



Universidad del Azuay

Facultad de Ciencia y Tecnología

Carrera de Biología Ecología y Gestión

**PREVALENCIA DE PARÁSITOS GASTROINTESTINALES, *BATRACHOCHYTRIUM*
DENDROBATIDIS Y *RANAVIRUS* EN TRES ESPECIES DE ANUROS EN ZONAS
URBANAS Y PERIURBANAS DE LA CIUDAD DE CUENCA**

Trabajo de graduación previo a la obtención del título de:

Biólogo con mención en Ecología y Gestión.

Autoras:

Jackeline Daniela Arpi Lojano; Evelyn Yadira Ocampos Calle

Cuenca – Ecuador

2022

DEDICATORIA

A mis padres Jenny y Juan Carlos quienes con su amor, paciencia y esfuerzo me han permitido llegar a cumplir hoy un sueño más, gracias por inculcar en mí el ejemplo de esfuerzo y valentía, de no temer las adversidades porque Dios está conmigo siempre. A mi hermana Karla por su cariño y apoyo incondicional, durante todo este proceso, por estar conmigo en todo momento gracias.

Evelyn

A mi familia, en especial a mi querida madre, por demostrarme siempre su amor y apoyo incondicional. A mi abuelita, tíos y hermanos por brindarme cariño, consejos y enseñarme valores que me han formado desde siempre. A mi abuelito que estés donde estés nunca dejaremos desvanecer tu recuerdo. Finalmente, a mis amigos que me apoyan siempre, confían y creen en mí. Por nuevas serendipias de la vida y mágicos momentos.

Jacky

AGRADECIMIENTO

A nuestras familias, por habernos dado la oportunidad de formarnos en esta prestigiosa universidad y haber sido nuestro apoyo durante todo este tiempo.

De manera especial a nuestro tutor de tesis el Dr. Rodrigo Caroca, por habernos guiado y habernos brindado el apoyo para desarrollarnos profesionalmente y seguir cultivando valores.

Así mismo, deseamos expresar nuestro reconocimiento a Mgs. David Siddons, Blga. Melissa Vanegas, Blga. Verónica Urgiles, Mgs. Fausto Siavichay, Blga. Nataly Aguilar, Mvz. Noemí Torres, Ing. Diego Montero, Dra. Cecilia Palacios por todas las atenciones e información brindada a lo largo de esta indagación.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

DEDICATORIA	I
AGRADECIMIENTO	II
ÍNDICE DE FIGURAS	IV
ÍNDICE DE TABLAS	IV
ÍNDICE DE ANEXOS	V
RESUMEN	VII
ABSTRACT	VIII
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO 1: METODOLOGÍA	3
1.1 Área de estudio	3
1.2 Fase de campo	4
1.3 Fase de laboratorio	5
1.3.1 Detección de parásitos gastrointestinales	5
1.3.2 Extracción de ADN de los hisopados	6
1.3.3 Control de calidad de la extracción de ADN de anfibios	7
1.3.4 Detección de <i>Batrachochytrium dendrobatidis</i> (Bd) – qPCR	7
1.3.5 Detección de <i>Ranavirus</i> – PCR convencional	8
1.4 Análisis de datos	9
CAPÍTULO 2: RESULTADOS	9
2.1 Parásitos gastrointestinales	9
2.2 Control de calidad	12
2.4 <i>Ranavirus</i>	13
2.5 Condiciones de hábitat	14
CAPÍTULO 3: DISCUSIÓN	15
CONCLUSIONES	18
RECOMENDACIONES	18
REFERENCIAS	20
ANEXOS	23

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 . Área de estudio y ubicación de ocho sitios de muestreo en la ciudad de Cuenca, Provincia del Azuay. Los círculos azules representan la zona urbana. Los círculos rojos representan la zona periurbana.	4
--	---

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Propuesta de rangos para el análisis de prevalencia de parásitos gastrointestinales.	6
Tabla 2. Prevalencia de parásitos gastrointestinales. La prevalencia representa el número de individuos infectados dividido por el número total de individuos en cada grupo de especies de anuros.	9
Tabla 3. Prevalencia de parásitos gastrointestinales por cada zona de estudio.	10
Tabla 4. Número de individuos infectados por <i>Batrachochytrium dendrobatidis</i> en las localidades estudiadas.	12
Tabla 5. Datos de parámetros ambientales y condiciones de hábitat que muestran alteraciones en el sitio de estudio.	14

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1 . Luminiscencia detectada por el termociclador durante una reacción de qPCR para detectar *Bd*. El valor CT se determina registrando el ciclo de PCR (eje X) en que la curva de fluorescencia cruza el umbral (línea discontinua). El filtro usado para medir la fluorescencia fue FAM. 22

Anexo 2. Parásito del orden Strongylida detectado mediante el método de observación directa con tinción lugol, utilizando un microscopio (LW Scientific, I4M-TN4A-ISL3) con el objetivo 40X. 22

Anexo 3. Parásito del orden Slopalinida en solución salina, utilizando un microscopio (LW Scientific, I4M-TN4A-ISL3) con el objetivo 40X. 23

Anexo 4. Parásito del orden Eucoccidiida detectado, utilizando un microscopio (LW Scientific, I4M-TN4A-ISL3) con el objetivo 40X. 23

Anexo 5. Gel de electroforesis de PCR convencional para el control de calidad de la extracción de ADN. Tamaño de la banda esperada para el control de calidad fue 590 bp. Para visualizar las bandas en el gel se usó GeneRuler 1kb Plus DNA Ladder. Primer usado ANF-Forward y ANF Reverse. 24

Anexo 6. Número de individuos con resultados positivos y negativos del control de calidad mediante PCR convencional y número de individuos positivos para *Batrachochytrium dendrobatidis* mediante qPCR entre los sitios de estudio. 24

Anexo 7. Gel de electroforesis de PCR convencional para *Ranavirus*. (CP es el control positivo). Tamaño de la banda esperada los primers MCP 341 bp y para los primers IE 417 bp. Para visualizar las bandas en el gel se usó GeneRuler 1kb Plus DNA Ladder (Invitrogen). 25

Anexo 8. Comparación del primer MCP Forward y Reverse (Galli et al., 2006) con la secuencia del gen IE código Nc_005946 (GenBank). En azul se pueden observar nucleótidos que no coinciden entre las secuencias comparadas. 26

Anexo 9. Comparación del primer IE Forward y Reverse (Galli et al., 2006) con la secuencia del gen IE código Nc_005946 (GenBank). En azul se pueden observar nucleótidos que no coinciden entre las secuencias comparadas. 27

RESUMEN

La declinación de las poblaciones de anfibios está asociada a varios factores entre ellos parásitos gastrointestinales y patógenos como *Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd) y *Ranavirus*. En el presente estudio se analizó la prevalencia tanto de parásitos como de patógenos en ranas de las especies *Gastrotheca cuencana*, *Ctenophryne aequatorialis* y *Hyloxalus vertebralis* comparando zonas urbanas y periurbanas de la ciudad de Cuenca. Dentro de los parásitos gastrointestinales encontrados destacan los órdenes Strongylida, Slopalinida, Armophorida y Eucoccidiida, cuya mayor prevalencia fue detectada en la zona urbana. Por otra parte, los resultados para el hongo quítrido muestran que la zona periurbana y la especie *Ctenophryne aequatorialis* tuvieron una mayor prevalencia de este patógeno. Con respecto a *Ranavirus* no se obtuvo ningún resultado, debido a que, los primers utilizados no fueron específicos para el gen. Con los resultados obtenidos se determinó que la mayor prevalencia de parásitos fue por la presencia de material fecal de canes en los parques. Finalmente, se asume que la mayor prevalencia de Bd se debe a las malas condiciones de hábitat como sitios perturbados, ya que actúan como refugios de enfermedades y también por climas estacionales dado que épocas de lluvia y bajas temperaturas favorecen el crecimiento de esta enfermedad.

Palabras claves: *Batrachochytrium dendrobatidis*, periurbano, *Ranavirus*, urbano.



Dr. Rodrigo Caroca

Director de tesis



Dr. Antonio Crespo Ampudia

Coordinador de carrera



Jackeline Arpi Lojano

Autor



Evelyn Ocampos Calle

Autor

ABSTRACT

The decline of amphibian populations is associated with several factors, including gastrointestinal parasites and pathogens such as *Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd) and *Ranavirus*. In the present study, the prevalence of both parasites and pathogens in frogs of the species *Gastrotheca cuencana*, *Ctenophryne aequatorialis* and *Hyloxalus vertebralis* was analyzed, comparing urban and peri-urban areas of the city of Cuenca. Among the gastrointestinal parasites we encountered, the orders Strongylida, Slopalinida, Armophorida and Eucoccidiida stand out, and their highest prevalence was detected in urban areas, especially in the species *Ctenophryne aequatorialis*. On the other hand, the analysis of the chytrid fungus shows that this pathogen is most prevalent in the peri-urban area, again the species *Ctenophryne aequatorialis* being the most affected. Regarding *Ranavirus*, no results were obtained, since the primers used were not specific for the genes evaluated. Correlating these results with the evaluations of living conditions, we determined that the highest prevalence of parasites was probably due to the presence of fecal material from dogs in the parks. Finally, it is assumed that the higher prevalence of Bd is related to poor habitat conditions, such as disturbed sites, since they act as reservoirs for disease. Weather conditions could also be relevant, since rainy seasons and low temperatures favor the growth of this disease.

Keywords: *Batrachochytrium dendrobatidis*, peri-urban, *Ranavirus*, urban.



Dr. Rodrigo Caroca

Thesis director



Dr. Antonio Crespo Ampudia

Faculty Coordinator



Jackeline Arpi Lojano

Author



Evelyn Ocampos Calle

Author

