerged clone. Molecular Ecology, 12, 395–403.
30. Morgan J., Vredenburg V., Rachowicz L., et al (2007). Population genetics of the frog-killing fungus *Batrachochytrium dendrobatidis*. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA, 104, 13845–13850.
31. Museo de Zoología. Escuela de Biología. Pontificia Universidad Católica del Ecuador (QCAZ). (2009). AmphibiaWebEcuador. Enciclopedia Electrónica de Anfibios de Ecuador.
32. Piotrowski J., Annis S., Longcore J. (2004). Physiology of *batrachochytrium dendrobatidis*, a chytrid pathogen of amphibians. Mycologia, 96 (1), pp 9–15.
33. Powell M. (1993). Looking at mycology with a Janus face: a glimpse at Chytridiomycetes active in the environment. Mycologia, 85, 1–20.
34. Rachowicz Lara & Vredenburg Vance. (2004). Transmission of *Batrachochytrium dendrobatidis* within and between amphibian life stages. Diseases of Aquatic Organisms, 61, 75-83.

35. Retallick R., McCallum H., Speare R. (2004). Endemic Infection of the Amphibian Chytrid Fungus in a frog Community Post-Decline. Plos Biology, 2(11), 001-007.
36. Retallick R., Miera V., Richards K., Field K., Collins J. (2006). A non-lethal technique for detecting the chytrid fungus *Batrachochytrium dendrobatidis* on tadpoles. Diseases of Aquatic Organisms, 72, 77-85.
37. Rice K., Mazzotti F., Waddles J., Conill M. (2006). Uso de Anfibios como Indicadores del Exito de la Restauracion de Ecosistemas. Universidad de la Florida. Wildlife Ecology and Conservation.
38. Rosenblum *et al.* (2009). A molecular perspective: biology of the emerging pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis*. Diseases of Aquatic Organisms, 1–17.
39. Smith K., Weldon C., Conradie W., du Preez L. (2007). Relationships among size, development, and *Batrachochytrium dendrobatidis* infection in African tadpoles. Diseases of Aquatic Organisms, 74, 159–164.
40. Trenton W. *et al.* (2009). Life history tradeoffs influence mortality associated with the amphibian pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis*. Oikos, 118, 783–791.

41. Vredenburg V., Knapp R., Tunstall T. & Briggs C. (2010). Dynamics of an emerging disease drive large-scale amphibian population extinctions. PNAS Early edition. 1 -6.
42. White T., Bruns T., Lee S., Taylor J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. San Diego, California: Academic Press. pp 315–322.
43. Woodhams D., Alford R., Briggs C., Johnson M., Rollins-Smith L. (2008). Life history trade-offs influence disease in changing climates: strategies of amphibian pathogen. Ecology, 89, 1627–1639.

ANEXOS

Anexo A. Regresión lineal Temperatura quincenal vs. Precipitación.



Ajuste Linear

$$T \text{ QUINCENAL} = 14.948846 - 0.068852 * \text{PRECIPITACIÓN}$$

Resumen del ajuste

R Cuadrado	0.003038
R Cuadrado Ajustado	-0.06817
Raíz Media del Error Cuadrado	0.893004
Media de la Respuesta	14.86598
Observaciones	16

Análisis de Varianza

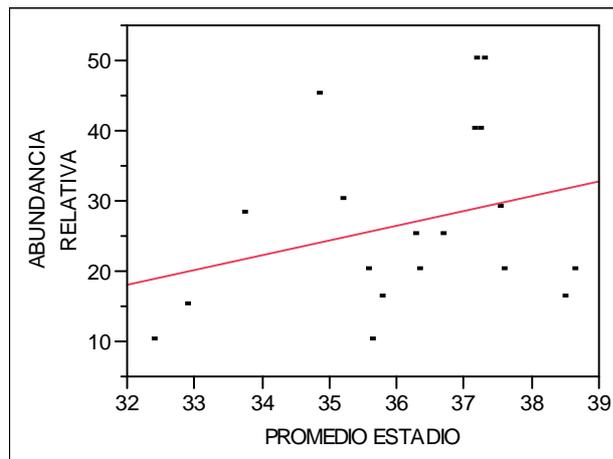
Fuente	GL	Suma de Cuadrados	Cuadrado medio	F _o	Valor-p
Modelo	1	0.034018	0.034018	0.0427	0.8393
Error	14	11.164390	0.797456		
Total	15	11.198408			

Parámetros Estimados

Parámetro	Estimación	Error estándar	Estadístico	Valor-p
Intercepción	14.948846	0.459154	32.56	<.0001
PRECIPITACIÓN	-0.068852	0.333363	-0.21	0.8393

Anexo B. REGRESIONES LINEALES DE ABUNDANCIA RELATIVA POBLACIONAL

B.1. Regresión lineal de Abundancia Relativa vs. Promedio Estadio del renacuajo.



Ajuste Linear

$$\text{ABUNDANCIA RELATIVA} = -49.27289 + 2.1045361 \cdot \text{PROMEDIO ESTADIO}$$

Resumen del ajuste

R Cuadrado	0.083182
R Cuadrado Ajustado	0.029251
Raíz Media del Error Cuadrado	12.50843
Media de la Respuesta	26.78947
Observaciones	19

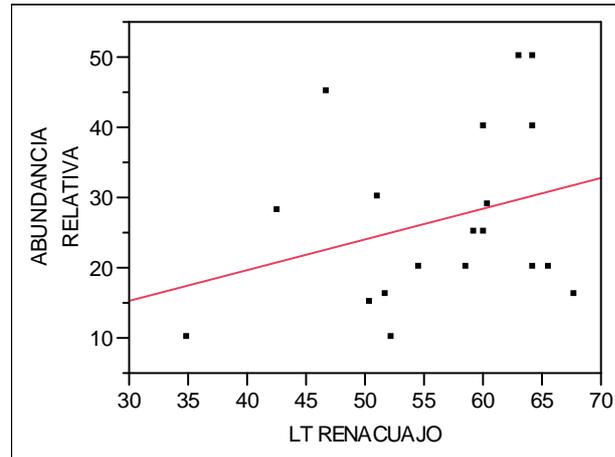
Análisis de Varianza

Fuente	GL	Suma de Cuadrados	Cuadrado medio	F _o	Valor-p
Modelo	1	241.3238	241.324	1.5424	0.2311
Error	17	2659.8341	156.461		
Total	18	2901.1579			

Parámetros Estimados

Parámetro	Estimación	Error estándar	Estadístico	Valor-p
Intercepción	-49.27289	61.31246	-0.80	0.4327
PROMEDIO ESTADIO	2.1045361	1.694568	1.24	0.2311

B.2. Regresión lineal de Abundancia Relativa vs. Promedio Largo Total del renacuajo poza 1.



Ajuste Linear

$$\text{ABUNDANCIA RELATIVA} = 2.2678753 + 0.4352228 \cdot \text{LT RENACUAJO}$$

Resumen del ajuste

R Cuadrado	0.088066
R Cuadrado Ajustado	0.034423
Raíz Media del Error Cuadrado	12.47507
Media de la Respuesta	26.78947
Observaciones	19

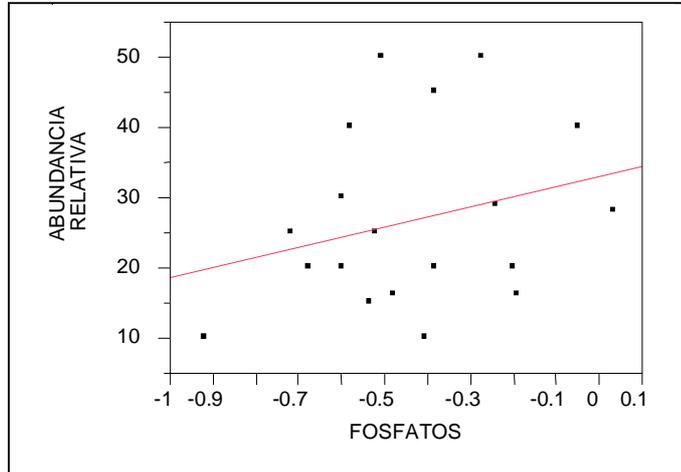
Análisis de Varianza

Fuente	GL	Suma de Cuadrados	Cuadrado medio	F _o	Valor-p
Modelo	1	255.4930	255.493	1.6417	0.2173
Error	17	2645.6649	155.627		
Total	18	2901.1579			

Parámetros Estimados

Parámetro	Estimación	Error estándar	Estadístico	Valor-p
Intercepción	2.2678753	19.35106	0.12	0.9081
LT RENACUAJO	0.4352228	0.339676	1.28	0.2173

B.3. Regresión lineal de Abundancia Relativa vs. Fosfatos.



Ajuste Linear

$$\text{ABUNDANCIA RELATIVA} = 33.068912 + 14.411914 * \text{FOSFATOS}$$

Resumen del ajuste

R Cuadrado	0.073354
R Cuadrado Ajustado	0.018845
Raíz Media del Error Cuadrado	12.5753
Media de la Respuesta	26.78947
Observaciones	19

Análisis de Varianza

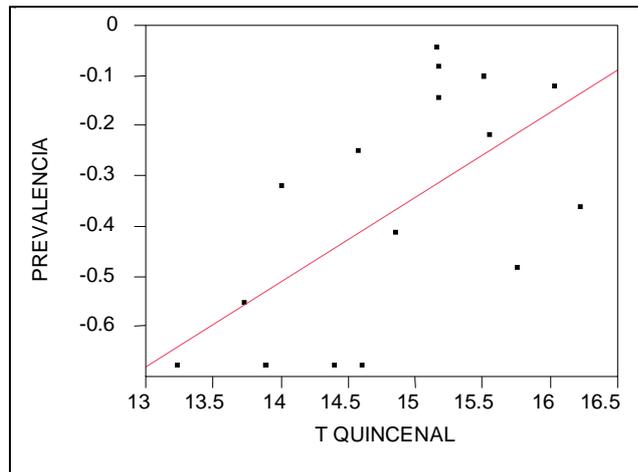
Fuente	GL	Suma de Cuadrados	Cuadrado medio	F _o	Valor-p
Modelo	1	212.8104	212.810	1.3457	0.2621
Error	17	2688.3475	158.138		
Total	18	2901.1579			

Parámetros Estimados

Parámetro	Estimación	Error estándar	Estadístico	Valor-p
Intercepción	33.068912	6.133861	5.39	<.0001
FOSFATOS	14.411914	12.42349	1.16	0.2621

Anexo C. REGRESIÓN LINEAL PREVALENCIA

C.1. Regresión lineal de Prevalencia vs. Temperatura quincenal.



Ajuste Linear

$$\text{PREVALENCIA} = -2.867369 + 0.168333 \cdot \text{T QUINCENAL}$$

Resumen del ajuste

R Cuadrado	0.379831
R Cuadrado Ajustado	0.335534
Raíz Media del Error Cuadrado	0.192372
Media de la Respuesta	-0.36493
Observaciones	16

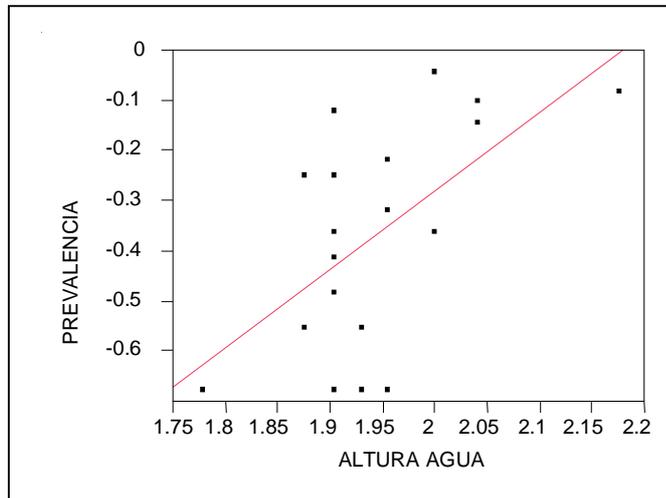
Análisis de Varianza

Fuente	GL	Suma de Cuadrados	Cuadrado medio	F _o	Valor-p
Modelo	1	0.31731806	0.317318	8.5745	0.0110
Error	14	0.51809993	0.037007		
Total	15	0.83541799			

Parámetros Estimados

Parámetro	Estimación	Error estándar	Estadístico	Valor-p
Intercepción	-2.867369	0.855943	-3.35	0.0048
T QUINCENAL	0.168333	0.057486	2.93	0.0110

C.2. Regresión lineal de Prevalencia vs. Profundidad del Agua poza.



Ajuste Linear

$$\text{PREVALENCIA} = -3.408033 + 1.5636435 \cdot \text{ALTURA AGUA}$$

Resumen del ajuste

R Cuadrado	0.350882
R Cuadrado Ajustado	0.312699
Raíz Media del Error Cuadrado	0.183747
Media de la Respuesta	-0.36903
Observaciones	19

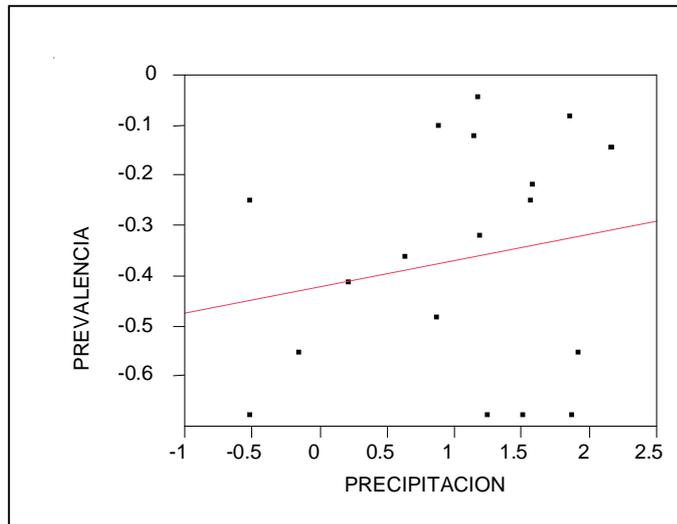
Análisis de Varianza

Fuente	GL	Suma de Cuadrados	Cuadrado medio	F _o	Valor-p
Modelo	1	0.31026228	0.310262	9.1894	0.0075
Error	17	0.57397294	0.033763		
Total	18	0.88423522			

Parámetros Estimados

Parámetro	Estimación	Error estándar	Estadístico	Valor-p
Intercepción	-3.408033	1.003394	-3.40	0.0034
ALTURA AGUA	1.5636435	0.515816	3.03	

C.3. Regresión lineal de Prevalencia vs. Precipitación poza.



Ajuste Linear

$$\text{PREVALENCIA} = -0.423383 + 0.0524236 \cdot \text{PRECIPITACION}$$

Resumen del ajuste

R Cuadrado	0.03566
R Cuadrado Ajustado	-0.02461
Raíz Media del Error Cuadrado	0.230852
Media de la Respuesta	-0.36927
Observaciones	18

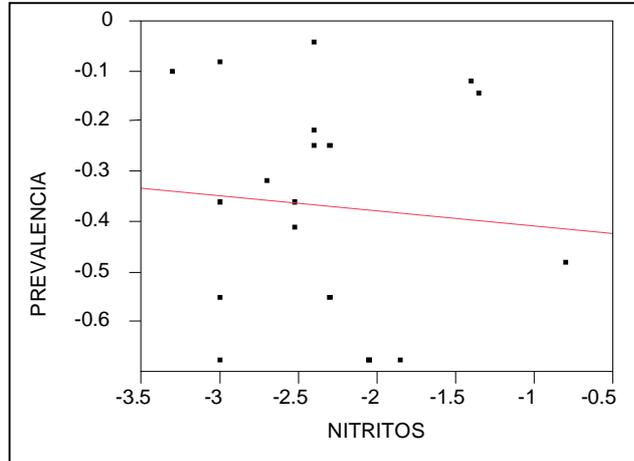
Análisis de Varianza

Fuente	GL	Suma de Cuadrados	Cuadrado medio	F _o	Valor-p
Modelo	1	0.03153099	0.031531	0.5917	0.4530
Error	16	0.85268412	0.053293		
Total	17	0.88421511			

Parámetros Estimados

Parámetro	Estimación	Error estándar	Estadístico	Valor-p
Intercepción	-0.423383	0.088935	-4.76	0.0002
PRECIPITACION	0.0524236	0.068154	0.77	0.4530

C.4. Regresión lineal de Prevalencia vs. Nitritos.



Ajuste Linear

$$\text{PREVALENCIA} = -0.438628 - 0.0298317 \cdot \text{NITRITOS}$$

Resumen del ajuste

R Cuadrado	0.00759
R Cuadrado Ajustado	-0.05079
Raíz Media del Error Cuadrado	0.227198
Media de la Respuesta	-0.36903
Observaciones	19

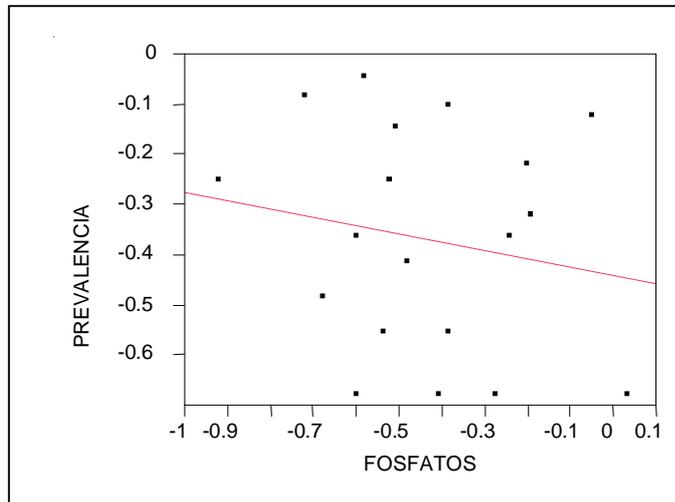
Análisis de Varianza

Fuente	GL	Suma de Cuadrados	Cuadrado medio	F _o	Valor-p
Modelo	1	0.00671152	0.006712	0.1300	0.7229
Error	17	0.87752369	0.051619		
Total	18	0.88423522			

Parámetros Estimados

Parámetro	Estimación	Error estándar	Estadístico	Valor-p
Intercepción	-0.438628	0.19993	-2.19	0.0424
NITRITOS	-0.029832	0.082732	-0.36	0.7229

C.5. Regresión lineal de Prevalencia vs. Fosfatos.



Ajuste Linear

$$\text{PREVALENCIA} = -0.441101 - 0.1654111 * \text{FOSFATOS}$$

Resumen del ajuste

R Cuadrado	0.031704
R Cuadrado Ajustado	-0.02525
Raíz Media del Error Cuadrado	0.224421
Media de la Respuesta	-0.36903
Observaciones	19

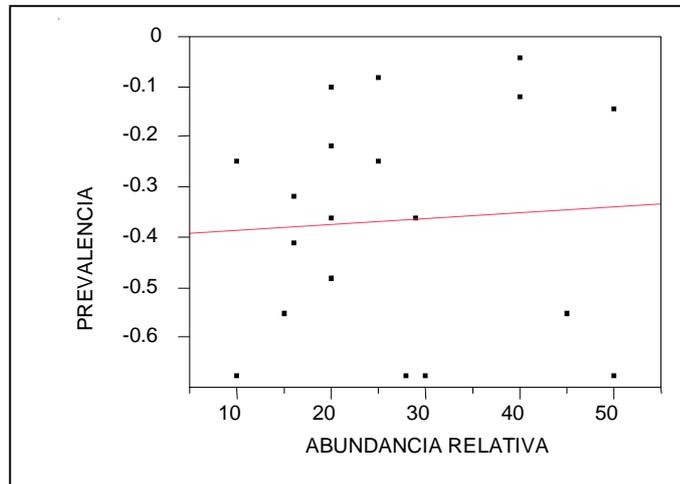
Análisis de Varianza

Fuente	GL	Suma de Cuadrados	Cuadrado medio	F _o	Valor-p
Modelo	1	0.02803358	0.028034	0.5566	0.4658
Error	17	0.85620164	0.050365		
Total	18	0.88423522			

Parámetros Estimados

Parámetro	Estimación	Error estándar	Estadístico	Valor-p
Intercepción	-0.441101	0.109466	-4.03	0.0009
FOSFATOS	-0.165411	0.221712	-0.75	0.4658

C.6. Regresión lineal de Prevalencia vs. Abundancia Relativa Poblacional.



Ajuste Linear

$$\text{PREVALENCIA} = -0.400083 + 0.0011592 \cdot \text{ABUNDANCIA RELATIVA}$$

Resumen del ajuste

R Cuadrado	0.004409
R Cuadrado Ajustado	-0.05416
Raíz Media del Error Cuadrado	0.227562
Media de la Respuesta	-0.36903
Observaciones	19

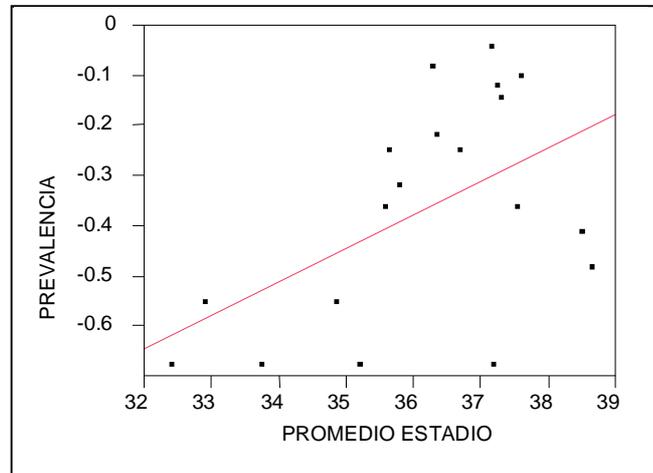
Análisis de Varianza

Fuente	GL	Suma de Cuadrados	Cuadrado medio	F _o	Valor-p
Modelo	1	0.00389825	0.003898	0.0753	0.7871
Error	17	0.88033697	0.051785		
Total	18	0.88423522			

Parámetros Estimados

Parámetro	Estimación	Error estándar	Estadístico	Valor-p
Intercepción	-0.400083	0.124642	-3.21	0.0051
ABUNDANCIA RELATIVA	0.0011592	0.004225	0.27	0.7871

C.7. Regresión lineal de Prevalencia vs. Promedio del Estadio del renacuajo.



Ajuste Linear

$$\text{PREVALENCIA} = -2.771536 + 0.0664739 \cdot \text{PROMEDIO ESTADIO}$$

Resumen del ajuste

R Cuadrado	0.272284
R Cuadrado Ajustado	0.229477
Raíz Media del Error Cuadrado	0.194554
Media de la Respuesta	-0.36903
Observaciones	19

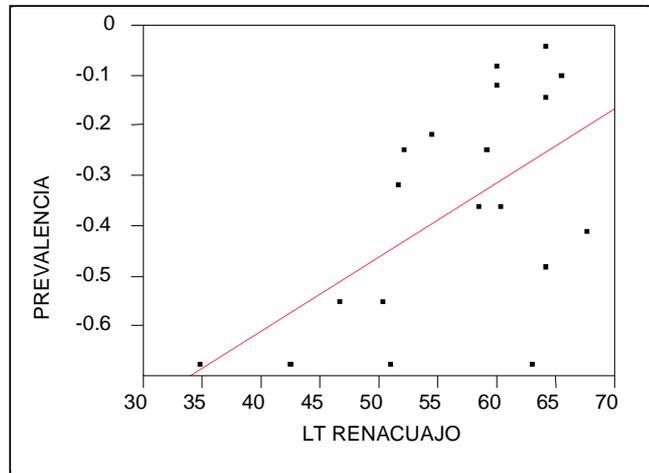
Análisis de Varianza

Fuente	GL	Suma de Cuadrados	Cuadrado medio	F _o	Valor-p
Modelo	1	0.24076285	0.240763	6.3608	0.0219
Error	17	0.64347237	0.037851		
Total	18	0.88423522			

Parámetros Estimados

Parámetro	Estimación	Error estándar	Estadístico	Valor-p
Intercepción	-2.771536	0.953644	-2.91	0.0098
PROMEDIO ESTADIO	0.0664739	0.026357	2.52	0.0219

C.8. Regresión lineal de Prevalencia vs. Promedio Largo Total del renacuajo.



Ajuste Linear

$$\text{PREVALENCIA} = -1.20618 + 0.0148582 \cdot \text{LT RENACUAJO}$$

Resumen del ajuste

R Cuadrado	0.33676
R Cuadrado Ajustado	0.297745
Raíz Media del Error Cuadrado	0.185736
Media de la Respuesta	-0.36903
Observaciones	19

Análisis de Varianza

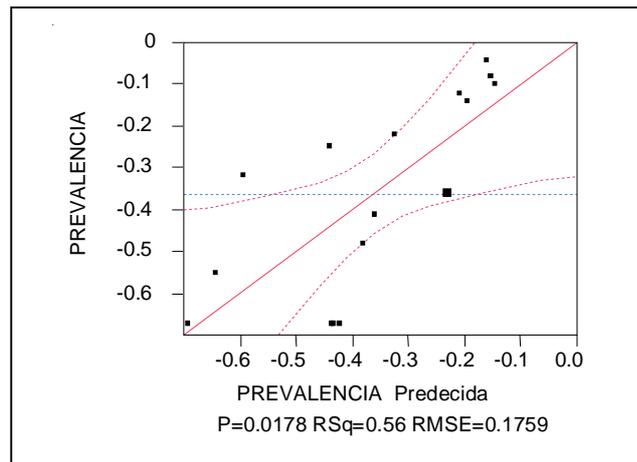
Fuente	GL	Suma de Cuadrados	Cuadrado medio	F _o	Valor-p
Modelo	1	0.29777471	0.297775	8.6317	0.0092
Error	17	0.58646051	0.034498		
Total	18	0.88423522			

Parámetros Estimados

Parámetro	Estimación	Error estándar	Estadístico	Valor-p
Intercepción	-1.20618	0.288109	-4.19	0.0006
LT RENACUAJO	0.0148582	0.005057	2.94	0.0092

Anexo D. REGRESIÓN MÚLTIPLE

Anexo D.1. Regresión múltiple de Prevalencia vs. Temperatura quincenal, Promedio Largo total del renacuajo y Promedio de Estadio del Renacuajo.



Resumen del ajuste

R Cuadrado	0.555614
R Cuadrado Ajustado	0.444517
Raíz Media del Error Cuadrado	0.17589
Media de la Respuesta	-0.36493
Observaciones	16

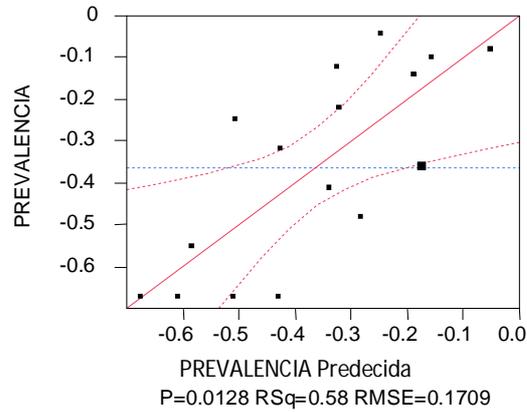
Análisis de Varianza

Fuente	GL	Suma de Cuadrados	Cuadrado medio	F _o	Valor-p
Modelo	3	0.46416977	0.154723	5.0012	0.0178
Error	12	0.37124822	0.030937		
Total	15	0.83541799			

Parámetros Estimados

Parámetro	Estimación	Error estándar	Estadístico	Valor-p
Intercepción	2.5333798	2.84113	0.89	0.3901
T QUINCENAL	0.1692718	0.07416	2.28	0.0415
LT RENACUAJO	0.0415716	0.01951	2.13	0.0545
PROMEDIO ESTADIO	-0.213502	0.114521	-1.86	0.0869

Anexo D.2. Regresión múltiple de Prevalencia vs. Temperatura quincenal, Promedio de Estadio del Renacuajo y Profundidad del agua de la poza.



Resumen del ajuste

R Cuadrado	0.580506
R Cuadrado Ajustado	0.475633
Raíz Media del Error Cuadrado	0.170893
Media de la Respuesta	-0.36493
Observaciones	16

Análisis de Varianza

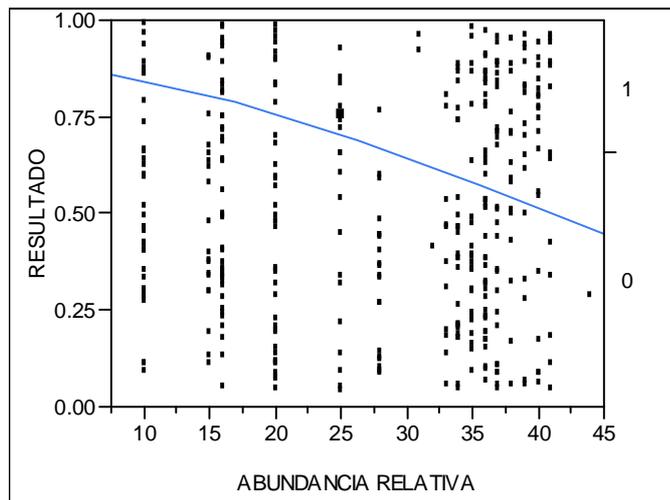
Fuente	GL	Suma de Cuadrados	Cuadrado medio	F _o	Valor-p
Modelo	3	0.48496523	0.161655	5.5353	0.0128
Error	12	0.35045276	0.029204		
Total	15	0.83541799			

Parámetros Estimados

Parámetro	Estimación	Error estándar	Estadístico	Valor-p
Intercepción	-5.206197	1.301821	-4.00	0.0018
T QUINCENAL	0.0548188	0.080917	0.68	0.5110
PROMEDIO ESTADIO	0.0403891	0.037787	1.07	0.3062
PROFUNDIDAD AGUA	1.3123699	0.55849	2.35	0.0367

Anexo E. REGRESIÓN LOGÍSTICA

E.1. Regresión Logística de Resultado vs. Abundancia Relativa.



Prueba del Modelo

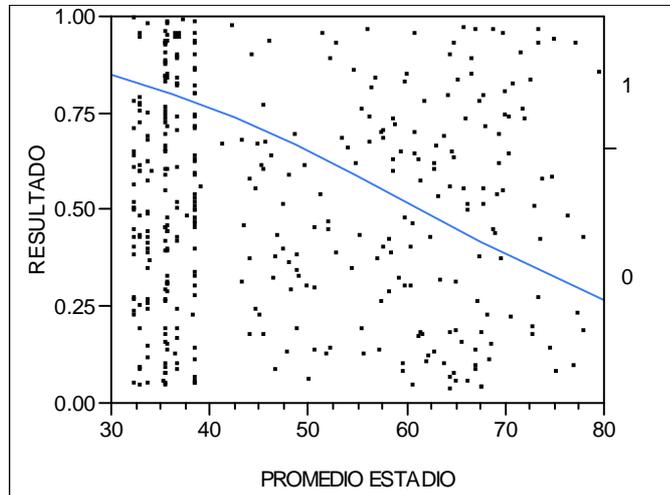
Fuente	-LogLikelihood	GL	Chi Cuadrado	Prob>Chi ²
Diferencia	11.94057	1	23.88115	<.0001
Completo	231.10462			
Reducido	243.04519			

Parámetros Estimados

Parámetro	Estimación	Error estándar	Chi Cuadrado	Prob>Chi ²
Intercepción	2.21750357	0.3634514	37.23	<.0001
ABUNDANCIA RELATIVA	-0.0541129	0.011607	21.73	<.0001

R ²	0.0491
Observaciones	379

E.2. Regresión Logística de Resultado vs. Promedio Estadio del Renacuajo.



Prueba del Modelo

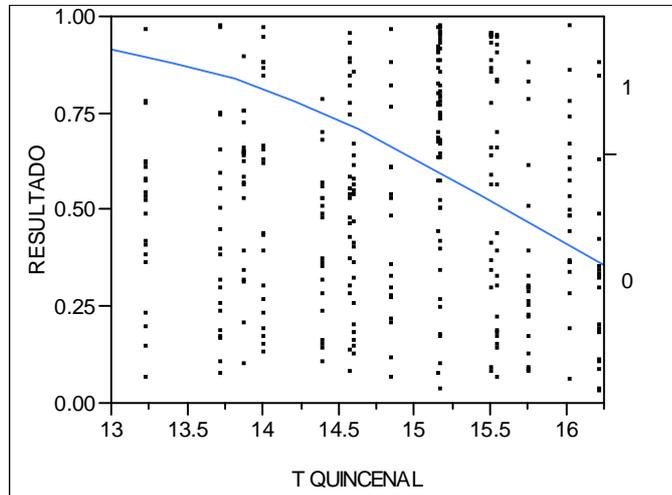
Fuente	-LogLikelihood	GL	Chi Cuadrado	Prob>Chi ²
Diferencia	24.00965	1	48.0193	<.0001
Completo	219.03554			
Reducido	243.04519			

Parámetros Estimados

Parámetro	Estimación	Error estándar	Chi Cuadrado	Prob>Chi ²
Intercepción	3.34536286	0.4301749	60.48	<.0001
PROMEDIO ESTADIO	-0.0543804	0.0081983	44.00	<.0001

R ²	0.0988
Observaciones	379

E.3. Regresión Logística de Resultado vs. Temperatura quincenal.



Prueba del Modelo

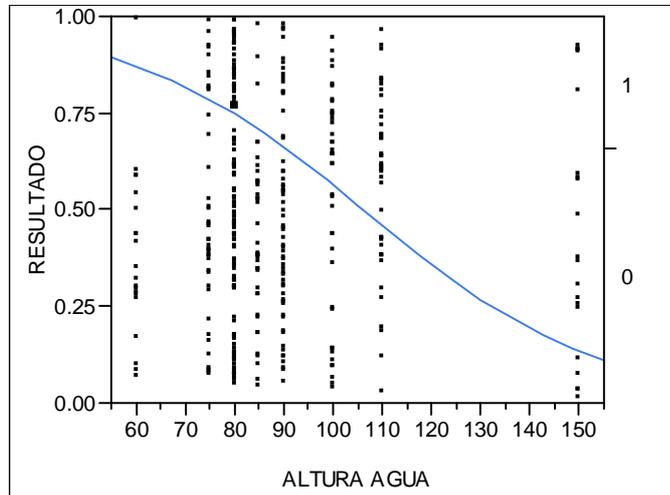
Fuente	-LogLikelihood	GL	Chi Cuadrado	Prob>Chi ²
Diferencia	17.98232	1	35.96464	<.0001
Completo	190.41129			
Reducido	208.39360			

Parámetros Estimados

Parámetro	Estimación	Error estándar	Chi Cuadrado	Prob>Chi ²
Intercepción	14.2040798	2.4635993	33.24	<.0001
TEMPERATURA QUINCENAL	-0.9099999	0.1635183	30.97	<.0001

R ²	0.0863
Observaciones	320

E.4. Regresión Logística de Resultado vs. Profundidad del agua.



Prueba del Modelo

Fuente	-LogLikelihood	GL	Chi Cuadrado	Prob>Chi ²
Diferencia	22.50019	1	45.00037	<.0001
Completo	220.54501			
Reducido	243.04519			

Parámetros Estimados

Parámetro	Estimación	Error estándar	Chi Cuadrado	Prob>Chi ²
Intercepción	4.4696102	0.6580431	46.14	<.0001
TEMPERATURA QUINCENAL	-0.0421392	0.0071915	34.33	<.0001

R ²	0.0926
Observaciones	379

Anexo F. ESTADIOS EN LA METAMORFOSIS DE UN RENACUAJO SEGÚN GOSNER (1960).

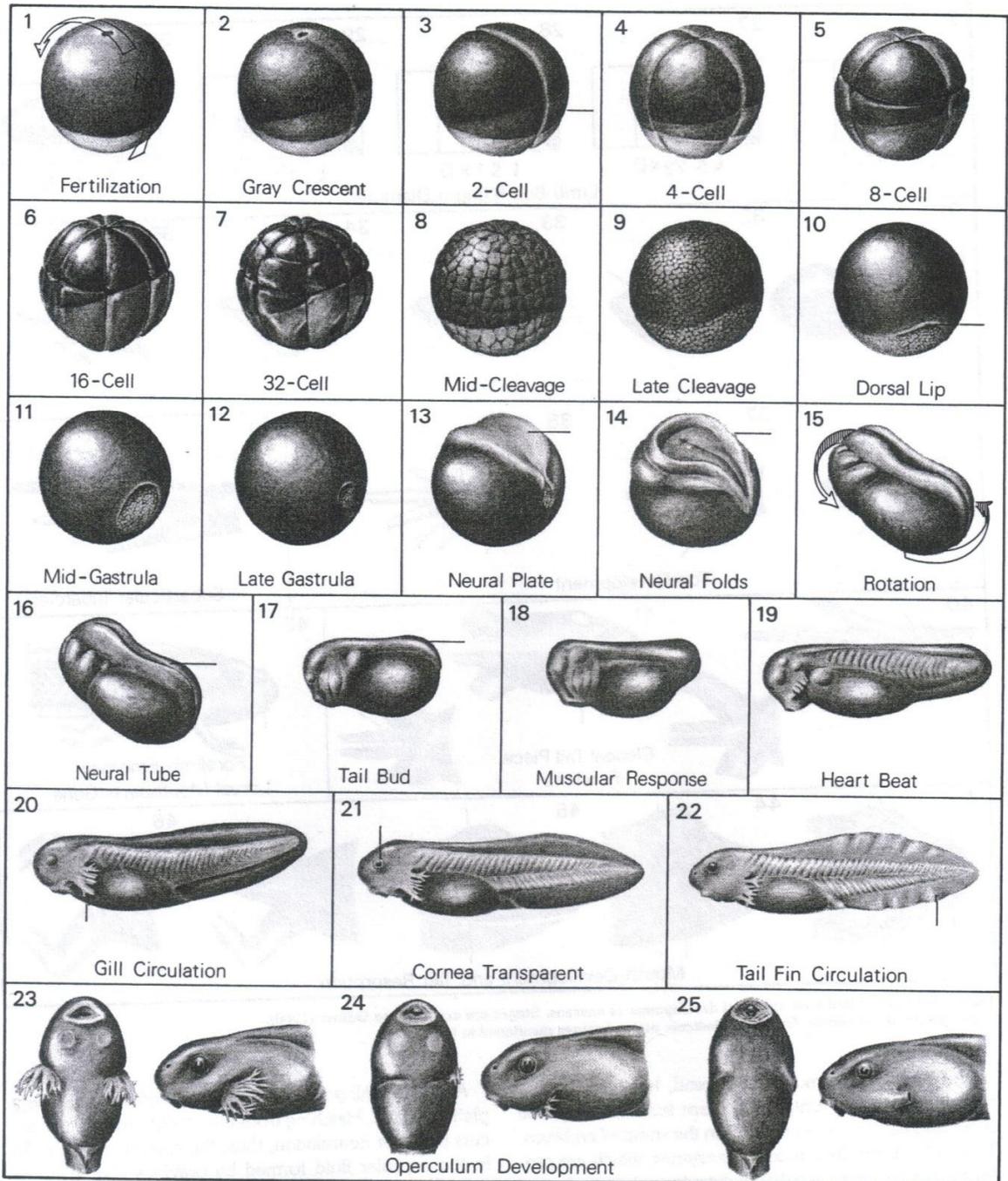


Figure 5-17. Standard early stages of development of anurans. Stages are according to Gosner (1960). Guidelines indicate major features mentioned in text.

Continua...

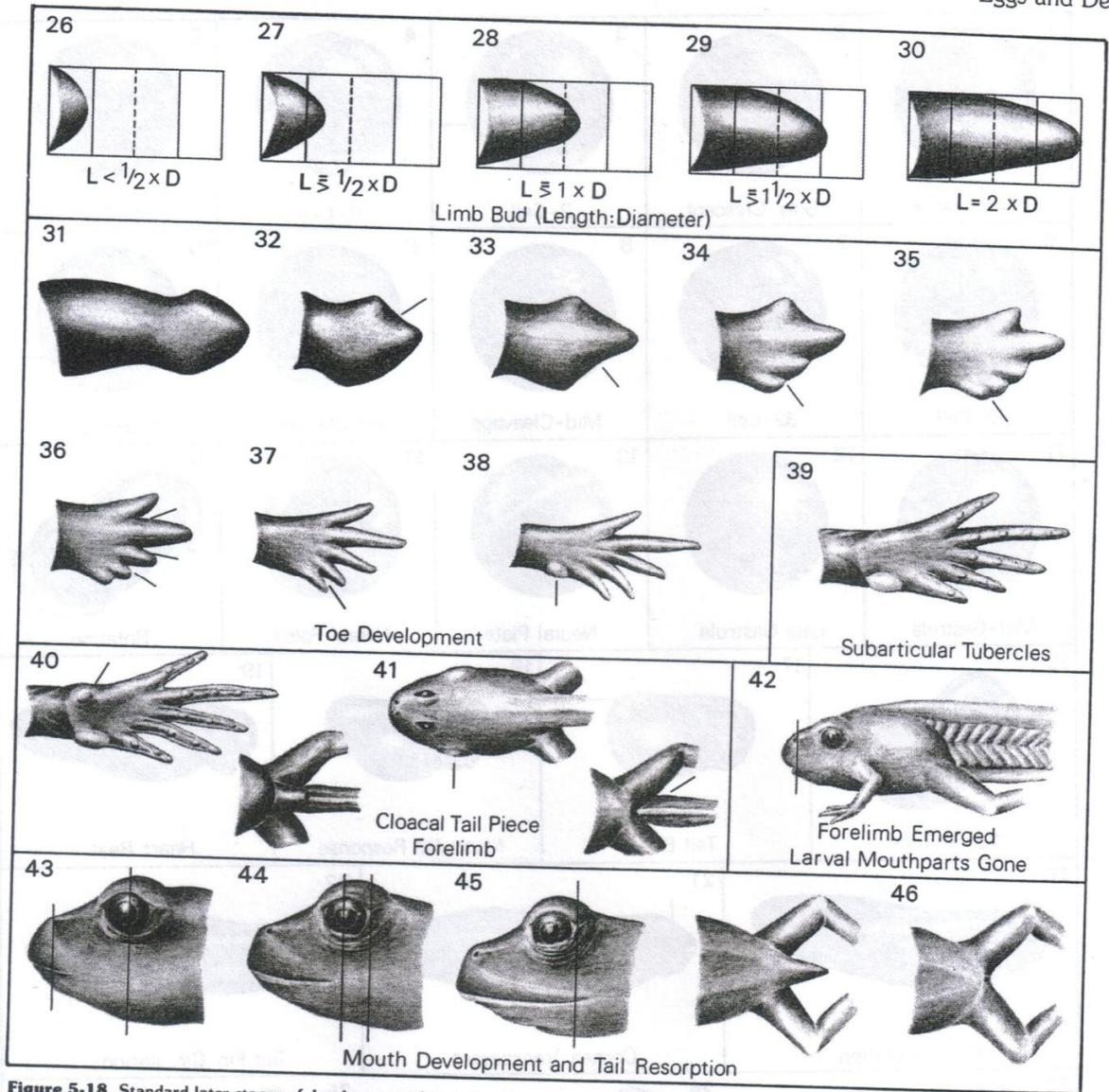


Figure 5-18. Standard later stages of development of anurans. Stages are according to Gosner (1960). Pigmentation is not shown. Guidelines indicate major features mentioned in text.

Anexo G. BASE DE DATOS COLECTADOS

# MUESTREO	MUESTRA	CODIGO	RENACUAJOS			LABORATORIO	
			ABUNDANCIA RELATIVA	ESTADIO	LT	RESULTADO	
1	1	1.1-8-01	20	30	39.73	0	Negativo
	2	1.1-8-02	20	31	46.24	0	Negativo
	3	1.1-8-03	20	33	63.63	0	Negativo
	4	1.1-8-04	20	34	60.3	1	Positivo
	5	1.1-8-05	20	32	51.06	1	Positivo
	6	1.1-8-06	20	38	64.24	0	Negativo
	7	1.1-8-07	20	31	47.46	0	Negativo
	8	1.1-8-08	20	34	50.11	0	Negativo
	9	1.1-8-09	20	31	49.03	0	Negativo
	10	1.1-8-10	20	34	49.9	1	Positivo
	11	1.1-8-11	20	40	60.78	0	Negativo
	12	1.1-8-12	20	35	56.52	1	Positivo
	13	1.1-8-13	20	33	48.98	0	Negativo
	14	1.1-8-14	20	33	55.08	0	Negativo
	15	1.1-8-15	20	33	58.06	0	Negativo
	16	1.1-8-16	20	34	60.81	0	Negativo

# MUESTREO	MUESTRA	CODIGO	RENACUAJOS			LABORATORIO	
			ABUNDANCIA RELATIVA	ESTADIO	LT	RESULTADO	
	17	1.1-8-17	20	34	53.8	0	Negativo
	18	1.1-8-18	20	34	53.21	0	Negativo
	19	1.1-8-19	20	33	51.91	1	Positivo
	20	1.1-8-20	20	43	65.91	0	Negativo
2	21	2-24-01	25	35	51.09	0	Negativo
	22	2-24-02	25	36	54.37	1	Positivo
	23	2-24-03	25	37	56.96	0	Negativo
	24	2-24-04	25	39	74.28	0	Negativo
	25	2-24-05	25	40	58.79	1	Positivo
	26	2-24-06	25	37	60.54	0	Negativo
	27	2-24-07	25	37	54.88	0	Negativo
	28	2-24-08	25	36	52.51	0	Negativo
	29	2-24-09	25	35	50.82	1	Positivo
	30	2-24-10	25	35	59.09	0	Negativo
	31	2-24-11	25	36	59.12	0	Negativo
	32	2-24-12	25	36	59.89	1	Positivo
	33	2-24-13	25	34	45.56	1	Positivo
	34	2-24-14	25	34	45.32	0	Negativo
	35	2-24-15	25	38	66.47	1	Positivo

			RENACUAJOS			LABORATORIO	
# MUESTREO	MUESTRA	CODIGO	ABUNDANCIA RELATIVA	ESTADIO	LT	RESULTADO	
	36	2-24-16	25	36	64.42	0	Negativo
	37	2-24-17	25	36	60.02	1	Positivo
	38	2-24-18	25	40	75.11	1	Positivo
	39	2-24-19	25	37	61.76	0	Negativo
	40	2-24-20	25	40	72.9	0	Negativo
3	41	3.1-7-01	15	30	39.73	0	Negativo
	42	3.1-7-02	15	31	40.24	0	Negativo
	43	3.1-7-03	15	33	63.63	Positivo	Positivo
	44	3.1-7-04	15	34	60.3	1	Positivo
	45	3.1-7-05	15	32	51.06	0	Negativo
	46	3.1-7-06	15	38	64.24	0	Negativo
	47	3.1-7-07	15	31	47.46	0	Negativo
	48	3.1-7-08	15	34	50.11	0	Negativo
	49	3.1-7-09	15	31	49.03	1	Positivo
	50	3.1-7-10	15	34	49.9	0	Negativo
	51	3.1-7-11	15	40	60.78	0	Negativo
	52	3.1-7-12	15	35	56.52	0	Negativo
	53	3.1-7-13	15	33	48.98	0	Negativo
	54	3.1-7-14	15	33	55.08	0	Negativo

			RENACUAJOS			LABORATORIO	
# MUESTREO	MUESTRA	CODIGO	ABUNDANCIA RELATIVA	ESTADIO	LT	RESULTADO	
	55	3.1-7-15	15	33	58.06	0	Negativo
	56	3.1-7-16	15	34	60.81	0	Negativo
	57	3.1-7-17	15	34	53.8	0	Negativo
	58	3.1-7-18	15	29	32.21	0	Negativo
	59	3.1-7-19	15	29	31.18	0	Negativo
	60	3.1-7-20	15	30	34.73	0	Negativo
4	61	4-21-01	20	41	78.51	0	Negativo
	62	4-21-02	20	41	84.21	0	Negativo
	63	4-21-03	20	42	53.38	1	Positivo
	64	4-21-04	20	41	80.1	0	Negativo
	65	4-21-05	20	38	71.6	0	Negativo
	66	4-21-06	20	43	71.94	0	Negativo
	67	4-21-07	20	43	64.01	1	Positivo
	68	4-21-08	20	43	49.68	1	Positivo
	69	4-21-09	20	36	60.19	0	Negativo
	70	4-21-10	20	33	40.99	0	Negativo
	71	4-21-11	20	40	81.25	0	Negativo
	72	4-21-12	20	37	66.16	0	Negativo
	73	4-21-13	20	41	69.99	0	Negativo

			RENACUAJOS			LABORATORIO	
# MUESTREO	MUESTRA	CODIGO	ABUNDANCIA RELATIVA	ESTADIO	LT	RESULTADO	
	74	4-21-14	20	42	72.19	0	Negativo
	75	4-21-15	20	41	65.56	0	Negativo
	76	4-21-16	20	41	75.95	1	Positivo
	77	4-21-17	20	35	82.07	1	Positivo
	78	4-21-18	20	40	60.57	0	Negativo
	79	4-21-19	20	27	24.04	0	Negativo
	80	4-21-20	20	28	31.03	0	Negativo
5	81	5.1-5-01	16	34	55.04	0	Negativo
	82	5.1-5-02	16	33	52.71	0	Negativo
	83	5.1-5-03	16	40	75.78	1	Positivo
	84	5.1-5-04	16	35	54.31	0	Negativo
	85	5.1-5-05	16	40	67.92	0	Negativo
	86	5.1-5-06	16	40	69.72	0	Negativo
	87	5.1-5-07	16	40	77.91	1	Positivo
	88	5.1-5-08	16	34	54.94	0	Negativo
	89	5.1-5-09	16	39	63.52	0	Negativo
	90	5.1-5-10	16	41	69.95	0	Negativo
	91	5.1-5-11	16	40	68.58	0	Negativo
	92	5.1-5-12	16	40	73.66	0	Negativo

# MUESTREO	MUESTRA	CODIGO	RENACUAJOS			LABORATORIO	
			ABUNDANCIA RELATIVA	ESTADIO	LT	RESULTADO	
	93	5.1-5-13	16	43	64.58	0	Negativo
	94	5.1-5-14	16	44	68.83	0	Negativo
	95	5.1-5-15	16	39	78.18	0	Negativo
	96	5.1-5-16	16	40	79.48	0	Negativo
	97	5.1-5-17	16	40	79.95	1	Positivo
	98	5.1-5-18	16	40	83.53	1	Positivo
	99	5.1-5-19	16	36	63.98	0	Negativo
	100	5.1-5-20	16	32	51.45	0	Negativo
6	101	6-19-01	10	42	77.75	1	Positivo
	102	6-19-02	10	40	78.25	1	Positivo
	103	6-19-03	10	41	74.93	1	Positivo
	104	6-19-04	10	36	64.46	0	Negativo
	105	6-19-05	10	32	46.65	0	Negativo
	106	6-19-06	10	39	81	1	Positivo
	107	6-19-07	10	32	49.61	0	Negativo
	108	6-19-08	10	32	53.79	0	Negativo
	109	6-19-09	10	32	39.85	1	Positivo
	110	6-19-10	10	31	40.28	0	Negativo
	111	6-19-11	10	31	37.48	0	Negativo

# MUESTREO	MUESTRA	CODIGO	RENACUAJOS			LABORATORIO	
			ABUNDANCIA RELATIVA	ESTADIO	LT	RESULTADO	
	112	6-19-12	10	32	38.09	0	Negativo
	113	6-19-13	10	30	25.8	0	Negativo
	114	6-19-14	10	33	29.89	0	Negativo
	115	6-19-15	10	44	43.23	0	Negativo
	116	6-19-16	10	43	65.59	1	Positivo
	117	6-19-17	10	42	65.98	1	Positivo
	118	6-19-18	10	31	30.12	0	Negativo
	119	6-19-19	10	32	28.28	0	Negativo
	120	6-19-20	10	38	73.03	1	Positivo
	7	121	7.1-3-01	10	32	37.31	1
122		7.1-3-02	10	33	34.35	0	Negativo
123		7.1-3-03	10	31	35.91	0	Negativo
124		7.1-3-04	10	31	30.02	0	Negativo
125		7.1-3-05	10	32	34.27	0	Negativo
126		7.1-3-06	10	31	31.59	0	Negativo
127		7.1-3-07	10	33	35.24	0	Negativo
128		7.1-3-08	10	34	37.49	0	Negativo
129		7.1-3-09	10	32	33.6	0	Negativo
130		7.1-3-10	10	31	31.75	0	Negativo

# MUESTREO	MUESTRA	CODIGO	RENACUAJOS			LABORATORIO	
			ABUNDANCIA RELATIVA	ESTADIO	LT	RESULTADO	
	131	7.1-3-11	10	33	38.57	0	Negativo
	132	7.1-3-12	10	33	34.21	0	Negativo
	133	7.1-3-13	10	31	31.97	0	Negativo
	134	7.1-3-14	10	32	33.72	0	Negativo
	135	7.1-3-15	10	34	36.38	0	Negativo
	136	7.1-3-16	10	34	36.9	0	Negativo
	137	7.1-3-17	10	32	36.03	0	Negativo
	138	7.1-3-18	10	34	37.07	0	Negativo
	139	7.1-3-19	10	34	38.62	0	Negativo
	140	7.1-3-20	10	31	32.62	0	Negativo
8	141	8-21-01	16	39	64.72	1	Positivo
	142	8-21-02	16	36	52.42	0	Negativo
	143	8-21-03	16	34	43.85	1	Positivo
	144	8-21-04	16	34	52.12	0	Negativo
	145	8-21-05	16	36	53.87	0	Negativo
	146	8-21-06	16	37	54.53	0	Negativo
	147	8-21-07	16	34	46.91	0	Negativo
	148	8-21-08	16	33	48.02	0	Negativo
	149	8-21-09	16	34	53.57	0	Negativo

# MUESTREO	MUESTRA	CODIGO	RENACUAJOS			LABORATORIO	
			ABUNDANCIA RELATIVA	ESTADIO	LT	RESULTADO	
	150	8-21-10	16	33	37.84	0	Negativo
	151	8-21-11	16	32	33.03	0	Negativo
	152	8-21-12	16	31	32.45	0	Negativo
	153	8-21-13	16	31	36.29	0	Negativo
	154	8-21-14	16	32	29.27	0	Negativo
	155	8-21-15	16	40	79.78	0	Negativo
	156	8-21-16	16	33	30.15	1	Positivo
	157	8-21-17	16	41	79.65	1	Positivo
	158	8-21-18	16	42	68.78	1	Positivo
	159	8-21-19	16	42	65.62	0	Negativo
160	8-21-20	16	42	69.12	1	Positivo	
9	161	9.1-5-01	28	34	51.73	0	Negativo
	162	9.1-5-02	28	33	41.14	0	Negativo
	163	9.1-5-03	28	33	40.22	0	Negativo
	164	9.1-5-04	28	34	41.38	0	Negativo
	165	9.1-5-05	28	33	37.69	0	Negativo
	166	9.1-5-06	28	35	50.27	1	Positivo
	167	9.1-5-07	28	36	59.67	0	Negativo
	168	9.1-5-08	28	33	42.19	0	Negativo

			RENACUAJOS			LABORATORIO	
# MUESTREO	MUESTRA	CODIGO	ABUNDANCIA RELATIVA	ESTADIO	LT	RESULTADO	
	169	9.1-5-09	28	34	41.95	0	Negativo
	170	9.1-5-10	28	33	34.98	0	Negativo
	171	9.1-5-11	28	33	46.94	0	Negativo
	172	9.1-5-12	28	34	37.89	0	Negativo
	173	9.1-5-13	28	35	41.29	0	Negativo
	174	9.1-5-14	28	32	30.5	0	Negativo
	175	9.1-5-15	28	34	49.33	0	Negativo
	176	9.1-5-16	28	32	28.99	0	Negativo
	177	9.1-5-17	28	34	38.9	0	Negativo
	178	9.1-5-18	28	35	48.89	0	Negativo
	179	9.1-5-19	28	35	48.24	0	Negativo
180	9.1-5-20	28	33	37.74	0	Negativo	
10	181	10-21-01	34	30	45.51	0	Negativo
	182	10-21-02	36	30	45.24	0	Negativo
	183	10-21-03	33	30	35.53	0	Negativo
	184	10-21-04	34	30	50.64	0	Negativo
	185	10-21-05	33	30	41.41	0	Negativo
	186	10-21-06	33	30	39.26	0	Negativo
	187	10-21-07	37	30	60.76	0	Negativo

# MUESTREO	MUESTRA	CODIGO	RENACUAJOS			LABORATORIO	
			ABUNDANCIA RELATIVA	ESTADIO	LT	RESULTADO	
	188	10-21-08	37	30	59.71	0	Negativo
	189	10-21-09	37	30	60.84	1	Positivo
	190	10-21-10	37	30	59.83	0	Negativo
	191	10-21-11	35	30	44.99	0	Negativo
	192	10-21-12	37	30	65.13	0	Negativo
	193	10-21-13	35	30	49.95	0	Negativo
	194	10-21-14	36	30	46.48	0	Negativo
	195	10-21-15	32	30	34.18	0	Negativo
	196	10-21-16	38	30	67.43	0	Negativo
	197	10-21-17	33	30	43.27	0	Negativo
	198	10-21-18	34	30	47.5	0	Negativo
	199	10-21-19	34	30	48.91	0	Negativo
	200	10-21-20	39	30	73.48	0	Negativo
11	201	11.1-4-01	36	45	54.49	0	Negativo
	202	11.1-4-02	33	45	37.37	1	Positivo
	203	11.1-4-03	34	45	38.56	1	Positivo
	204	11.1-4-04	34	45	43.5	0	Negativo
	205	11.1-4-05	34	45	45.22	0	Negativo
	206	11.1-4-06	34	45	52.1	0	Negativo

# MUESTREO	MUESTRA	CODIGO	RENACUAJOS			LABORATORIO	
			ABUNDANCIA RELATIVA	ESTADIO	LT	RESULTADO	
	207	11.1-4-07	33	45	37.71	0	Negativo
	208	11.1-4-08	36	45	57.61	0	Negativo
	209	11.1-4-09	33	45	34	0	Negativo
	210	11.1-4-10	37	45	55.27	0	Negativo
	211	11.1-4-11	34	45	44.11	0	Negativo
	212	11.1-4-12	39	45	64.43	0	Negativo
	213	11.1-4-13	34	45	36.5	0	Negativo
	214	11.1-4-14	34	45	43.42	0	Negativo
	215	11.1-4-15	33	45	35.7	0	Negativo
	216	11.1-4-16	35	45	44.7	0	Negativo
	217	11.1-4-17	34	45	35.4	0	Negativo
	218	11.1-4-18	33	45	38.38	0	Negativo
	219	11.1-4-19	36	45	59.37	0	Negativo
220	11.1-4-20	41	45	75.12	0	Negativo	
12	221	12-16-01	38	50	67.7	0	Negativo
	222	12-16-02	34	50	77.4	0	Negativo
	223	12-16-03	36	50	69.65	0	Negativo
	224	12-16-04	41	50	78.05	0	Negativo
	225	12-16-05	37	50	65.64	0	Negativo

# MUESTREO	MUESTRA	CODIGO	RENACUAJOS			LABORATORIO	
			ABUNDANCIA RELATIVA	ESTADIO	LT	RESULTADO	
	226	12-16-06	41	50	65.92	1	Positivo
	227	12-16-07	37	50	67.7	0	Negativo
	228	12-16-08	37	50	61.54	0	Negativo
	229	12-16-09	39	50	61.63	0	Negativo
	230	12-16-10	37	50	63.85	0	Negativo
	231	12-16-11	36	50	62.46	0	Negativo
	232	12-16-12	35	50	47.49	0	Negativo
	233	12-16-13	36	50	58.29	0	Negativo
	234	12-16-14	34	50	68.44	0	Negativo
	235	12-16-15	38	50	64.43	0	Negativo
	236	12-16-16	40	50	67.65	0	Negativo
	237	12-16-17	35	50	51.34	0	Negativo
	238	12-16-18	34	50	44.67	0	Negativo
	239	12-16-19	35	50	49.12	0	Negativo
	240	12-16-20	44	50	67.04	0	Negativo
13	241	13-30-01	37	29	68.13	1	Positivo
	242	13-30-02	36	29	57.19	0	Negativo
	243	13-30-03	38	29	67.12	0	Negativo
	244	13-30-04	41	29	56.52	1	Positivo

# MUESTREO	MUESTRA	CODIGO	RENACUAJOS			LABORATORIO	
			ABUNDANCIA RELATIVA	ESTADIO	LT	RESULTADO	
	245	13-30-05	36	29	65.08	0	Negativo
	246	13-30-06	41	29	58.39	0	Negativo
	247	13-30-07	41	29	67.79	1	Positivo
	248	13-30-08	36	29	67.23	0	Negativo
	249	13-30-09	40	29	74.7	0	Negativo
	250	13-30-10	41	29	69.52	1	Positivo
	251	13-30-11	37	29	62.23	0	Negativo
	252	13-30-12	40	29	70.63	0	Negativo
	253	13-30-13	39	29	66.26	0	Negativo
	254	13-30-14	36	29	67.12	0	Negativo
	255	13-30-15	34	29	44.21	0	Negativo
	256	13-30-16	35	29	48.09	0	Negativo
	257	13-30-17	35	29	48.66	1	Positivo
	258	13-30-18	35	29	50.7	0	Negativo
	259	13-30-19	36	29	50.8	0	Negativo
	260	13-30-20	37	29	45.65	0	Negativo
	14	261	14.1-11-01	33	20	33.83	0
262		14.1-11-02	36	20	52.39	1	Positivo
263		14.1-11-03	36	20	46.91	0	Negativo

# MUESTREO	MUESTRA	CODIGO	RENACUAJOS			LABORATORIO	
			ABUNDANCIA RELATIVA	ESTADIO	LT	RESULTADO	
	264	14.1-11-04	35	20	44.11	0	Negativo
	265	14.1-11-05	35	20	48.85	0	Negativo
	266	14.1-11-06	36	20	49.01	0	Negativo
	267	14.1-11-07	36	20	48.35	0	Negativo
	268	14.1-11-08	38	20	68.57	0	Negativo
	269	14.1-11-09	38	20	60.9	1	Positivo
	270	14.1-11-10	37	20	64.71	1	Positivo
	271	14.1-11-11	37	20	57.75	1	Positivo
	272	14.1-11-12	35	20	46.75	0	Negativo
	273	14.1-11-13	41	20	71.73	1	Positivo
	274	14.1-11-14	35	20	45.48	1	Positivo
	275	14.1-11-15	39	20	64.92	0	Negativo
	276	14.1-11-16	36	20	56.3	1	Positivo
	277	14.1-11-17	36	20	55.66	0	Negativo
	278	14.1-11-18	35	20	47.89	0	Negativo
	279	14.1-11-19	37	20	64.51	1	Positivo
	280	14.1-11-20	36	20	62.88	1	Positivo
15	281	15.1-01-01	40	20	60.84	1	Positivo
	282	15.1-01-02	40	20	73.46	1	Positivo

# MUESTREO	MUESTRA	CODIGO	RENACUAJOS			LABORATORIO	
			ABUNDANCIA RELATIVA	ESTADIO	LT	RESULTADO	
	283	15.1-01-03	40	20	69.37	1	Positivo
	284	15.1-01-04	31	20	68.89	1	Positivo
	285	15.1-01-05	31	20	68.86	1	Positivo
	286	15.1-01-06	41	20	76.33	1	Positivo
	287	15.1-01-07	39	20	72.55	1	Positivo
	288	15.1-01-08	39	20	67.12	1	Positivo
	289	15.1-01-09	40	20	77.21	1	Positivo
	290	15.1-01-10	40	20	74.8	1	Positivo
	291	15.1-01-11	37	20	60.39	0	Negativo
	292	15.1-01-12	39	20	66.63	1	Positivo
	293	15.1-01-13	38	20	69.3	1	Positivo
	294	15.1-01-14	36	20	58.71	1	Positivo
	295	15.1-01-15	37	20	63.19	1	Positivo
	296	15.1-01-16	37	20	59.88	0	Negativo
	297	15.1-01-17	36	20	57.47	0	Negativo
	298	15.1-01-18	35	20	48.07	0	Negativo
	299	15.1-01-19	41	20	63.44	0	Negativo
	300	15.1-01-20	35	20	51.91	0	Negativo
16	301	16-13-01	36	40	50.02	0	Negativo

# MUESTREO	MUESTRA	CODIGO	RENACUAJOS			LABORATORIO	
			ABUNDANCIA RELATIVA	ESTADIO	LT	RESULTADO	
	302	16-13-02	36	40	56.34	1	Positivo
	303	16-13-03	38	40	61.36	0	Negativo
	304	16-13-04	36	40	52.2	0	Negativo
	305	16-13-05	34	40	42.31	1	Positivo
	306	16-13-06	40	40	69.1	1	Positivo
	307	16-13-07	40	40	67.91	1	Positivo
	308	16-13-08	36	40	55.53	0	Negativo
	309	16-13-09	39	40	67.88	1	Positivo
	310	16-13-10	40	40	70.1	1	Positivo
	311	16-13-11	37	40	61.27	1	Positivo
	312	16-13-12	37	40	61.93	1	Positivo
	313	16-13-13	38	40	63.07	1	Positivo
	314	16-13-14	34	40	46.8	0	Negativo
	315	16-13-15	34	40	44.27	1	Positivo
	316	16-13-16	39	40	69.93	1	Positivo
	317	16-13-17	37	40	64.3	1	Positivo
	318	16-13-18	40	40	73.52	1	Positivo
	319	16-13-19	37	40	60.59	0	Negativo
	320	16-13-20	37	40	62.94	0	Negativo

# MUESTREO	MUESTRA	CODIGO	RENACUAJOS			LABORATORIO	
			ABUNDANCIA RELATIVA	ESTADIO	LT	RESULTADO	
17	321	17-27-01	40	40	77.94	1	Positivo
	322	17-27-02	40	40	75.04	1	Positivo
	323	17-27-03	40	40	72.81	0	Negativo
	324	17-27-04	39	40	69.91	1	Positivo
	325	17-27-05	40	40	71.81	1	Positivo
	326	17-27-06	40	40	72.11	1	Positivo
	327	17-27-07	39	40	73.63	1	Positivo
	328	17-27-08	39	40	66.29	1	Positivo
	329	17-27-09	38	40	62.85	1	Positivo
	330	17-27-10	34	40	52.93	0	Negativo
	331	17-27-11	34	40	56.18	1	Positivo
	332	17-27-12	36	40	64.54	1	Positivo
	333	17-27-13	33	40	46.11	1	Positivo
	334	17-27-14	35	40	58.63	1	Positivo
	335	17-27-15	34	40	54.85	1	Positivo
	336	17-27-16	34	40	53.42	1	Positivo
	337	17-27-17	36	40	65.23	1	Positivo
	338	17-27-18	34	40	46.25	0	Negativo
	339	17-27-19	39	40	70.49	1	Positivo

			RENACUAJOS			LABORATORIO	
# MUESTREO	MUESTRA	CODIGO	ABUNDANCIA RELATIVA	ESTADIO	LT	RESULTADO	
	340	17-27-20	39	40	73.87	1	Positivo
18	341	18.1-10-01	34	50	57.45	1	Positivo
	342	18.1-10-02	41	50	69.97	1	Positivo
	343	18.1-10-03	35	50	58.92	1	Positivo
	344	18.1-10-04	41	50	77.02	0	Negativo
	345	18.1-10-05	36	50	68.15	0	Negativo
	346	18.1-10-06	36	50	66.66	1	Positivo
	347	18.1-10-07	36	50	62	0	Negativo
	348	18.1-10-08	36	50	64.51	0	Negativo
	349	18.1-10-09	35	50	57.38	0	Negativo
	350	18.1-10-10	40	50	72.91	0	Negativo
	351	18.1-10-11	38	50	70.92	1	Positivo
	352	18.1-10-12	40	50	70.52	1	Positivo
	353	18.1-10-13	38	50	73.08	1	Positivo
	354	18.1-10-14	37	50	57.67	1	Positivo
	355	18.1-10-15	36	50	59.69	0	Negativo
	356	18.1-10-16	41	50	63.87	1	Positivo
	357	18.1-10-17	38	50	54.73	1	Positivo
	358	18.1-10-18	36	50	60.45	0	Negativo

			RENACUAJOS			LABORATORIO	
# MUESTREO	MUESTRA	CODIGO	ABUNDANCIA RELATIVA	ESTADIO	LT	RESULTADO	
	359	18.1-10-19	36	50	61.56	1	Positivo
	360	18.1-10-20	36	50	55.56	1	Positivo
19	361	19-24-01	36	36.3	64.98	0	Negativo
	362	19-24-02	35	36.3	52.84	1	Positivo
	363	19-24-03	36	36.3	59.88	1	Positivo
	364	19-24-04	36	36.3	64.95	1	Positivo
	365	19-24-05	37	36.3	65.85	1	Positivo
	366	19-24-06	36	36.3	58.37	0	Negativo
	367	19-24-07	38	36.3	66.02	1	Positivo
	368	19-24-08	36	36.3	58.61	1	Positivo
	369	19-24-09	36	36.3	56.99	1	Positivo
	370	19-24-10	36	36.3	59.4	1	Positivo
	371	19-24-11	36	36.3	54.07	1	Positivo
	372	19-24-12	39	36.3	79.7	1	Positivo
	373	19-24-13	37	36.3	64.92	1	Positivo
	374	19-24-14	37	36.3	67.46	1	Positivo
	375	19-24-15	35	36.3	51.56	1	Positivo
376	19-24-16	34	36.3	52.34	0	Negativo	
377	19-24-17	35	36.3	49.79	0	Negativo	

			RENACUAJOS			LABORATORIO	
# MUESTREO	MUESTRA	CODIGO	ABUNDANCIA RELATIVA	ESTADIO	LT	RESULTADO	
	378	19-24-18	38	36.3	66.26	1	Positivo
	379	19-24-19	38	36.3	60.1	1	Positivo
	380	19-24-20	35	36.3	45.54	0	Negativo

Anexo H. INFORMES DE CALIDAD DE AGUA.

H.1. Informe muestreo 1 (8-Ago-09).



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE INGENIERÍA, CIENCIAS FÍSICAS Y MATEMÁTICA
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
DEPARTAMENTO DE PETRÓLEOS, ENERGÍA Y CONTAMINACIÓN



INFORME DE RESULTADOS AGUAS

Informe No: 10-01-01-A-2
Fecha: 2010-01-13

Referencia: OT: 10-01-01-A
Empresa: PARTICULAR
Atención: Srta. Andrea Manzano.
Dirección: Nabyek Valdivieso y Occidental
Tipo de ensayos: Análisis fisicoquímicos
Tipo de muestra: Agua
Identificación de la muestra: AGUA 10-21-02 (21-12-2009)
Muestreo realizado por: Cliente
Fecha de ingreso de muestra: 04-01-2010
Código de la muestra: OE-10-01-01-A-2
Fecha de realización de ensayos: 06-01-2010

DETERMINACION	UNIDADES	NORMA	RESULTADO
Nitratos	mg/l	APHA 4500 NO ₃ B	0,3
Nitritos	mg/l	APHA 4500 NO ₂ B	0,023
Fosfatos	mg/l	APHA 4500 PO ₄	0,28
pH ⁽¹⁾		APHA 4500 H B	5,86

Observaciones: (1) Incertidumbre asociada a la medida de pH, U= ±0,07unidades de pH (K=2)

Realizado Por: CEGL



ENSAYOS

No OAE LE 2C 06-010

Los ensayos marcados con (*) están incluidos en el alcance de la acreditación del OAE.

ADVERTENCIA: EL USUARIO DEBE EXIGIR EL ORIGINAL. EL DPEC NO SE RESPONSABILIZA POR DOCUMENTOS FOTOCOPIADOS.

Dirección: Francisco Viteri s/n y Gilberto Gato Sobral Teléfono: 2904794 / 2544631 ext. 104 Fax: 2529676 E-mail: dpec@fing.uce.edu.ec
QUITO - ECUADOR

MC2201-A01-4

Hoja 2 de 4

Revisado Por:

César A. Alvarado C.
Ing. César Alvarado
RESPONSABLE TÉCNICO



Aprobado Por:

Andrés De La Rosa
Ing. Andrés De La Rosa, MSc
DIRECTOR DEL DPEC

H.2. Informe muestreo 2 (24-Ago-09).



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE INGENIERÍA, CIENCIAS FÍSICAS Y MATEMÁTICA
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
DEPARTAMENTO DE PETRÓLEOS, ENERGÍA Y CONTAMINACIÓN



INFORME DE RESULTADOS AGUAS

Informe No: 10-01-01-A-4
Fecha: 2010-01-13

Referencia: OT: 10-01-01-A
Empresa: PARTICULAR
Atención: Srta. Andrea Manzano.
Dirección: Nabyek Valdivieso y Occidental
Tipo de ensayos: Análisis fisicoquímicos
Tipo de muestra: Agua
Identificación de la muestra: AGUA 11-04-02 (04-01-2010)
Muestreo realizado por: Cliente
Fecha de ingreso de muestra: 04-01-2010
Código de la muestra: OE-10-01-01-A-4
Fecha de realización de ensayos: 06-01-2010

DETERMINACION	UNIDADES	NORMA	RESULTADO
Nitratos	mg/l	APHA 4500 NO ₃ B	0,2
Nitritos	mg/l	APHA 4500 NO ₂ B	0,128
Fosfatos	mg/l	APHA 4500 PO ₄	0,43
pH ⁽¹⁾		APHA 4500 H B	6,80

Observaciones: (1) Incertidumbre asociada a la medida de pH, $U = \pm 0,07$ unidades de pH ($K=2$)

Realizado Por: CEGE



ENSAYOS

No OAE LE 2C 06-010

Los ensayos marcados con (*) están incluidos en el alcance de la acreditación del OAE.

ADVERTENCIA: EL USUARIO DEBE EXIGIR EL ORIGINAL. EL DPEC NO SE RESPONSABILIZA POR DOCUMENTOS FOTOCOPIADOS.

Revisado Por:

Ing. César Alvarado
RESPONSABLE TÉCNICO



Aprobado Por:

Ing. Andrés De La Rosa, MSc
DIRECTOR DEL DPEC

Dirección: Francisco Viteri s/n y Gilberto Gato Sobral Teléfono: 2904794 / 2544631 ext. 104 Fax: 2529676 E-mail: dpec@fing.uce.edu.ec
QUITO - ECUADOR

MC2201-A01-4

Hoja 4 de 4

H.3. Informe muestreo 3 (7-Sep-09).



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE INGENIERÍA, CIENCIAS, FÍSICA Y MATEMÁTICA
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
DEPARTAMENTO DE PETRÓLEOS, ENERGÍA Y CONTAMINACIÓN



INFORME DE RESULTADOS

Informe No: 09-09-08-A-1
Fecha: 2009-09-16

Referencia: OT: 09-09-08-A
Atención: Srta. Andrea Manzano
Empresa: PARTICULAR
Dirección: Nabyek Valdivieso y Occidental
Tipo de ensayos: Análisis fisicoquímicos
Tipo de muestra: Agua
Identificación de la muestra: Agua de pozo (10-09-2009)
Muestreo realizado por: Cliente
Fecha de ingreso de muestra: 10-09-2009
Código de la muestra: OE-09-09-08-A-1
Fecha de realización de ensayos: 10-09-2009

DETERMINACION	UNIDADES	NORMA	RESULTADO
Nitratos	mg/l	APHA 4500 NO ₃ -B	0,23
Nitritos	mg/l	APHA 4500 NO ₂ -B	0,049
Fosfato P-P04	mg/l	APHA 4500 -PC	0,26
pH ⁽¹⁾		SM 4500-H ⁺ B	6,07

Realizado Por: cegl

Revisado Por:

Ing. César Alvarado
Responsable Técnico



Aprobado Por:

Ing. Repán Criollo R., MSc.
DIRECTOR DEL DPEC

INFORMACIÓN: LOS RESULTADOS DE ESTE INFORME SE APLICAN SOLO A LAS MUESTRAS QUE EL CLIENTE HA ENTREGADO AL DPEC.
ADVERTENCIA: EL USUARIO DEBE EXIGIR EL ORIGINAL. EL DPEC NO SE RESPONSABILIZA POR DOCUMENTOS FOTOCOPIADOS.

Dirección: Francisco Viteri s/n y Gilberto Gato Sobral Teléfono: 2904794 / 2544631 ext. 104 Fax: 2529676 E-mail: dpec@fing.uce.edu.ec
QUITO - ECUADOR

MC2201-A01-3

Hoja 1 de 1

H.4. Informe muestreo 4 (21-Sep-09).



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE INGENIERÍA, CIENCIAS, FÍSICA Y MATEMÁTICA
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
 DEPARTAMENTO DE PETRÓLEOS, ENERGÍA Y CONTAMINACIÓN



INFORME DE RESULTADOS

Informe No: 09-09-23-A-1
Fecha: 2009-09-29

Referencia:	OT: 09-09-23-A
Atención:	Srta. Andrea Manzano
Empresa:	PARTICULAR
Dirección:	Nabyek Valdivieso y Occidental
Tipo de ensayos:	Análisis fisicoquímicos
Tipo de muestra:	Agua
Identificación de la muestra:	Agua de pozo (22-09-2009)
Muestreo realizado por:	Cliente
Fecha de ingreso de muestra:	23-09-2009
Código de la muestra:	OE-09-09-23-A-1
Fecha de realización de ensayos:	24-09-2009

DETERMINACION	UNIDADES	NORMA	RESULTADO
Nitratos	mg/l	APHA 4500 NO ₃ -B	< 0,2
Nitritos	mg/l	APHA 4500 NO ₂ -B	0,16
Fosfato P-P04	mg/l	APHA 4500 -PC	0,21
pH ⁽¹⁾		SM 4500-H ⁺ B	6,58

Observaciones: (1) Incertidumbre asociada a la medida de pH, U= ±0.07unidades de pH (K=2)

Realizado Por: cegl



ENSAYOS
 No OAE LE 2C 06-010

Los ensayos marcados con (*) están incluidos en el alcance de la acreditación del OAE.

INFORMACIÓN: LOS RESULTADOS DE ESTE INFORME SE APLICAN SOLO A LAS MUESTRAS QUE EL CLIENTE HA ENTREGADO AL DPEC.
 ADVERTENCIA: EL USUARIO DEBE EXIGIR EL ORIGINAL. EL DPEC NO SE RESPONSABILIZA POR DOCUMENTOS FOTOCOPIADOS.

Revisado Por:

César A. Alvarado C.

Ing. César Alvarado
 Responsable Técnico



Aprobado Por:

Renán Criollo R.
 Ing. Renán Criollo R., MSc
 DIRECTOR DEL DPEC

Dirección: Francisco Viteri s/n y Gilberto Gato Sobral Teléfono: 2904794 / 2544631 ext. 104 Fax: 2529676 E-mail: dpec@fing.uce.edu.ec
 QUITO - ECUADOR

MC2201-A01-3

Hoja 1 de 1

H.5. Informe muestreo 5 (5-Oct-09).



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE INGENIERÍA, CIENCIAS FÍSICAS Y MATEMÁTICA
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
 DEPARTAMENTO DE PETRÓLEOS, ENERGÍA Y CONTAMINACIÓN



INFORME DE RESULTADOS

Informe No: 09-10-10-A-1
Fecha: 2009-10-14

Referencia:	OT: 09-10-10-A
Atención:	Srta. Andrea Manzano
Empresa:	PARTICULAR
Dirección:	Nabyek Valdivieso y Occidental
Tipo de ensayos:	Análisis fisicoquímicos
Tipo de muestra:	Agua
Identificación de la muestra:	Agua de Pozo (05-10-2009)
Muestreo realizado por:	Cliente
Fecha de ingreso de muestra:	21-09-2009
Código de la muestra:	OE-09-10-10-A-1
Fecha de realización de ensayos:	12/10/2009
Observaciones:	Muestra en envase plástico con tapa rosca azul.

DETERMINACION	UNIDADES	NORMA	RESULTADO
Nitratos	mg/l	APHA 4500 NO ₃ -B	0,1
Nitritos	mg/l	APHA 4500 NO ₂ -B	0,003
Fosfato P-P04	mg/l	APHA 4500 -PC	0,33
pH ⁽¹⁾		PNE/DPEC/A/SM 4500-H* B	6,29

Observaciones: (1) Incertidumbre asociada a la medida de pH, U= ±0,07unidades de pH (K=2)

Realizado Por: cegi



ENSAYOS
 No OAE LE 2C 06-010

Los ensayos marcados con (*) están incluidos en el alcance de la acreditación del OAE.

INFORMACIÓN: LOS RESULTADOS DE ESTE INFORME SE APLICAN SOLO A LAS MUESTRAS QUE EL CLIENTE HA ENTREGADO AL DPEC.
 ADVERTENCIA: EL USUARIO DEBE EXIGIR EL ORIGINAL. EL DPEC NO SE RESPONSABILIZA POR DOCUMENTOS FOTOCOPIADOS.

Dirección: Francisco Viten s/n y Gilberto Gato Sobral Teléfono: 2904794 / 2544631 ext. 104 Fax: 2529676 E-mail: dpec@fing.uce.edu.ec
 QUITO - ECUADOR

MC2201-A01-3

Revisado Por:

César A. Alvarado C.
 Ing. César Alvarado
 Responsable Técnico



Aprobado Por:

Renán Criollo R., MSc.
 DIRECTOR DEL DPEC

Hoja 1 de 1

XLV

H.6. Informe muestreo 6 (19-Oct-09).



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE INGENIERÍA, CIENCIAS FÍSICAS Y MATEMÁTICA
 ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
 DEPARTAMENTO DE PETRÓLEOS, ENERGÍA Y CONTAMINACIÓN



INFORME DE RESULTADOS
AGUAS

Informe No: 09-10-25-A-1
Fecha: 2009-11-06

Referencia:	OT: 09-10-25-A
Atención:	Srta. Andrea Manzano
Empresa:	PARTICULAR
Dirección:	Nabyek Valdivieso y Occidental
Tipo de ensayos:	Análisis fisicoquímicos
Tipo de muestra:	Agua
Identificación de la muestra:	Agua de pozo (19-10-2009)
Muestreo realizado por:	Cliente
Fecha de ingreso de muestra:	21-10-2009
Código de la muestra:	OE-09-10-25-A-1
Fecha de realización de ensayos:	21-10-2009/22-10-2009

DETERMINACION	UNIDADES	NORMA	RESULTADO
Nitratos	mg/l	APHA 4500 NO ₃ -B	0,1
Nitritos	mg/l	APHA 4500 NO ₂ -B	0,005
Fosfato P-P04	mg/l	APHA 4500 -PC	0,12
pH ⁽¹⁾		SM 4500-H ⁺ B	5,65

Observaciones: (1) Incertidumbre asociada a la medida de pH, U= ±0.07 unidades de pH (K=2)

Realizado Por: cegl



ENSAYOS

No OAE LE 2C 06-010

Los ensayos marcados con (*) están incluidos en el alcance de la acreditación del OAE.

INFORMACIÓN: LOS RESULTADOS DE ESTE INFORME SE APLICAN SOLO A LAS MUESTRAS QUE EL CLIENTE HA ENTREGADO AL DPEC.
 ADVERTENCIA: EL USUARIO DEBE EXIGIR EL ORIGINAL. EL DPEC NO SE RESPONSABILIZA POR DOCUMENTOS FOTOCOPIADOS.

Revisado Por:

César A. Alvarado C.
 Ing. César Alvarado
 Responsable Técnico



Aprobado Por:

[Firma]
 Ing. Renán Chollo R., MSc
 DIRECTOR DEL DPEC

Dirección: Francisco Viteri s/n y Gilberto Gato Sobral Teléfono: 2904794 / 2544631 ext. 104 Fax: 2529676 E-mail: dpec@fing.uce.edu.ec
 QUITO - ECUADOR

H.7. Informe muestreo 7 (3-Nov-09).



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE INGENIERÍA, CIENCIAS FÍSICAS Y MATEMÁTICA
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
DEPARTAMENTO DE PETRÓLEOS, ENERGÍA Y CONTAMINACIÓN



INFORME DE RESULTADOS
AGUAS

Informe No: 09-11-25-A-1
Fecha: 2009-11-25

Referencia: OT: 09-11-25-A
Empresa: PARTICULAR
Atención: Srta. Andrea Manzano.
Dirección: Nabyek Valdivieso y Occidental
Tipo de ensayos: Análisis fisicoquímicos
Tipo de muestra: Agua
Identificación de la muestra: AGUA POZA Nº 1 (7.1-3-AG 1) (3-11-2009)
Muestreo realizado por: Cliente
Fecha de ingreso de muestra: 25-11-2009
Código de la muestra: OE-09-11-25-A-1
Fecha de realización de ensayos: 25-11-2009/26-11-2009
Observaciones: Ninguna

DETERMINACION	UNIDADES	NORMA	RESULTADO
Nitratos	mg/l	APHA 4500 NO ₃ B	0,1
Nitritos	mg/l	APHA 4500 NO ₂ B	0,009
Fosfatos	mg/l	APHA 4500 PO ₄	0,39
pH ⁽¹⁾		APHA 4500 H B	5,62

Observaciones: (1) Incertidumbre asociada a la medida de pH, U= ±0,07unidades de pH (K=2)

Realizado Por: cegl

Revisado Por:

Ing. César Alvarado
Responsable Técnico



Aprobado Por:

Ing. Andrés De La Rosa, MSc
DIRECTOR DEL DPEC

INFORMACIÓN: LOS RESULTADOS DE ESTE INFORME SE APLICAN SOLO A LAS MUESTRAS QUE EL CLIENTE HA ENTREGADO AL DPEC.
ADVERTENCIA: EL USUARIO DEBE EXIGIR EL ORIGINAL. EL DPEC NO SE RESPONSABILIZA POR DOCUMENTOS FOTOCOPIADOS.

Dirección: Francisco Viteri s/n y Gilberto Gato Sobral Teléfono: 2904794 / 2544631 ext. 104 Fax: 2529676 E-mail: dpec@fing.uce.edu.ec
QUITO - ECUADOR

H.8. Informe muestreo 8 (21-Nov-09).



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE INGENIERÍA, CIENCIAS FÍSICAS Y MATEMÁTICA
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
DEPARTAMENTO DE PETRÓLEOS, ENERGÍA Y CONTAMINACIÓN



INFORME DE RESULTADOS AGUAS

Informe No: 09-11-25-A-3
Fecha: 2009-11-25

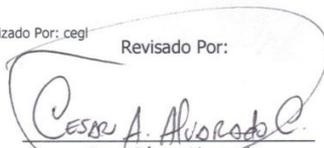
Referencia: OT: 09-11-25-A
Empresa: PARTICULAR
Atención: Srta. Andrea Manzano.
Dirección: Nabyek Valdivieso y Occidental
Tipo de ensayos: Análisis fisicoquímicos
Tipo de muestra: Agua
Identificación de la muestra: AGUA POZA Nº 1 (8.1-21-AG 1) (21-11-2009)
Muestreo realizado por: Cliente
Fecha de ingreso de muestra: 25-11-2009
Código de la muestra: OE-09-11-25-A-3
Fecha de realización de ensayos: 25-11-2009/26-11-2009
Observaciones: Ninguna

DETERMINACION	UNIDADES	NORMA	RESULTADO
Nitratos	mg/l	APHA 4500 NO ₃ B	< 0,1
Nitritos	mg/l	APHA 4500 NO ₂ B	0,002
Fosfatos	mg/l	APHA 4500 PO ₄	0,64
pH ⁽¹⁾		APHA 4500 H B	5,65

Observaciones: (1) Incertidumbre asociada a la medida de pH, U= ±0,07unidades de pH (K=2)

Realizado Por: cegi

Revisado Por:


Ing. César Alvarado
Responsable Técnico



Aprobado Por:



Ing. Andrés De La Rosa, MSc
DIRECTOR DEL DPEC

INFORMACIÓN: LOS RESULTADOS DE ESTE INFORME SE APLICAN SOLO A LAS MUESTRAS QUE EL CLIENTE HA ENTREGADO AL DPEC.
ADVERTENCIA: EL USUARIO DEBE EXIGIR EL ORIGINAL. EL DPEC NO SE RESPONSABILIZA POR DOCUMENTOS FOTOCOPIADOS.

Dirección: Francisco Viteri s/n y Gilberto Gato Sobral Teléfono: 2904794 / 2544631 ext. 104 Fax: 2529676 E-mail: dpec@fing.uce.edu.ec
QUITO - ECUADOR

H.9. Informe muestreo 9 (5-Dic-09).



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE INGENIERÍA, CIENCIAS FÍSICAS Y MATEMÁTICA
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
DEPARTAMENTO DE PETRÓLEOS, ENERGÍA Y CONTAMINACIÓN



INFORME DE RESULTADOS
AGUAS

Informe No: 09-12-04-A-1
Fecha: 2009-12-23

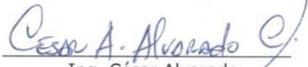
Referencia: OT: 09-12-04-A
Empresa: PARTICULAR
Atención: Srta. Andrea Manzano.
Dirección: Nabyek Valdivieso y Occidental
Tipo de ensayos: Análisis fisicoquímicos
Tipo de muestra: Agua
Identificación de la muestra: AGUA POZA N°1 9.1-5-01 (05-12-2009)
Muestreo realizado por: Cliente
Fecha de ingreso de muestra: 10-12-2009
Código de la muestra: OE-09-12-04-A-1
Fecha de realización de ensayos: 10-12-2009/11-12-2009
Observaciones: Ninguna

DETERMINACION	UNIDADES	NORMA	RESULTADO
Nitratos	mg/l	APHA 4500 NO ₃ B	0,1
Nitritos	mg/l	APHA 4500 NO ₂ B	0,014
Fosfatos	mg/l	APHA 4500 PO ₄	1,07
pH*(1)	---	APHA 4500 H B	6,63

Observaciones: (1) Incertidumbre asociada a la medida de pH, $U = \pm 0,07$ unidades de pH ($K=2$)

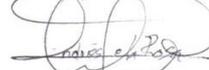
Realizado Por: cegl

Revisado Por:


Ing. César Alvarado
Responsable Técnico



Aprobado Por:



Ing. Andrés De La Rosa, MSc
DIRECTOR DEL DPEC

INFORMACIÓN: LOS RESULTADOS DE ESTE INFORME SE APLICAN SOLO A LAS MUESTRAS QUE EL CLIENTE HA ENTREGADO AL DPEC.
ADVERTENCIA: EL USUARIO DEBE EXIGIR EL ORIGINAL. EL DPEC NO SE RESPONSABILIZA POR DOCUMENTOS FOTOCOPIADOS.

Dirección: Francisco Viteri s/n y Gilberto Gato Sobral Teléfono: 2904794 / 2544631 ext. 104 Fax: 2529676 E-mail: dpec@ing.uce.edu.ec
QUITO - ECUADOR

H.10. Informe muestreo 10 (21-Dic-09).



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE INGENIERÍA, CIENCIAS FÍSICAS Y MATEMÁTICA
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
DEPARTAMENTO DE PETRÓLEOS, ENERGÍA Y CONTAMINACIÓN



INFORME DE RESULTADOS AGUAS

Informe No: 10-01-01-A-1
Fecha: 2010-01-13

Referencia: OT: 10-01-01-A
Empresa: PARTICULAR
Atención: Srta. Andrea Manzano.
Dirección: Nabyek Valdivieso y Occidental
Tipo de ensayos: Análisis fisicoquímicos
Tipo de muestra: Agua
Identificación de la muestra: AGUA 10-21-01 (21-12-2009)
Muestreo realizado por: Cliente
Fecha de ingreso de muestra: 04-01-2010
Código de la muestra: OE-10-01-01-A-1
Fecha de realización de ensayos: 06-01-2010

DETERMINACION	UNIDADES	NORMA	RESULTADO
Nitratos	mg/l	APHA 4500 NO ₃ B	0,1
Nitritos	mg/l	APHA 4500 NO ₂ B	0,009
Fosfatos	mg/l	APHA 4500 PO ₄	0,25
pH ⁽¹⁾		APHA 4500 H B	5,82

Observaciones: (1) Incertidumbre asociada a la medida de pH, $U = \pm 0,07$ unidades de pH ($K=2$)

Realizado Por: CEGL



ENSAYOS

No OAE LE 2C 06-010

Los ensayos marcados con (*) están incluidos en el alcance de la acreditación del OAE.

ADVERTENCIA: EL USUARIO DEBE EXIGIR EL ORIGINAL. EL DPEC NO SE RESPONSABILIZA POR DOCUMENTOS FOTOCOPIADOS.

Revisado Por:

Ing. César Alvarado
RESPONSABLE TÉCNICO



Aprobado Por:

Ing. Andrés De La Rosa., MSc
DIRECTOR DEL DPEC

Dirección: Francisco Viteri s/n y Gilberto Gato Sobral Teléfono: 2904794 / 2544631 ext. 104 Fax: 2529676 E-mail: dpec@fing.uce.edu.ec
QUITO - ECUADOR

H.11. Informe muestreo 11 (4-Ene-10).



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE INGENIERÍA, CIENCIAS FÍSICAS Y MATEMÁTICA
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
DEPARTAMENTO DE PETRÓLEOS, ENERGÍA Y CONTAMINACIÓN



INFORME DE RESULTADOS AGUAS

Informe No: 10-01-01-A-3
Fecha: 2010-01-13

Referencia: OT: 10-01-01-A
Empresa: PARTICULAR
Atención: Srta. Andrea Manzano.
Dirección: Nabyek Valdivieso y Occidental
Tipo de ensayos: Análisis fisicoquímicos
Tipo de muestra: Agua
Identificación de la muestra: AGUA 11-04-01 (04-01-2010)
Muestreo realizado por: Cliente
Fecha de ingreso de muestra: 04-01-2010
Código de la muestra: OE-10-01-01-A-3
Fecha de realización de ensayos: 06-01-2010

DETERMINACION	UNIDADES	NORMA	RESULTADO
Nitratos	mg/l	APHA 4500 NO ₃ B	0,2
Nitritos	mg/l	APHA 4500 NO ₂ B	0,001
Fosfatos	mg/l	APHA 4500 PO ₄	0,41
pH ⁽¹⁾		APHA 4500 H B	5,64

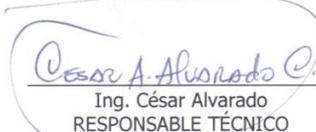
Observaciones: (1) Incertidumbre asociada a la medida de pH, $U = \pm 0,07$ unidades de pH ($K=2$)

Realizado Por: CEGL



ENSAYOS
No OAE LE 2C 06-010

Revisado Por:


Ing. César Alvarado
RESPONSABLE TÉCNICO



Aprobado Por:



Ing. Andrés De La Rosa, MSc
DIRECTOR DEL DPEC

Los ensayos marcados con (*) están incluidos en el alcance de la acreditación del OAE.
ADVERTENCIA: EL USUARIO DEBE EXIGIR EL ORIGINAL. EL DPEC NO SE RESPONSABILIZA POR DOCUMENTOS FOTOCOPIADOS.

Dirección: Francisco Viteri s/n y Gilberto Gato Sobral Teléfono: 2904794 / 2544631 ext. 104 Fax: 2529676 E-mail: dpec@fing.uce.edu.ec
QUITO - ECUADOR

H.12. Informe muestreo 12 (16-Ene-10).



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE INGENIERÍA, CIENCIAS FÍSICAS Y MATEMÁTICA
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
DEPARTAMENTO DE PETRÓLEOS, ENERGÍA Y CONTAMINACIÓN



INFORME DE RESULTADOS AGUAS

Informe No: 10-01-10-A-1
Fecha: 2010-02-03

Referencia: OT: 10-01-10-A
Empresa: PARTICULAR
Atención: Srta. Andrea Manzano.
Dirección: Nabyek Valdivieso y Occidental
Tipo de ensayos: Análisis fisicoquímicos
Tipo de muestra: Agua
Identificación de la muestra: AGUA 12.1-16-01 (16-01-2010)
Muestreo realizado por: Cliente
Fecha de ingreso de muestra: 18-01-2010
Código de la muestra: OE-10-01-10-A-1
Fecha de realización de ensayos: 20-01-2010

DETERMINACION	UNIDADES	NORMA	RESULTADO
Nitratos	mg/l	APHA 4500 NO ₃ B	< 0,1
Nitritos	mg/l	APHA 4500 NO ₂ B	0,001
Fosfatos	mg/l	APHA 4500 PO ₄	0,53
pH ^(*)		APHA 4500 H B	6,38

Observaciones: (1) Incertidumbre asociada a la medida de pH, $U = \pm 0,07$ unidades de pH (K=2)

Realizado Por: CEGL



ENSAYOS
No OAE LE 2C 06-010
Los ensayos marcados con (*) están incluidos en el alcance de la acreditación del OAE.

ADVERTENCIA: EL USUARIO DEBE EXIGIR EL ORIGINAL. EL DPEC NO SE RESPONSABILIZA POR DOCUMENTOS FOTOCOPIADOS.

Revisado Por:

Ing. César Alvarado
RESPONSABLE TÉCNICO

Aprobado Por:

Ing. Andrés De La Rosa, MSc
DIRECTOR DEL DPEC

Dirección: Francisco Viteri s/n y Gilberto Gato Sobral Teléfono: 2904794 / 2544631 ext. 104 Fax: 2529676 E-mail: dpec@fing.uce.edu.ec
QUITO - ECUADOR

H.13. Informe muestreo 13 (30-Ene-10).



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE INGENIERÍA, CIENCIAS FÍSICAS Y MATEMÁTICA
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
DEPARTAMENTO DE PETRÓLEOS, ENERGÍA Y CONTAMINACIÓN



INFORME DE RESULTADOS AGUAS

Informe No: 10-02-02-A-1
Fecha: 2010-02-22

Referencia: OT: 10-02-02-A
Empresa: PARTICULAR
Atención: Srta. Andrea Manzano.
Dirección: Nabyek Valdivieso y Occidental
Tipo de ensayos: Análisis fisicoquímicos
Tipo de muestra: Agua
Identificación de la muestra: AGUA 13-30-01 (30-01-2010)
Muestreo realizado por: Cliente
Fecha de ingreso de muestra: 01-02-2010
Código de la muestra: OE-10-02-02-A-1
Fecha de realización de ensayos: 01-02-2010/08-02-2010

DETERMINACION	UNIDADES	NORMA	RESULTADO
Nitratos	mg/l	APHA 4500 NO ₃ B	0,9
Nitritos	mg/l	APHA 4500 NO ₂ B	< 0,002
Fosfatos	mg/l	APHA 4500 PO ₄	0,57
pH ^{*(1)}		APHA 4500 H B	6,50

Observaciones: (1) Incertidumbre asociada a la medida de pH, U= ±0,07 unidades de pH (K=2)

Realizado Por: CEGL



ENSAYOS

No OAE LE 2C 06-010

Los ensayos marcados con (*) están incluidos en el alcance de la acreditación del OAE.

ADVERTENCIA: EL USUARIO DEBE EXIGIR EL ORIGINAL. EL DPEC NO SE RESPONSABILIZA POR DOCUMENTOS FOTOCOPIADOS.

Revisado Por:

César A. Alvarado
Ing. César Alvarado
RESPONSABLE TÉCNICO



Aprobado Por:

Andrés De La Rosa

Ing. Andrés De La Rosa., MSc
DIRECTOR DEL DPEC

Dirección: Francisco Viteri s/n y Gilberto Gato Sobral Teléfono: 2904794 / 2544631 ext. 104 Fax: 2529676 E-mail: dpec@fing.uce.edu.ec
QUITO - ECUADOR

H.14. Informe muestreo 14 (11-Feb-10).



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE INGENIERÍA, CIENCIAS FÍSICAS Y MATEMÁTICA
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
DEPARTAMENTO DE PETRÓLEOS, ENERGÍA Y CONTAMINACIÓN



INFORME DE RESULTADOS AGUAS

Informe No: 10-02-19-A-1
Fecha: 2010-02-22

Referencia: OT: 10-02-19-A
Empresa: PARTICULAR
Atención: Srta. Andrea Manzano.
Dirección: Nabyek Valdivieso y Occidental
Tipo de ensayos: Análisis fisicoquímicos
Tipo de muestra: Agua
Identificación de la muestra: AGUA RESIDUAL 08-02-2010
Muestreo realizado por: Cliente
Fecha de ingreso de muestra: 08-02-2010
Código de la muestra: OE-10-02-19-A-1
Fecha de realización de ensayos: 08-02-2010/12-02-2010

DETERMINACION	UNIDADES	NORMA	RESULTADO
Nitratos	mg/l	APHA 4500 NO ₃ B	< 0,1
Nitritos	mg/l	APHA 4500 NO ₂ B	0,004
Fosfatos	mg/l	APHA 4500 PO ₄	0,63
pH ⁽¹⁾		APHA 4500 H B	6,6

Observaciones: (1) Incertidumbre asociada a la medida de pH, U= ±0,07unidades de pH (K=2)

Realizado Por: CEGL

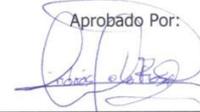


Revisado Por:


Ing. César Alvarado
RESPONSABLE TÉCNICO



Aprobado Por:



Ing. Andrés De La Rosa, MSc
DIRECTOR DEL DPEC

ENSAYOS

No OAE LE 2C 06-010

Los ensayos marcados con (*) están incluidos en el alcance de la acreditación del OAE.

ADVERTENCIA: EL USUARIO DEBE EXIGIR EL ORIGINAL. EL DPEC NO SE RESPONSABILIZA POR DOCUMENTOS FOTOCOPIADOS.

Dirección: Francisco Viteri s/n y Gilberto Gato Sobral Teléfono: 2904794 / 2544631 ext. 104 Fax: 2529676 E-mail: dpec@fing.uce.edu.ec
QUITO - ECUADOR

H.15. Informe muestreo 15 (1-Mar-10).



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE INGENIERÍA, CIENCIAS FÍSICAS Y MATEMÁTICA
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
DEPARTAMENTO DE PETRÓLEOS, ENERGÍA Y CONTAMINACIÓN



INFORME DE RESULTADOS AGUAS

Informe No: 10-03-01-A-1
Fecha: 2010-03-12

Referencia: OT: 10-03-01-A
Empresa: PARTICULAR
Atención: Srta. Andrea Manzano.
Dirección: Nabyek Valdivieso y Occidental
Tipo de ensayos: Análisis fisicoquímicos
Tipo de muestra: Agua
Identificación de la muestra: AGUA 15-01-01 (01-03-2010)
Muestreo realizado por: Cliente
Fecha de ingreso de muestra: 01-03-2010
Código de la muestra: OE-10-03-01-A-1
Fecha de realización de ensayos: 02-03-2010

DETERMINACION	UNIDADES	NORMA	RESULTADO
Nitratos	mg/l	APHA 4500 NO ₃ B	< 0,1
Nitritos	mg/l	APHA 4500 NO ₂ B	< 0,001
Fosfatos	mg/l	APHA 4500 PO ₄	0,41
pH*(1)		APHA 4500 H B	6,34

Observaciones: (1) Incertidumbre asociada a la medida de pH, U= ±0,07unidades de pH (K=2)

Realizado Por: CEGE



ENSAYOS
No OAE LE 2C 06-010

Los ensayos marcados con (*) están incluidos en el alcance de la acreditación del OAE.

ADVERTENCIA: EL USUARIO DEBE EXIGIR EL ORIGINAL. EL DPEC NO SE RESPONSABILIZA POR DOCUMENTOS FOTOCOPIADOS.

Revisado Por:

Ing. César Alvarado
RESPONSABLE TÉCNICO



Aprobado Por:

Ing. Andrés De La Rosa, MSc
DIRECTOR DEL DPEC

Dirección: Francisco Viteri s/n y Gilberto Gato Sobral Teléfono: 2904794 / 2544631 ext. 104 Fax: 2529676 E-mail: dpec@fing.uce.edu.ec
QUITO - ECUADOR

H.16. Informe muestreo 16 (13-Mar-10).



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA
DEPARTAMENTO DE PETRÓLEOS, ENERGÍA Y CONTAMINACIÓN



INFORME DE RESULTADOS
AGUAS

Informe No: 10-03-23-A-1
Fecha: 2010-04-09

Referencia: OT: 10-03-23-A
Empresa: PARTICULAR
Atención: Srta. Andrea Manzano.
Dirección: Nabyek Valdivieso y Occidental
Tipo de ensayos: Análisis fisicoquímicos
Tipo de muestra: Agua
Identificación de la muestra: AGUA 16-03-01 (13-03-2010)
Muestreo realizado por: Cliente
Fecha de ingreso de muestra: 15-03-2010
Código de la muestra: OE-10-03-23-A-1
Fecha de realización de ensayos: 16-03-2010

DETERMINACION	UNIDADES	NORMA	RESULTADO
Nitratos	mg/l	APHA 4500 NO ₃ ⁻ B	0,3
Nitritos	mg/l	APHA 4500 NO ₂ ⁻ B	0,040
Fosfato P-P04	mg/l	APHA 4500-PC	0,89
pH ⁽¹⁾		PNE/DPEC/A/SM 4500-H ⁺ B	5,89

Observaciones: (1) Incertidumbre asociada a la medida de pH, U= ±0,07unidades de pH (K=2)

Realizado Por: CEGL



ENSAYOS

No OAE LE 2C 06-010

Los ensayos marcados con (*) están incluidos en el alcance de la acreditación del OAE.

ADVERTENCIA: EL USUARIO DEBE EXIGIR EL ORIGINAL. EL DPEC NO SE RESPONSABILIZA POR DOCUMENTOS FOTOCOPIADOS.

Revisado Por:

Ing. César Alvarado
RESPONSABLE TÉCNICO

Aprobado Por:

Ing. Andrés De La Rosa, MSc
DIRECTOR DEL DPEC

Dirección: Francisco Viteri s/n y Gilberto Gato Sobral Teléfono: 2904794 / 2544631 ext. 104 Fax: 2529676 E-mail: dpec@fing.uce.edu.ec
QUITO - ECUADOR

H.17. Informe muestreo 17 (27-Mar-10).



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA
DEPARTAMENTO DE PETRÓLEOS, ENERGÍA Y CONTAMINACIÓN



INFORME DE RESULTADOS
AGUAS

Informe No: 10-03-48-A-1
Fecha: 2010-04-20

Referencia: OT: 10-03-48-A
Empresa: PARTICULAR
Atención: Srta. Andrea Manzano.
Dirección: Nabyek Valdivieso y Occidental
Tipo de ensayos: Análisis fisicoquímicos
Tipo de muestra: Agua
Identificación de la muestra: AGUA CODIGO 17-27-01 (27-03-2010)
Muestreo realizado por: Cliente
Fecha de ingreso de muestra: 30-03-2010
Código de la muestra: OE-10-03-48-A-1
Fecha de realización de ensayos: 30-03-2010

DETERMINACION	UNIDADES	NORMA	RESULTADO
pH ⁽¹⁾		PNE/DPEC/A/SM 4500-H* B	6,50
Nitratos	mg/l	APHA 4500 NO ₃ ⁻ B	< 0,1
Nitritos	mg/l	APHA 4500 NO ₂ ⁻ B	0,004
Fosfato P-P04	mg/l	APHA 4500-PC	0,26

Observaciones: (1) Incertidumbre asociada a la medida de pH, U= ±0,07 unidades de pH (K=2)

Realizado Por: CEGL



Revisado Por:

César A. Alvarado C.
Ing. César Alvarado
RESPONSABLE TÉCNICO



Aprobado Por:

Andrés De La Rosa
Ing. Andrés De La Rosa, MSc
DIRECTOR DEL DPEC

No OAE LE 2C 06-010
Los ensayos marcados con (*) están incluidos en el alcance de la acreditación del OAE.
ADVERTENCIA: EL USUARIO DEBE EXIGIR EL ORIGINAL. EL DPEC NO SE RESPONSABILIZA POR DOCUMENTOS FOTOCOPIADOS.

Dirección: Francisco Viteri s/n y Gilberto Gato Sobral Teléfono: 2904794 / 2544631 ext. 104 Fax: 2529676 E-mail: dpec@fing.uce.edu.ec
QUITO - ECUADOR

H.18. Informe muestreo 18 (10-Abr-10).



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA
DEPARTAMENTO DE PETRÓLEOS, ENERGÍA Y CONTAMINACIÓN



INFORME DE RESULTADOS
AGUAS

Informe No: 10-04-14-A-1
Fecha: 2010-04-20

Referencia: OT: 10-04-14-A
Empresa: PARTICULAR
Atención: Srta. Andrea Manzano.
Dirección: Nabyek Valdivieso y Occidental
Tipo de ensayos: Análisis fisicoquímicos
Tipo de muestra: Agua
Identificación de la muestra: AGUA CODIGO 18-10-01 (10-04-2010)
Muestreo realizado por: Cliente
Fecha de ingreso de muestra: 13-04-2010
Código de la muestra: OE-10-04-14-A-1
Fecha de realización de ensayos: 14-04-2010

DETERMINACION	UNIDADES	NORMA	RESULTADO
Nitratos	mg/l	APHA 4500 NO ₃ ⁻ B	0,9
Nitritos	mg/l	APHA 4500 NO ₂ ⁻ B	0,045
Fosfato P-P04	mg/l	APHA 4500-PC	0,31
pH ^{*(1)}		PNE/DPEC/A/SM 4500-H* B	5,39

Observaciones: (1) Incertidumbre asociada a la medida de pH, U= ±0,07unidades de pH (K=2)

Realizado Por: CEGL



Revisado Por:

César A. Alvarado C.
Ing. César Alvarado
RESPONSABLE TÉCNICO



Aprobado Por:

Andrés De La Rosa

Ing. Andrés De La Rosa., MSc
DIRECTOR DEL DPEC

ENSAYOS

No OAE LE 2C 06-010

Los ensayos marcados con (*) están incluidos en el alcance de la acreditación del OAE.

ADVERTENCIA: EL USUARIO DEBE EXIGIR EL ORIGINAL. EL DPEC NO SE RESPONSABILIZA POR DOCUMENTOS FOTOCOPIADOS.

Dirección: Francisco Viteri s/n y Gilberto Gato Sobral Teléfono: 2904794 / 2544631 ext. 104 Fax: 2529676 E-mail: dpec@ing.uce.edu.ec
QUITO - ECUADOR

H.19. Informe muestreo 19 (24-Abr-10).



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA
DEPARTAMENTO DE PETRÓLEOS, ENERGÍA Y CONTAMINACIÓN



INFORME DE RESULTADOS
AGUAS

Informe No: 10-04-46-A-1
Fecha: 2010-05-04

Referencia: OT: 10-04-46-A
Empresa: PARTICULAR
Atención: Srta. Andrea Manzano.
Dirección: Nabyek Valdivieso y Occidental
Tipo de ensayos: Análisis fisicoquímicos
Tipo de muestra: Agua
Identificación de la muestra: AGUA 19-23-01 (29-04-2010)
Muestreo realizado por: Cliente
Fecha de ingreso de muestra: 29-04-2010
Código de la muestra: OE-10-04-46-A-1
Fecha de realización de ensayos: 29-04-2010

DETERMINACION	UNIDADES	NORMA	RESULTADO
Nitratos	mg/l	APHA 4500 NO ₃ ⁻ B	0,2
Nitritos	mg/l	APHA 4500 NO ₂ ⁻ B	0,001
Fosfato P-P04	mg/l	APHA 4500-PC	0,19
pH ⁽¹⁾		PNE/DPEC/A/SM 4500-H ⁺ B	6,04

Observaciones: (1) Incertidumbre asociada a la medida de pH, U= ±0,07unidades de pH (K=2)

Realizado Por: CEGL



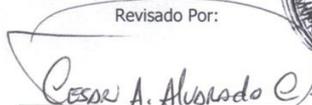
ENSAYOS

No OAE LE 2C 06-010

Los ensayos marcados con (*) están incluidos en el alcance de la acreditación del OAE.

ADVERTENCIA: EL USUARIO DEBE EXIGIR EL ORIGINAL. EL DPEC NO SE RESPONSABILIZA POR DOCUMENTOS FOTOCOPIADOS.

Revisado Por:


Ing. César Alvarado
RESPONSABLE TÉCNICO



Aprobado Por:


Ing. Andrés De La Rosa.,MSc
DIRECTOR DEL DPEC

Dirección: Francisco Viteri s/n y Gilberto Gato Sobral Teléfono: 2904794 / 2544631 ext. 104 Fax: 2529676 E-mail: dpec@fing.uce.edu.ec
QUITO - ECUADOR