



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

DETERMINACIÓN DE LA CARGA PARASITARIA DE NEMATODOS GASTRO-
INTESTINALES EN ANFIBIOS DE LA ESPECIE GASTROTHECA PSEUSTES
EN CAUTIVERIO EN LA Balsa de los Saños

Autora
Itziar Chapa Arroba

Año
2018



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

DETERMINACIÓN DE LA CARGA PARASITARIA DE NEMATODOS
GASTROINTESTINALES EN ANFIBIOS DE LA ESPECIE *GASTROTHECA*
PSEUSTES EN CAUTIVERIO EN LA Balsa DE LOS SAPOS

Trabajo de titulación presentado en conformidad con los requisitos establecidos
para optar por el título de Médico Veterinaria y Zootecnia

Profesor guía
Elmer Alexander Genoy-Puerto

Autora
Itziar Chapa Arroba

Año
2018

DECLARACIÓN DEL PROFESOR GUÍA

“Declaro haber dirigido el trabajo, determinación de la carga parasitaria de nematodos gastrointestinales en anfibios de la especie *gastrotheca pseustes* en cautiverio en la balsa de los sapos, a través de reuniones periódicas con la estudiante Itziar Chapa Arroba, en el noveno semestre, orientando sus conocimientos y competencias para un eficiente desarrollo del tema escogido y dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación”.

Elmer Alexander Genoy-Puerto
Médico veterinario
CI. 175758927-8

DECLARACIÓN DEL PROFESOR CORRECTOR

“Declaro haber revisado este trabajo, determinación de la carga parasitaria de nematodos gastrointestinales en anfibios de la especie *gastrotheca pseustes* en cautiverio en la balsa de los sapos, de Itziar Chapa Arroba, en el noveno semestre, dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación”.

Carolina Susana Bracho Villavicencio
Médico veterinario
CI. 171675484-9

DECLARACIÓN DE AUTORÍA DEL ESTUDIANTE

“Declaro que este trabajo es original, de mi autoría, que se han citado las fuentes correspondientes y que en su ejecución se respetaron las disposiciones legales que protegen los derechos de autor vigentes”.

Itziar Chapa Arroba
CI. 171197315-4

AGRADECIMIENTOS

A la vida por esta oportunidad maravillosa de hacer algo que amo, a mis papás por su apoyo incondicional, a los maestros que me compartieron sus conocimientos y me ayudaron a llegar hasta aquí.

A mi tutor, el Dr. Alexander Genoy, por la oportunidad y su apoyo, a todas las personas de la Balsa de los Sapos (Andrés Merino, Freddy Almeida) que colaboraron en este trabajo y a la Coordinación de Laboratorios de la UDLA, junto con todo su personal, que fueron clave en la realización de esta tesis.

Itziar

DEDICATORIA

A los animales porque inspiraron cada paso de este proceso y siguen motivando mi vida día a día. A mis padres que siempre están ahí para apoyarme aún en los peores momentos; a mi querido hermano, mi guía y amigo del alma. A todas las personas que hicieron posible de una u otra forma que llegue hasta aquí. A mis amigos: Karlita, no sé si lo hubiera logrado sin ti; Gaby, siempre me inspiraste a seguir, gracias por su apoyo. A todos mis compañeros y profesores que hicieron que los días sean mejores.

Itziar

RESUMEN

El presente trabajo es un estudio coprológico de nematodos en anuros de la especie *Gastrotheca pseustes*, un anfibio ecuatoriano en peligro de extinción, que se encuentra en cautiverio en el centro de crianza Balsa de los Sapos, lugar en el cual se realizan procesos de reproducción y repoblación de estas especies. El objetivo de esta investigación fue **determinar la carga parasitaria e identificar los huevos encontrados a partir de literatura científica de nematodos en anfibios**. Para tal fin, se utilizó el método de **McMaster con solución glucosada** para el conteo e identificación de los nematodos presentes en las heces de 56 animales, 27 hembras y 29 machos de esta especie. Se encontró una **carga parasitaria media de 4305,47 hpg (huevos por gramo) con una desviación estándar de 740,99 hpg y un rango entre 3072,xx hpg – 5680,xx hpg**; al haber tenido unas medidas morfométricas normales, y por la edad de los animales se considera, que esta carga parasitaria podría ser normal para animales en cautiverio y esto también podría indicar que los animales cuentan con buenas condiciones de manejo y salud. Se realizaron **regresiones lineales y correlación de Pearson** entre las medidas morfométricas de los animales y el tiempo en cautiverio con la carga parasitaria, **no se encontró relación significativa**. En cuanto a las especies de nematodos encontradas las que tuvieron mayor frecuencia fueron: ***Aplectana Delirae*, *Pteroxiascaris Caudacutus*, *Oxyascaris Caudacutus*, *Oswaldocruzia Subauricularis* y *Cosmocerca Podicipinus* en orden de importancia**. En tales circunstancias, se sugiere realizar estudios de biología molecular para saber con exactitud si las especies identificadas son las que se encuentran parasitando esta población.

ABSTRACT

The present work is a coprological study of nematodes of amphibians of the *Gastrotheca pseustes* species, an Ecuadorian amphibian in danger of extinction, which is in captivity in the breeding center Balsa de los Sapos, a place where reproductive processes are carried out and repopulation of these species. The objective of this research was **to determine the parasitic load and identify the eggs found from the scientific literature of nematodes in amphibians**. For this purpose, **the McMaster method with glucose solution** was used for the counting and identification of nematodes present in the faeces of 56 animals, 27 females and 29 males of this species. An **average parasitic load of 4305.47 epg (eggs per grame) was found with a standard deviation of 740.99 epg and a range between 3072.00 epg – 5680.00 epg**; having had a normal morphometric measurements, and due to the age of the animals, it is considered that this parasitic load could be normal for animals in captivity and this could also indicate that the animals are in good husbandry and health conditions. **Linear regressions and Pearson correlation** were made between the morphometric measurements of the animals and the time in captivity with the parasite load, **no significant relationship was found**. Regarding the species of nematodes found, those that had the highest frequency were: ***Aplectana Delirae*, *Pteroxiascaris Caudacutus*, *Oxyascaris Caudacutus*, *Oswaldocruzia Subauricularis* and *Cosmocerca Podicipinus*** in order of importance. In such circumstance, it is suggested to perform molecular biology studies to know exactly if the identified species are those that are parasitizing this population.

ÍNDICE

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Objetivos	4
1.1.1 Objetivo general.....	4
1.1.2 Objetivos específicos	4
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	5
2.1 Descripción de la especie <i>Gastrotheca pseustes</i> y su distribución	5
2.2 Estatus de la especie en estudio.....	6
2.3 Sistema digestivo en los anfibios	6
2.4 Características de los nematodos	7
2.5 Parasitosis gastrointestinales comunes en anuros	10
2.6 Técnicas parasitológicas	12
CAPÍTULO III: METODOLOGÍA.....	13
3.1 Ubicación	13
3.2 Población y muestra.....	13
3.3 Materiales.....	14
3.4 Metodología	15
3.4.1 Mediciones morfométricas	15
3.4.2 Sexo.....	15
3.4.3 Tiempo en cautiverio.....	15
3.4.4 Colecta de muestras	15
3.4.5 Transporte de muestras	16
3.4.6 Técnica cuantitativa de McMaster con solución glucosada	17
3.4.7 Medición de huevos e Identificación de parásitos.....	19
3.4.8 Análisis de datos.....	20
3.4.8.1 Análisis de datos morfométricos y carga parasitaria.....	20
3.4.8.2 Análisis de datos para identificación de huevos	20
3.5 Diseño experimental	20
3.5.1 Hipótesis	20
3.5.2 Diseño experimental	21
3.5.2 Análisis estadístico	21

3.5.2.1 Análisis estadístico para datos morfométricos y carga parasitaria.....	21
3.5.2.2 Análisis estadístico para identificación de huevos.....	21
CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	23
4.1 Carga parasitaria.....	23
4.1.1. Número de animales.....	24
4.1.2 Tiempo en cautiverio.....	24
4.1.3 Largo recto boca-cloaca.....	25
4.1.4 Peso.....	26
4.1.5 Carga parasitaria.....	26
4.2 Géneros y especies de parásitos encontradas.....	27
4.2.1 Género <i>Aplectana</i>	29
4.2.1.1 <i>Aplectana delirae</i>	31
4.2.1.2 <i>Aplectana hylambatis</i>	32
4.2.1.3 <i>Aplectana travassosi</i>	33
4.2.1.3 <i>Aplectana vellardi</i>	34
4.2.2 Género <i>Cosmocerca</i>	35
4.2.2.1 <i>Cosmocerca freitasi</i>	37
4.2.2.2 <i>Cosmocerca parva</i>	38
4.2.2.3 <i>Cosmocerca podicipinus</i>	39
4.2.3 Género <i>Falcaustra</i> : <i>Falcaustra mascula</i>	40
4.2.4 Género <i>Oswaldocruzia</i>	41
4.2.4 1 <i>Oswaldocruzia lopesi</i>	43
4.2.4 2 <i>Oswaldocruzia mazzai</i>	44
4.2.4 3 <i>Oswaldocruzia subauricularis</i>	45
4.2.5 Género <i>Oxyascaris</i>	46
4.2.5.1 <i>Oxyascaris caudacutus</i>	48
4.2.5.2 <i>Oxyascaris oxyascaris</i>	49
4.2.6 Género <i>Pteroxyascaris</i>	50
4.2.6.1 <i>Pteroxyascaris caudacutus</i>	52
4.2.6.1 <i>Pteroxyascaris similis</i>	53
4.2.7 Género <i>Raillietnema</i> : <i>Raillietnema spectans</i>	54

4.2.8 Género <i>Rhabdias</i>	55
4.2.8.1 <i>Rhabdias elegans</i>	58
4.2.8.1 <i>Rhabdias fuelleborni</i>	59
4.2.8 Género <i>Strongyloides</i>	60
4.3 Correlaciones y regresiones.....	63
4.3.1 Carga parasitaria y peso.....	64
4.3.2 Carga parasitaria y largo recto boca-cloaca.....	65
4.3.3 Carga parasitaria y tiempo en cautiverio.....	66
4.4 Parásitos y estrés en cautiverio.....	67
4.5 Limitaciones del estudio.....	68
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	70
5.1 Conclusiones.....	70
5.2 Recomendaciones.....	70
REFERENCIAS.....	72
ANEXOS.....	78

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN

Los anfibios son animales de gran importancia genética y ecológica debido a que constituyen un eslabón intermedio que permite el flujo de energía hacia niveles superiores de la cadena trófica de los ecosistemas que habitan. Esto se debe al rol mixto que cumplen en estos ecosistemas, en los que son tanto consumidores como presas. De igual manera, son animales sensibles a los cambios ambientales debido a sus características anatómicas y fisiológicas, por lo que se consideran como importantes marcadores del estado ambiental de sus hábitats. En muchos casos, son animales de importancia en biomedicina, debido a que las sustancias que producen pueden ser utilizadas para el desarrollo de medicamentos con un alto potencial antiviral, antitumoral, antifúngico, antimicrobiano, e incluso anti protozoos (Ron, et al., 2016).

Ecuador alberga el 10% de la biodiversidad mundial en su pequeña extensión. Esto, lo ubica en el octavo puesto dentro de los países mega diversos del mundo, y en el primer puesto en biodiversidad por unidad de área en América del Sur. Además, es el país de América Latina con la mayor densidad de anfibios por metro cuadrado. Es así que, de este 10% de biodiversidad hay 546 especies de anfibios, y el 43% de estas son especies que solo se pueden encontrar en esta región del mundo (UNDP y Ecuador, 2015). Sin embargo, en los últimos años, se ha visto descensos importantes de las poblaciones y se estima que un 32% de las especies de anfibios presentes en el país se encuentran en extinción (UICN, 2014).

La biodiversidad en Ecuador se encuentra en constante amenaza, debido, sobre todo, a actividades humanas económicas como tala de bosques, ganadería y agricultura, que causan la fragmentación y desaparición de sus hábitats naturales. Dentro de estas amenazas, también es importante mencionar la ausencia de estudios que registren la presencia de parásitos y patologías y si éstas constituyen un riesgo o no para su conservación. En ese sentido, la conservación tanto *in situ* como *ex situ* de anfibios en nuestro país ha cobrado importancia en los últimos años, tanto para la repoblación de

animales a su hábitat natural, como para investigaciones biomédicas. Para esto, el gobierno ecuatoriano ha creado una lista prioritaria con catorce grupos de especies para la conservación. Una de estas es la rana marsupial; *Gastrotheca* spp. (UNDP y Ecuador, 2015).

Además, existen iniciativas de conservación como La Balsa de los Sapos; que es un centro de investigación y crianza de anfibios en cautiverio. Se fundó en 2006 como parte del Plan Estratégico para la Conservación de los Anfibios Ecuatorianos en Riesgo de Extinción, realizado por la Pontificia Universidad Católica del Ecuador (PUCE), con el objetivo a largo plazo de la reproducción de estos animales para la reintroducción a sus hábitats naturales, contribuyendo con la conservación de los anfibios del país (Ron, et al., 2016).

Por otro lado, la investigación de enfermedades y parásitos presentes en anfibios de nuestro país es limitada. No existen muchos estudios acerca de parásitos en heces ni carga parasitaria, ni en animales en cautiverio, ni en vida libre. Similar situación ocurre con los estudios de parásitos en anfibios a nivel mundial, en los que se describen los parásitos encontrados en los tejidos de animales *post- mortem* por medio de técnicas de histopatología y tinción. En pocos estudios se utilizan técnicas coprológicas para determinación de parásitos o carga parasitaria (Reyes-Puig y Trujillo, 2016).

Las investigaciones parasitológicas en anfibios de América Latina son realizadas con mayor frecuencia en países como Guatemala, Costa Rica, México, Brasil y Argentina. En estos estudios se han reportado gran cantidad de nematodos, trematodos, cestodos, algunos protozoarios y criptosporidios en los tejidos de los animales estudiados (Ron, et al., 2016). Sin embargo, en muchos casos no es posible llegar a identificar las especies de parásitos que las afectan y los estudios realizados se enfocan solamente a tejidos de animales muertos y eutanasiados con técnicas de histopatología y no en animales vivos (Jiménez, 2009).

Existen algunas guías para la crianza de anfibios en cautiverio, pero no existe información específica sobre la realización de exámenes coprológicos ni sobre los parásitos que se pueden encontrar o la carga parasitaria normal de estos animales (Jiménez-Sánchez, 1997). Son manuales para técnicos o personas sin especialización. Por lo tanto, se hace necesaria la realización de estudios coprológicos que puedan ser utilizadas como guía, tanto para veterinarios como para biólogos al momento de criar anfibios en cautiverio; o para la realización de estudios parasitológicos de campo en estos animales (Mitchell y Tully, 2009).

El presente estudio se encuentra dentro del proyecto Patología Comparada de Procesos Infecciosos y no Infecciosos de Anfibios Ecuatorianos en Cautiverio, que se realiza en la Universidad de Las Américas (UDLA). Permitirá obtener información científica acerca de los parásitos encontrados en las heces de anfibios y podrá abrir las puertas a nuevas exploraciones en esta temática. Además, contribuye a la conservación de la rana marsupial de San Lucas (*Gastrotheca pseustes*), especie emblemática del Ecuador. A su vez, será fundamental para complementar información sanitaria básica que puede robustecer el programa Balsa de los Sapos o servir como guía para otros centros de crianza y conservación de anfibios.

A nivel académico, será un aporte al conocimiento del estudiante en parasitología y manejo de anfibios en cautiverio. En primer lugar, el conocimiento de técnicas parasitológicas será de utilidad en clínica y en investigación de especies silvestres. En segundo lugar, este estudio abrirá las puertas hacia futuras investigaciones en anfibios, animales que, debido a la declinación de sus poblaciones a nivel mundial, cada vez toman mayor importancia en la investigación científica y de conservación.

Por último, cabe señalar que el trabajo será financiado por el estudiante con el uso de laboratorios, equipos e insumos de la UDLA. Las muestras serán recolectadas de los animales del centro de crianza La Balsa de los Sapos de la

PUCE. Las técnicas utilizadas son simples y utilizan reactivos que son de fácil acceso.

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo general

Determinar la carga parasitaria de nematodos gastrointestinales en anfibios de la especie *Gastrotheca pseustes* en cautiverio en el centro La Balsa de Los Sapos.

1.1.2 Objetivos específicos

Identificar huevos de nematodos gastrointestinales presentes en animales de la especie *Gastrotheca pseustes*, en el centro de conservación La Balsa de los Sapos.

Cuantificar los huevos de nematodos encontrados en animales de la especie *Gastrotheca pseustes*, a través del método de McMaster para obtener la carga parasitaria de los anfibios mencionados.

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1 Descripción de la especie *Gastrotheca pseustes* y su distribución

La especie *Gastrotheca pseustes* fue descrita en 2015 por Duellman con base en 157 individuos. Se trata de una rana de cuerpo robusto, con la cabeza ancha y redondeada. Su longitud de la boca a la cloaca tiene un promedio de 54.4 mm en machos y de 62.4 mm en hembras. Su cabeza se encuentra inclinada desde la nariz a la punta. La parte superior de la cabeza es cóncava. El espacio interorbital es el 118% de la longitud del párpado. Posee nostrillos protuberantes, y el tamaño de sus ojos es similar al de los nostrillos. El tímpano es vertical y de forma ovoidea. Las manos son de tamaño mediano, con dedos largos, sin membranas pero con presencia de discos subarticulares redondeados. La textura de la piel de las superficies dorsales del animal es variable, entre suave, areolada, granular y pustular. La piel de los flancos es areolada, mientras que la piel de las superficies ventrales es granular. Las hembras poseen un marsupio característico en el que transportan los embriones, cuya apertura tiene forma de “u” y su borde anterior se encuentra a nivel del hueso sacro. En cuanto a los colores, estos son variables y pueden estar entre verde, marrón y negro (Ron, et al., 2016).

La rana marsupial de San Lucas se encuentra distribuida en las zonas de bosque montano oriental y occidental, páramo y matorral interandino, de las provincias de Pichincha a Loja (de norte a sur) (Ver figura 1). Se ha encontrado en conjunto con *Gastrotheca riobambae* en las provincias de Pichincha (Machachi), Cotopaxi (Lasso y Sigchos), Chimborazo (Laguna de Colta), Tungurahua (Ambato) y Bolívar (Guaranda) (University of California , 2017). En estos lugares tiene una distribución menor en relación con las otras provincias, por lo cual, se cree que está siendo desplazada por *G. Riobambae* (Barlett y Barlett, 2000).

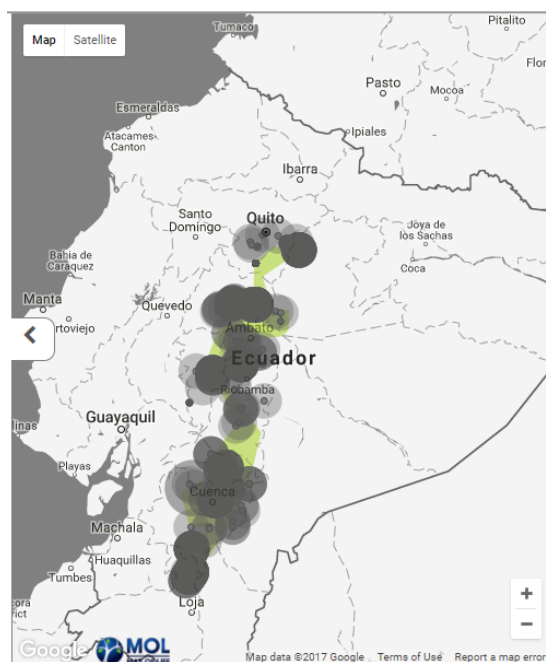


Figura 1. Mapa de distribución de la especie *Gastrotheca pseustes*. Tomado de: University of California, 2017.

2.2 Estatus de la especie en estudio

Gastrotheca pseustes se encuentra en la lista roja de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) como una especie en peligro de extinción, debido a la fragmentación de su hábitat, la amenaza de patologías como la quitridiomycosis y la deforestación Andina para la siembra de pinos. Sin embargo, esta información requiere una actualización, por lo tanto, son necesarios nuevos estudios de su estatus y amenazas (UICN, 2004).

2.3 Sistema digestivo en los anfibios

Los anfibios poseen un sistema digestivo simple y corto que desemboca en la cloaca. Algunos de ellos poseen dientes y lengua, mientras que otros carecen de estos. En determinadas ocasiones, pueden invertir el estómago para sacar sustancias nocivas que afecten a su mucosa. Poseen un hígado grande con dos o tres lóbulos según la especie, el hígado puede ocupar hasta un 50% de la cavidad celómica y tiene una coloración que varía entre gris, marrón y negro debido a la presencia de melanomacrófagos (Ver figura 2). Es común encontrar

en las heces exoesqueletos de insectos o residuos vegetales (Mitchell y Tully, 2009).

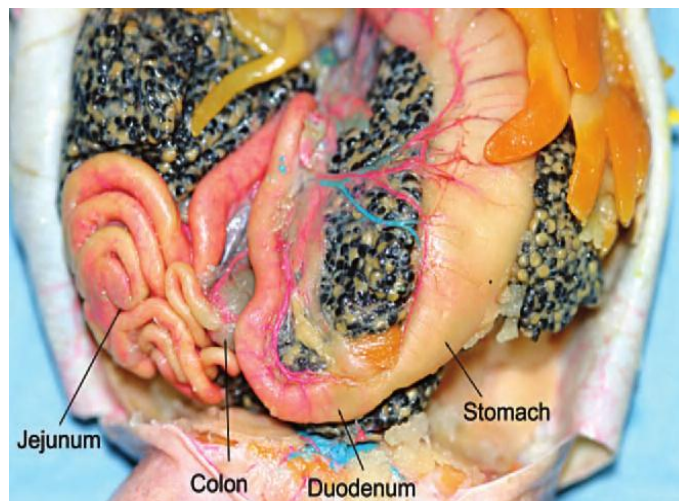


Figura 2. Sistema Gastrointestinal de anfibio de la especie *Rana pipiens*. Tomado de: Mitchell y Tully, 2009.

2.4 Características de los nematodos

Nematodos, llamados también gusanos redondos por su forma al observarlos en secciones transversales, son multicelulares, de forma elongada, cilíndrica y sin segmentos (Cabrera-Guzmán, León-Règagnon, y García-Prieto, 2007). Se trata del grupo más diverso, complejo y variable de parásitos después de los artrópodos, con aproximadamente 10000 especies. Son parásitos de una gran versatilidad que pueden afectar una amplia gama de órganos y sistemas, causando patologías en todos los grupos de animales y vegetales, además de tener especies no parasitarias (Flynn, 2007), (Amin, Ha, y Heckmann, 2008).

Los nematodos poseen una cutícula fina que recubre la superficie exterior de su cuerpo y se extiende a todas sus cavidades corporales incluyendo boca, esófago, recto y genitales. Esta cutícula se forma en la hipodermis y tiene gran cantidad de formas y modificaciones según la especie, que dan origen, en algunos casos, a extensiones cuticulares aplanadas anteriores llamadas alas cervicales (Bowman, 2014). En el caso de algunos machos, existe una

extensión cuticular posterior que se denomina bursa copuladora y les sirve para un mejor agarre de la hembra al momento de la reproducción. Bajo la hipodermis, encontramos la capa muscular con fibras musculares en forma de huso, que le permiten al animal desplazarse. Además, los nematodos poseen musculatura especializada dentro de la cavidad corporal, que les permite realizar actividades específicas como alimentación y reproducción. Dicha cavidad corporal o pseudoceloma se encuentra recubierta por una membrana pseudocelómica de protección (Hendrix y Robinson, 2012).

Los sistemas orgánicos más importantes en los nematodos son el digestivo y reproductivo; ambos bastante simples. El sistema digestivo es una especie de tubo que recorre el parásito desde la boca hasta el ano. La boca puede estar rodeada por hasta cuatro pares de labios o hasta cuarenta papilas (proyecciones en forma de dedos). Estos se conectan con la cavidad oral, esófago y un intestino largo y enrollado que termina en una apertura hacia el exterior. Las hembras poseen recto, mientras que los machos tienen cloaca que se conecta al exterior por el ano. Posterior al ano se encuentra la cola (Bowman, 2014).

A diferencia de otros parásitos, los nematodos no son hermafroditas, por lo que su reproducción es sexual con la unión de animales de sexos distintos. Los órganos reproductivos masculinos consisten de uno o dos testículos tubulares conectados con la cloaca por una vía deferente. En algunos casos, existe una bolsa espiculada asociada a la bursa copuladora que ayuda a facilitar la reproducción (Iannacone, 2003). En el caso de las hembras, el tracto reproductivo consiste de uno o dos ovarios de forma tubular, un oviducto que conecta los ovarios al útero, y la vagina que se conecta al exterior por la vulva. Algunas especies poseen un receptáculo seminal para almacenamiento de esperma. Los nematodos parásitos son bastante prolíficos, las hembras pueden producir miles de huevos diarios (McAllister, Bursey, y Freed, 2010).

En general, los nematodos producen cuatro tipos de huevos: El de tipo ascaridio (Ver figura 3), el de tipo strongiloide (Ver figura 4), el de tipo espiruroide (Ver figura 5) y el de tipo trichuroide (Ver figura 6). Además, algunas hembras producen larvas características. Tanto el tipo de huevos como las larvas son importantes en la identificación de los parásitos (Hendrix y Robinson, 2012)

El ciclo de vida de los nematodos, es bastante simple aunque posee gran cantidad de modificaciones según la especie. En general, la hembra adulta produce un huevo unicelular que se desarrollará para dar origen a una mórula. Esta mórula se transformará en ninfa, la ninfa se transformará en larva de primera generación dentro del huevo, que a su vez se desarrollará y se convertirá en larva de segunda y tercera generación. La larva de tercera generación es la fase infectiva para el huésped definitivo (Ryan, 2010). Las primeras dos larvas se pueden desarrollar tanto en el medio ambiente como en un huésped intermediario. La larva de tercera generación requiere específicamente del huésped definitivo para su supervivencia. Una vez aquí, la larva se transformará en larva de cuarta generación y juvenil. En la fase juvenil, el nematodo migrará hacia su órgano diana donde se transformará en adulto para reproducirse y continuar el ciclo (Flynn, 2007).



Figura 3. Huevo de tipo ascaridio, del parásito *Toxocara* spp. Tomado de: Hendrix y Robinson, 2012.

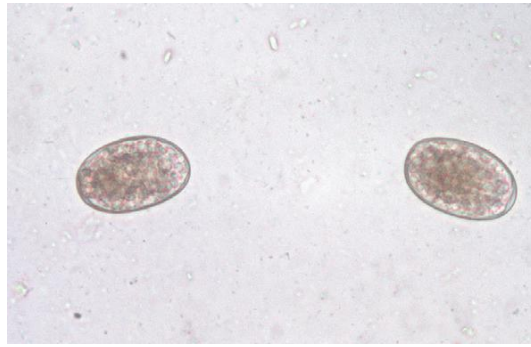


Figura 4. Huevo de tipo strongiloide, del parásito *Ancylostoma* spp. Tomado de: Hendrix y Robinson, 2012.



Figura 5. Huevo de tipo espiruroide, del parásito *Spirocerca* spp. Tomado de: Hendrix y Robinson, 2012.



Figura 6. Huevo de tipo trichuroide, del parásito *trichuris* spp. Tomado de: Hendrix y Robinson, 2012.

2.5 Parasitosis gastrointestinales comunes en anuros

Los parásitos más comunes encontrados en anuros son nematodos, cestodos, protozoarios y criptosporidios. De estos, cientos de especies de nematodos han sido reportados, y casi siempre los anfibios sirven como huésped definitivo.

También se han encontrado, en muchos casos, larvas enquistadas en las paredes intestinales de varias especies de anfibios o larvas migrando en los órganos de los animales infectados (Smyth y Smyth, 1980).

Dentro de los nematodos más estudiados que se han reportado en Europa, Estados Unidos y Asia, las especies más comunes son *Rhabdias* spp., con una prevalencia del 31% en el noroeste de Estados Unidos; *Aplectana* spp. con una prevalencia del 23% en el Reino Unido; *Cosmocerca* spp., cuya prevalencia ha sido reportada en el Reino Unido con un 81%; *Cosmocercoides* spp., *Oxysomatium* spp., *Falcaustra* spp. con una prevalencia del 50% en ranas toro; *Oswaldocruzia* spp. con una prevalencia del 70% en Estados Unidos y 63% en Gran Bretaña, *Floyella* spp., *Icosiella* spp. y *Acantocephalus ranae* con un 50% de prevalencia en criaderos de ranas en Europa (Flynn, 2007).

Las consecuencias de parasitosis severas pueden ser fatales para los animales infectados e incluyen enteritis, úlceras, obstrucción intestinal, peritonitis, tumoraciones, entre otras. Cabe destacar que muchos de estos parásitos no han sido estudiados a fondo por lo que se desconocen las consecuencias reales de las parasitosis (Flynn, 2007).

En los estudios realizados en países de América del Sur (Argentina, Brasil, Colombia, Guyana, Ecuador, Perú, Venezuela, México, Guatemala, Costa Rica y Paraguay), se identificaron algunos nematodos en necropsias. Las especies reportadas han sido *Acantocephalus correalimai*, *Aplectana* spp., *Capillaria* sp., *Catadiscus cohni*, *Choledocystus* spp., *Creptotrema Lynch*, *Cyndotaenia americana*, *Falcaustra mascula*, *Filaria* sp., *Glypthelmins* spp., *Icosiella neglecta*, *Lanfrediella amphicirrus*, *Mesocoelium* sp., *Ochoterenella* spp., *Oswaldocruzia* spp., *Paraoxyascaris travassosi*, *Physaloptera* sp., *Plagiorchis hepaticus*, *Rhabdias* sp. y *Taenia filariformis* (Reyes-Puig y Trujillo, 2016).

En Ecuador no existen datos de búsquedas de parásitos en heces de anfibios, solamente se reportan huevos o larvas de helmintos del género *Ochoterenella*

de anuros del noroccidente y otros como *Aplectana* y *Oswaldocruzia* que también se han encontrado en el país por medio de necropsias de animales eutanasiados. Sin embargo, no existen reportes de huevos de nematodos encontrados en heces, ni de carga parasitaria (Cabanga, et al., 2009).

2.6 Técnicas parasitológicas

Para la realización de estudios coprológicos en anfibios, las técnicas más importantes son: técnicas de observación directa de heces, sedimentación, técnica de Baermann y flotación con glucosa. Estas se utilizan para la observación de protozoarios y helmintos. En el caso de la observación de nematodos, la más recomendada es la técnica de flotación con glucosa y para la determinación de carga parasitaria, la técnica más utilizada es la de McMaster con solución glucosada, técnica que se aplicará en este estudio (Lemke, Dronen, Fox, y Nambiar, 2008), (Pessier y Mendelson, 2010).

Para cualquiera de las técnicas mencionadas se requiere que la muestra de heces cumpla los siguientes requisitos: Debe ser fresca, una muestra puede almacenarse en refrigeración por hasta dos días, a partir de los cuales deberá ser descartada. Se requiere de uno a cinco gramos de materia fecal para llevar a cabo cualquiera de estas técnicas. La muestra debe encontrarse en un recipiente sellado y estéril (Rundquist, 1999).

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

3.1 Ubicación

El centro de investigación La Balsa de los Sapos se encuentra en el subsuelo de la Facultad de Biología de la PUCE en la ciudad de Quito. El centro está conformado por cuatro salas (A, B, C y E) con distintas temperaturas y humedades de acuerdo con la especie en cautiverio. En cada una de estas salas existen estanterías de tres pisos en las que se encuentran dispuestos los terrarios. Cada terrario está provisto de una fuente de agua que los humedece tres veces al día para mantener los animales en óptimas condiciones. Cada uno está identificado con un número, la especie que contiene y el número de animales que se encuentran en el interior. Además, La Balsa de los Sapos posee un área de crianza de grillos y ratones: alimento de los anfibios que ahí se mantienen (Ortega, 2016).

Las ranas de la especie *Gastrotheca pseustes* se encuentran en la sala B. Es un área fría debido a que su hábitat natural son los páramos, bosque montano occidental y oriental y matorral interandino, de las provincias de Pichincha a Loja, en los que encontramos un clima similar.

3.2 Población y muestra

La población de estudio se encuentra conformada por treinta y seis individuos de la rana marsupial de San Lucas. Se cuenta con dieciocho hembras y dieciocho machos adultos. El número de individuos se encuentra limitado a los animales disponibles en el centro de crianza en el que se realizará el estudio y al tiempo requerido para realizar los muestreos.

3.3

Materiales

- Guantes de examinación
- Mascarilla
- Balanza digital BOECO BBI - 41 ® (BOECO, Alemania)
- Calibrador Scala®
- Recipientes para muestras de heces con paleta
- Etiqueta adhesiva
- Lápiz
- *Cooler*
- Refrigerante
- Refrigeradora Indurama ®
- Balanza de precisión Shimadzu Unibloc Aux220 ® (Shimadzu, Kioto, Japón)
- Agitador de vidrio
- Vasos de precipitación
- Azúcar
- Agua destilada
- Cernidor fino
- Tubos de ensayo de 20 ml con tapa
- Rejilla para tubos de ensayo
- Centrífuga Hettich Rotofix 32 A ® (Hettich, Beverly, Estados Unidos)
- Cámara de McMaster triple Chalex corporation ® (Chalex, Portland, Estados Unidos)
- Microscopio Olympus ® BX51 (Olympus, Tokio, Japón)
- Cámara Olympus ® DP71 (Olympus, Tokio, Japón)
- Software Cellsens de Olympus® (Olympus, Tokio, Japón)

3.4 Metodología

El presente estudio se realizó en dos lugares: el primero en el centro de crianza de La Balsa de los Sapos de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador (PUCE) y el segundo en el laboratorio de microbiología de la Universidad de las Américas (UDLA). Las mediciones de los animales y toma de muestras se realizó en el primer laboratorio, mientras que la investigación, obtención y análisis de resultados, se realizó en la UDLA, el procedimiento seguido para el desarrollo, se describe a continuación:

3.4.1 Mediciones morfométricas

Para medir el peso se colocó cada individuo en un recipiente con tapa previamente pesado, utilizando balanza digital BOECO BBI-41®. En el caso del largo recto boca-cloaca, se tomó la medida con un calibrador Scala® sosteniendo cada animal cuidadosamente. En los procedimientos que implicaron la manipulación de los animales o de heces se utilizaron guantes de látex y mascarilla (Ortega, 2016).

3.4.2 Sexo

La determinación del sexo de cada animal se hizo mediante observación directa del marsupio en las hembras. Se tomó cada animal utilizando guantes y mascarilla y se observó la zona sacra en busca del marsupio en forma de “u”. Las ranas que posean el marsupio fueron clasificadas como hembras.

3.4.3 Tiempo en cautiverio

Los datos de tiempo en cautiverio fueron tomados de la base de datos de la Balsa de los Sapos. Para esto, se buscó uno por uno los números de los terrarios muestreados y se anotó en una tabla de Excel la fecha de instalación de cada uno con su lugar de procedencia.

3.4.4 Colecta de muestras

La Balsa de los Sapos cuenta con un bioterio en el que se crían grillos y ratones y larvas de varios insectos para alimentar a las ranas. En este caso, las

ranas fueron alimentadas con grillos de tamaño mediano (6.5 mm) con suplementación de calcio una vez por semana y con larvas de insectos una vez al mes. Para la alimentación se pusieron los grillos o larvas en una tarrina y se abrió uno a uno los terrarios; se le dió de dos a tres grillos a cada animal o una larva por animal utilizando una pinza larga, procurando darle al menos uno de los grillos en la boca para asegurar la obtención de muestras.

Las muestras se tomaron directamente de los terrarios de la especie seleccionada (*Gastrotheca pseustes*). Al momento de la alimentación de los animales, los terrarios fueron limpiados para facilitar la colecta y evitar la contaminación de las mismas (Personal de la PUCE).

Para la colecta se utilizaron recipientes estériles para muestras de heces con paletas, se usó un recipiente por *pool* de animales. La cantidad de animales y de muestras obtenidas por animal (aproximadamente 0.1 g de heces por animal) limitaron el número de muestreos ya que solo se llegó a tener los 2 gramos necesarios para hacer esta técnica una vez por semana.

Cada recipiente de colección fue identificado con el número de terrarios de los que provino, la especie y la fecha de colecta. Las muestras fueron colectadas dos veces por semana en los días de alimentación durante las semanas que duró el estudio. Las muestras fueron refrigeradas inmediatamente a cuatro grados centígrados para su procesamiento.

3.4.5 Transporte de muestras

Para el transporte desde la PUCE al laboratorio de Microbiología la UDLA, donde se realizó el procesamiento de las muestras, estas se colocaron en un *cooler* con refrigerantes para mantenerlas a la temperatura ideal (cuatro grados centígrados). Al llegar al laboratorio las muestras fueron refrigeradas inmediatamente hasta su procesamiento.

3.4.6 Técnica cuantitativa de McMaster con solución glucosada

Como primer paso, se elaboró la solución saturada de glucosa pesando 4 g de azúcar por cada 10 ml de agua destilada y agitando hasta disolver el azúcar con un agitador manual de vidrio (Cordero del Campillo, et al., 1999). Posteriormente, se pesaron las heces colectadas por *pool* de individuos en un vaso de precipitación previamente pesado. Se mezclaron de uno a dos gramos de heces con solución glucosada en una relación 26: 4 usando el agitador manual de vidrio durante unos segundos. Luego, se cernió la mezcla con un cernidor fino o con gazas (Ver figura 7) y se colocó en un tubo de ensayo de 20 ml con tapa. A continuación se centrifugó la mezcla de heces en solución glucosada a 1500 rpm durante tres minutos (Ver figura 8), se abrió el tubo de ensayo y se retiró el sobrenadante en el que se encontraban pigmentos y residuos vegetales de las heces. Posteriormente, se centrifugó nuevamente a 1500 rpm durante 3 minutos y se tomó el sobrenadante en el que se encontraban los huevos con una jeringa de insulina (Ver figura 9). Este sobrenadante se colocó en uno de los compartimentos de la cámara de McMaster y se observó al microscopio (Ver figura 10) (Bowman, 2014).

El conteo de huevos se realizó con un barrido de izquierda a derecha en zigzag usando el lente de 10X (Bowman, 2014), (Cordero del Campillo, et al., 1999).



Figura 7. Se cernió la mezcla de heces y solución saturada de glucosa utilizando gazas, para retirar los residuos vegetales más grandes.



Figura 8. Se centrifugó la mezcla a 15000 rpm durante 3 minutos.

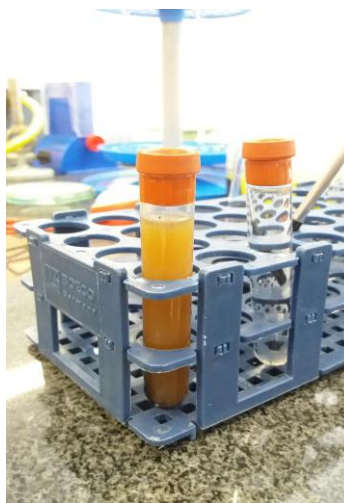


Figura 9. Tubo de ensayo centrifugado y listo para la observación de la muestra. Se puede observar que no existen residuos vegetales en el sobrenadante.

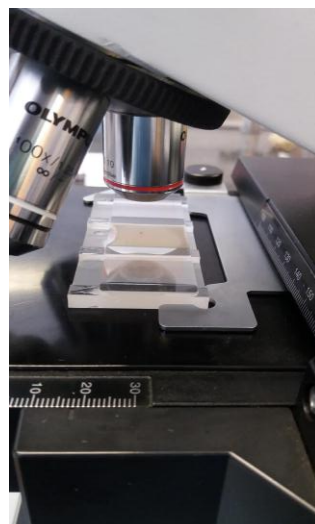


Figura 10. Microscopio listo para la observación con el lente de 10X y la cámara de McMaster cargada con la muestra.

3.4.7 Medición de huevos e Identificación de parásitos

Para la medición de los huevos se utilizó un microscopio Olympus BX51(Olympus, Tokio, Japón) con cámara Olympus DP71 (Olympus, Tokio, Japón) y el software Cellsens de Olympus (Olympus, Tokio, Japón) (Ver figura 11). En este caso se realizó la técnica de McMaster y se colocó la cámara de McMaster bajo el lente de 10X. Se realizó un barrido de izquierda a derecha en zigzag, igual que para el conteo de huevos, Se hicieron 50 mediciones de huevos al azar en cada muestreo utilizando el lente de 20X para las fotos y mediciones. Las medidas se anotaron en una base de datos con el número de identificación de cada foto para su posterior identificación.

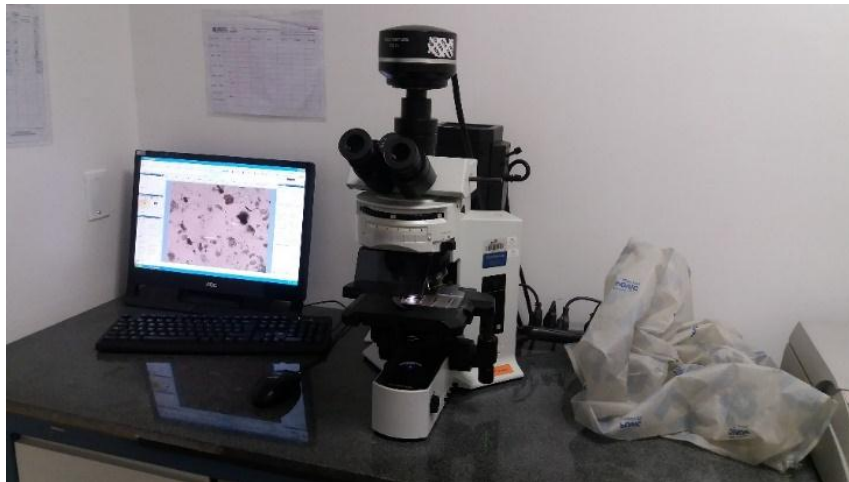


Figura 11. Microscopio con cámara utilizado en la medición de huevos.

En la identificación de los parásitos se utilizaron libros y artículos científicos. Se llegó hasta género o especie de cada parásito encontrado. Además, no existe ningún trabajo que mida carga parasitaria ni clasifique los nematodos en anfibios por las medidas de los huevos. Las medidas encontradas se compararon con estudios realizados en anfibios para tener una noción de las especies que podrían estar parasitando a estos animales. Para poder llegar con certeza a las especies, se debería utilizar métodos moleculares como PCR que son bastante costosos, lo que limita la utilización de estos en el presente estudio.

3.4.8 Análisis de datos

3.4.8.1 Análisis de datos morfométricos y carga parasitaria

Se realizó una base de datos en excel con toda la información obtenida durante el estudio: número de terrario, número de animales, sexo, peso, largo recto boca-cloaca, fecha de muestreo, tiempo en cautiverio, procedencia del animal, peso de la muestra de heces, cantidad de solución glucosada utilizada y carga parasitaria (Ver anexo 1).

3.4.8.2 Análisis de datos para identificación de huevos

Se realizó una amplia búsqueda de literatura sobre los géneros y especies de nematodos en anfibios y los tamaños de los huevos de cada una de estas especies (largo y ancho de los huevos) y se colocó la información hallada en una base de datos (Ver anexo 2). A continuación se comparó esta base de datos con las medidas encontradas y las fotos para así identificar los huevos hallados. Algunas de las medidas correspondieron a varias de las especies, en este caso se tomaron en cuenta todas las posibilidades de especies.

Luego se hizo una tabla en Excel con las medidas de largo y ancho para cada especie de los huevos de este estudio y se juntaron todas las medidas en una tabla. Para cada una de las especies se calculó la frecuencia de aparición, la media, desviación estándar, máximo y mínimo tanto del largo como del ancho de los huevos. Todos los cálculos estadísticos se hicieron en el programa SPSS de IBM.

Se hicieron tablas con las medidas halladas y la información bibliográfica en la cual se hallaron estos datos (Ver resultados y discusión).

3.5 Diseño experimental

3.5.1 Hipótesis

Se encontrarán estructuras compatibles con huevos de nematodos en las heces de los anfibios de la especie *Gastrotheca pseustes* en cautiverio en la Balsa de Los Sapos.

3.5.2 Diseño experimental

Se realizó un estudio observacional de tipo descriptivo de carga parasitaria en heces de anfibios de la especie *Gastrotheca pseustes* en cautiverio, en el cual se quiso saber si existía parásitos nematodos que podrían estar afectando a estos animales con un método no invasivo que cause el menor estrés posible.

Para esto se realizó una amplia búsqueda bibliográfica para elegir correctamente la metodología y poder comparar este estudio con otros similares en los cuales se tengan medidas de huevos de estos parásitos. No se encontraron estudios iguales en anfibios. Sin embargo, se hallaron medidas de huevos de nematodos en estudios de necropsias y se compararon las medidas halladas con esta literatura científica. Esta tesis podría ser una línea base para futuros estudios coprológicos en anfibios.

3.5.2 Análisis estadístico

3.5.2.1 Análisis estadístico para datos morfométricos y carga parasitaria

En primer lugar, se realizó un análisis con estadística descriptiva de cada uno de los datos en el cual se sacó la media, desviación estándar, mínimo y máximo de cada medida morfométrica (peso, largo recto boca-cloaca) y del tiempo en cautiverio. Con estos datos se elaboró una tabla de resultados para carga parasitaria.

Además, se introdujeron los datos de peso, largo recto boca-cloaca, tiempo en cautiverio y carga parasitaria para analizar por una correlación de Pearson si existía una relación entre cada uno de los datos con la carga parasitaria. También se realizaron correlaciones lineales para medir la relación existente entre las variables.

3.5.2.2 Análisis estadístico para identificación de huevos

En este caso se analizó con estadística descriptiva las medidas de largo y ancho de los huevos encontradas para cada especie y se hicieron tablas por

género. Además, se calculó la frecuencia de aparición de cada especie y se hizo un gráfico de barras con los resultados por especie, con el programa IBM SPSS St... 23

CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Carga parasitaria

A continuación, se observa en la tabla 1, la carga parasitaria en huevos por gramo (hpg), tanto de cada fecha de muestreo, como un promedio de la población; así como el número de animales de cada fecha de muestreo, peso, largo recto boca cloaca y el tiempo en cautiverio promedio por muestreo.

Tabla 1
Resultados de carga parasitaria. Promedio± Desviación estándar (Mínimo- Máximo)

Fecha de muestreo	Número de animales (n)	Carga parasitaria (hpg)	Peso (g)	Largo recto boca- cloaca (mm)	Tiempo en cautiverio (Días)
2/7/2017	22	4704	2,20±0,65 (1,20-3,40)	51,80±39,00 (46,50-58,50)	4785,60±541,98 (4106,00-6438,00)
14/7/2017	12	5680	2,16±0,55 (1,50-2,88)	51,00±36,00 (45,50-57,10)	4765,00± 335,01 (4362,00-5159,00)
21/7/2017	6	4870	2,29±0,68 (1,49-3,08)	51,30±25,00 (48,30-55,10)	4700,17± 338,19 (4125,00-5166,00)
18/8/2017	16	4656	2,34±0,66 (1,49-3,40)	52,10±35,00 (4,72-5,71)	4631,25± 430,39 (4111,00-5347,00)
21/8/2017	10	4272	2,40±0,58 (1,67-3,40)	51,90±38,00 (45,50-57,10)	4442,50± 187,34 (4156,00-4724,00)
24/8/2017	7	5096	2,53±0,54 (1,73-3,12)	52,40±22,00 (50,40-56,20)	4777,50± 407,89 (4159,00-5200,00)
28/8/2017	16	4176	2,55±0,60 (1,49-3,40)	51,80±41,00 (42,20-57,10)	4684,73± 409,07 (3938,00-5204,00)
1/9/2017	13	3648	2,52±0,59 (1,49-3,22)	54,10±33,00 (48,30-56,90)	4604,90± 366,83 (3942,00-5109,00)
4/9/2017	27	3072	2,16±0,57 (1,20-3,40)	52,8±37,00 (47,00-58,70)	4697,00± 612,75 (3945,00-6502,00)
12/9/2017	9	4760	2,11±0,45 (1,67-3,12)	51,50±39,00 (45,50-58,70)	4647,78± 392,35 (4039,00-5187,00)
18/9/2017	5	4192	2,07±0,57 (1,54-2,88)	53,30±22,00 (50,00-56,20)	4472,20± 276,40 (4184,00-4933,00)
Total	56	4305,47± 740,99 (3072- 5680)	2,29±0,59 (1,20-3,40)	52,20±35,00 (42,20-58,70)	4670,47± 440,70 (3938,00-6502,00)

*hpg= huevos por gramo, g= gramos, mm= milímetros.

4.1.1. Número de animales

El número total de animales muestreados fue de 56 (Ver tabla 1) entre machos (29) y hembras (27), algunos de los animales se repitieron en varias fechas de muestreo y algunos terrarios contenían dos animales por lo cual fue difícil saber exactamente de qué animal venía cada muestra, en este caso se tomaron en cuenta todos los animales del terrario. Además, este estudio dependió completamente de obtener las muestras de heces de los animales de forma natural, sin interferir en la digestión normal de los mismos para provocar el menor estrés posible.

No fue permitido separar los animales por la misma razón del estrés, lo que podría alterar los resultados o causar la aparición de otras patologías (Peterson, et al., 2013). Se sabe que los animales con niveles de elevados de corticoesteroides por estrés desarrollan fácilmente enfermedades parasitarias, bacterianas o fúngicas en las que la flora normal de estos tiende a patogenizarse causando enfermedades fatales en muchos casos; que pueden agravarse en animales en cautiverio debido al hacinamiento (Narayan, 2013).

4.1.2 Tiempo en cautiverio

El tiempo en cautiverio medio fue de 4670,47 días (12.97 años) con una desviación estándar de 440,70 días (1.22 años), un rango entre 3938 días (10.79 años) y 6502 días (17.81 años) (Ver tabla 1). No se sabe con exactitud la edad de los animales, debido a que todos estos fueron colectados de campo y no se conoce su fecha de nacimiento real. Además, no se conoce el tiempo de vida medio de la rana marsupial de San Lucas ni en cautiverio ni en vida libre, por lo que se requieren más estudios de parámetros biológicos y fisiológicos de esta especie.

Por lo tanto, estos datos no se pueden comparar con datos reales de *Gastrotheca pseustes*. Sin embargo, datos de otras especies de anfibios en cautiverio como *Ceratophrys* spp, *Dendrobates azureus* y *Rana clamitans melanota* indican que estos anuros tienen una vida en cautiverio de entre 10 y

15 años. Esto podría indicar que son animales sumamente longevos o que han tenido una vida en muy buenas condiciones de manejo (Cando, 2017).

Sin embargo, en varios de los animales muestreados se vieron signos de enfermedades como el síndrome de edema, lo que sugiere que aún es importante mejorar las condiciones de cautiverios de los animales (Rosamond Glifford Zoo education volunteers, 2006), (The Pennsylvania State University, 2002).

4.1.3 Largo recto boca-cloaca

El largo boca-cloaca promedio para la especie fue de 52,20 mm con una desviación estándar de 35,00 mm y un rango entre 42,20 mm y 58,70 mm (Ver tabla 1). Estas medidas encajan dentro de los rangos normales de la especie (3,83 cm – 6,24 cm) (Duellman y Hills, 1987).

En cuanto al largo por sexos, en hembras (n= 27) fue de 53,40 mm con una desviación estándar de 3,00 mm y un rango entre 45,50 mm y 58,80 mm; mientras que en machos (n= 29) fue de 50,90 mm con una desviación estándar de 3,50 mm y un rango entre 42,20 mm y 58,70 mm (Ver tabla 1). Estas medidas se compararon con un estudio realizado por Duellman y Hills (1987) en el cual se tomaron las medidas de 69 hembras y 69 machos de esta especie. Las medidas de hembras fueron de 49,60 mm con una desviación estándar de 5,69 mm y un rango entre 36,00 mm y 62,40 mm y en machos 46,40 mm con una desviación estándar de 3,68 mm y un rango entre 38,3 mm y 54,4 mm.

Según estos datos, se puede observar que el rango de tamaño en hembras encaja con los rangos encontrados en este estudio, aunque la media es mayor mientras que el rango de tamaño de machos es un poco mayor, así como la media. Se cree que esto puede deberse a que se trata de animales en cautiverio en comparación a los animales del estudio en el que estos fueron colectados de su hábitat natural, otra razón para esta variación podría ser la

edad de los animales, ya que en el estudio se utilizaron tanto subadultos como adultos; mientras que en este trabajo se trata de adultos. Así mismo, podría deberse al tamaño menor de la muestra en esta tesis.

Esto podría indicar que posiblemente los animales no sufren un estrés por cautiverio. Sin embargo, para afirmar que no se encuentran estresados sería necesario realizar estudios más profundos tomando en cuenta parámetros hormonales específicos (Narayan, 2013).

4.1.4 Peso

El peso promedio de los animales muestreados fue de 2,29 g, con una desviación estándar de 0.59 g y un rango entre 1,20 g y 3,40 g (Ver tabla 1). No se conoce los pesos normales para esta especie, sin embargo, los animales tuvieron pesos uniformes y un rango normal de tamaño; por lo que se cree que se encuentran en un peso normal.

4.1.5 Carga parasitaria

La carga parasitaria promedio de la población fue de 4305,47 hpg con una desviación estándar de 740,99 hpg y un rango que varió entre 3072 hpg y 5680 hpg (Ver tabla 1). No existen estudios previos de carga parasitaria de nematodos gastrointestinales en anuros por lo que no se puede saber con exactitud si es una carga parasitaria normal para estos animales en cautiverio.

Sin embargo, durante los muestreos morfométricos, el largo recto boca-cloaca tuvo parámetros normales y los pesos fueron uniformes. Esto nos hace pensar que los animales se encuentran en buen estado y, por lo tanto, se podría creer que la carga parasitaria obtenida es normal en esta especie en cautiverio. Además, es importante mencionar que, en una tesis de causas de muerte en estos mismos animales realizada anteriormente por Cando (2017) no se vieron parasitosis que hayan sido causa de muerte para los animales, lo que también es un indicio de que no es un problema mayor.

A pesar de esto, varios de los animales muestreados tuvieron signos de enfermedad a lo largo del tiempo de muestreo como diarreas y algunos se encontraban con síndrome de edema. Es así que, no se puede saber con exactitud si los parásitos ocasionan o son parte de los factores que podrían estar causando enfermedades clínicas o subclínicas en los animales, a pesar de no causarles la muerte.

Es por eso que, sería importante realizar nuevos estudios de carga parasitaria de anuros en cautiverio para saber con certeza los parámetros normales y la relación real que existe entre esta y las patologías presentes en estos anuros.

4.2 Géneros y especies de parásitos encontradas

Según la bibliografía de los géneros de parásitos hallados, los huevos de estos nematodos pueden encontrarse en forma de mórula o de larva, en este caso fueron encontrados en ambas formas según la especie. En todas las bibliografías encontradas la metodología utilizada para la medición de los huevos fue mediante necropsia del anfibio con mediciones de los huevos dentro de la hembra del parásito adulto previa a la ovoposición (Dyer, 1990), (González y Hamann, 2016), (González, Quiroga, Moreno, y Sanabria, 2013), (Navarro, Lluch, e Izquierdo, 1989), (Patterson-Kane, Eckerlin, Lyons, y Jewell, 2001), (Pessier y Mendelson, 2010), (Slimane y Durette-Desset, 1995).

No existen estudios de huevos de nematodos en anfibios en los que se tengan las medidas de los huevos en las heces de los anfibios vivos. Por lo tanto, las medidas podrían variar. Este es el primer estudio en realizar exámenes coprológicos de anuros *in vivo*, por lo tanto, es una primera prospección que podría servir de base para nuevas investigaciones que se realicen en este campo.

En el estudio de González, Quiroga, Moreno y Sanabria (2013), se compararon los tamaños de los parásitos y huevos en anuros de distintas especies de diferentes tamaños y se encontró que el tamaño de los parásitos y huevos

variaba según la especie de anuro (Para mayor descripción, ver el capítulo de la especie *Aplectana hylambatis*). Por lo tanto, el tamaño de los huevos encontrados podría no coincidir realmente con las especies que se enlistarán a continuación. Es por eso que, sería importante realizar estudios de identificación por biología molecular de los parásitos presentes en la rana marsupial de San Lucas en cautiverio en la Balsa de Sapos para confirmar o descartar las especies halladas en esta primera pesquisa. Hubieron algunos huevos que no se lograron identificar debido a falta de literatura sobre parasitología en anfibios de esta especie.

Como se puede observar en la figura 12, las especies encontradas con mayor frecuencia según la identificación realizada por los tamaños de los huevos fueron: *Aplectana delirae*, *Pteroxyascaris caudacutus*, *Oxyascaris caudacutus*, *Oswaldocruzia subauricularis* y *Cosmocerca podicipinus* en orden de importancia. Además podemos observar que existe una alta frecuencia de huevos no identificados. Esto se debe a la falta de información acerca de la identificación de huevos en anfibios, lo que quiere decir que es necesaria la realización de más esfuerzos de este tipo.

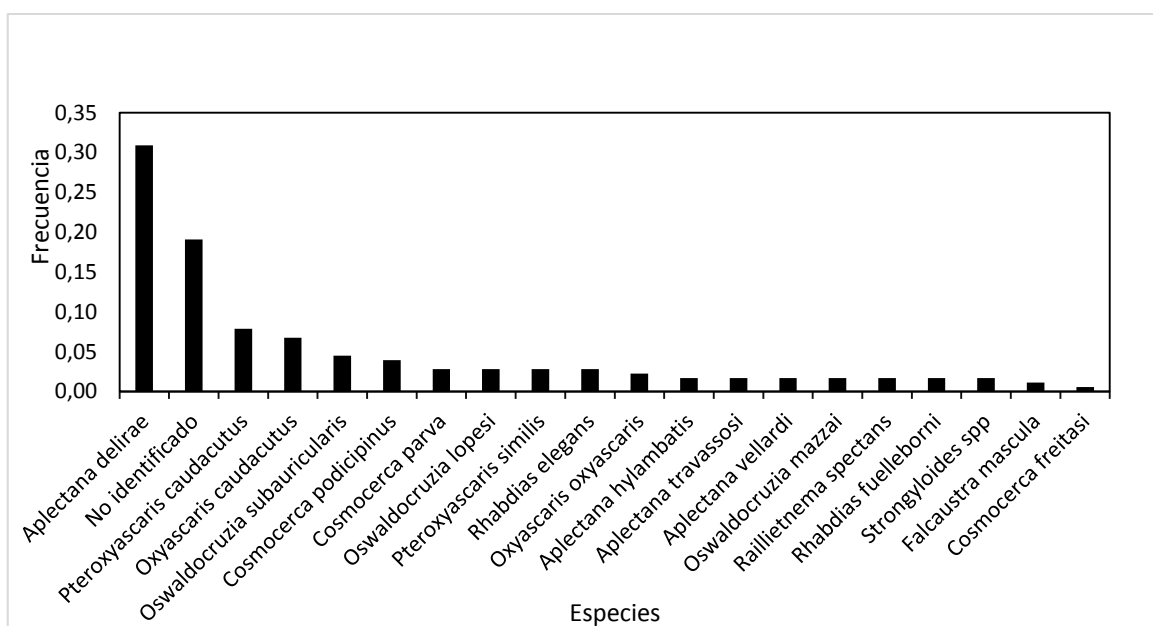


Figura 12. Frecuencia de huevos hallados por especie de mayor a menor.

A continuación, se describirá cada uno de los géneros y especies encontradas en este estudio.

4.2.1 Género *Aplectana*

El promedio de largo de los huevos para este género fue de 58,92 μm , mientras que el promedio de ancho fue de 40,34 μm . La desviación estándar es bastante alta debido a la variación de tamaños en las especies halladas. En la tabla 2. Se puede observar, a la izquierda, las dimensiones de los huevos encontradas (promedio, desviación estándar, mínimo y máximo) y a la derecha las referencias bibliográficas de huevos compatibles con estas medidas (Rangos de medidas).

Tabla 2

Comparación de las dimensiones de los huevos encontrados compatibles con especies del género *Aplectana* y estudios relacionados. Promedio± Desviación estándar (Mínimo- Máximo)

Genero/ Especies	Dimensiones (µm)		Otros estudios			
	Largo (µm)	Ancho (µm)	Vicente, Rodrigues, Gomes, & Pinto, 1991	González, Quiroga, Moreno, & Sanabria, 2013	Dyer, 1990	
			Largo (µm)	Ancho (µm)	Largo (µm)	Ancho (µm)
<i>Aplectana</i>	58,92± 13,90 (48,22-108,04)	40,34±7,49 (34,75-67,86)				
<i>Aplectana delirae</i>	54,04± 3,81 (48,22-64,83)	37,97±2,41 (34,75-48,84)	49-66	35-53		
<i>Aplectana hylambatis</i>	71,79± 14,56 (55,01-81,17)	40,76±2,33 (38,57-43,21)			50-100	36-102
<i>Aplectana travassosi</i>	104,13± 4,50 (99,22-108,04)	65,92±1,76 (64,43-67,86)			97-111	56-72
<i>Aplectana vellardi</i>	90,43± 1,49 (88,95-91,93)	57,83±2,04 (55,91-59,98)	64-92	53-64		

Nota. Adaptado de: Vicente, Rodrigues, Gomes, & Pinto (1991)

4.2.1.1 *Aplectana delirae*

Según un estudio realizado por Vicente, Rodrigues, Gomes, y Pinto (1991) en el cual se ejecutó la medición de los huevos de esta especie en un anuro de vida libre de la especie *Bufo crucifer* de Rio de Janeiro, Brasil, el parásito adulto fue encontrado en el intestino grueso de este anfibio. No existe una descripción mayor de los huevos, solamente su rango de tamaño que va de 49-66 μm de largo y de 35-53 μm de ancho, lo que es semejante a las medidas encontradas en esta tesis (Ver tabla 2). Se puede observar el huevo encontrado a continuación en la figura 13.

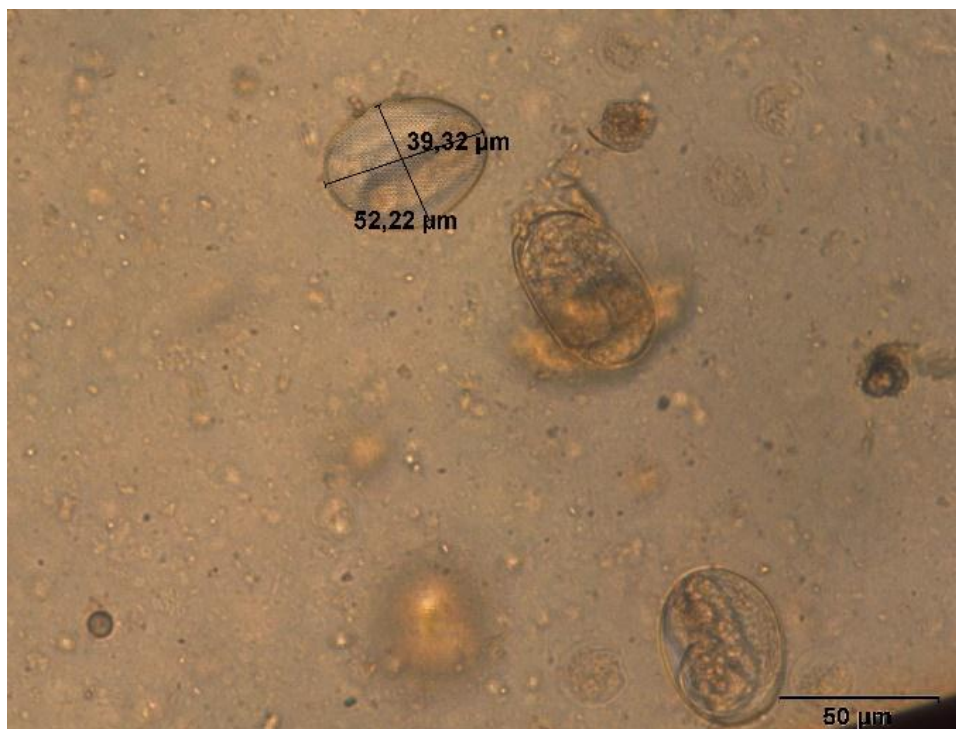


Figura 13. Huevo compatible con la especie *Aplectana delirae* por sus dimensiones (52.22 μm x 39.32 μm). Se observa un huevo de nematodo de tipo Strongiloide larvado. 20x.

Esta fue la especie que se encontró con una mayor frecuencia en este primer sondeo de nematodos en heces. En una investigación realizada por Boquimpani-Freitas, et al. (2001) en Brasil, en anfibios de la especie *Proceratophrys appendiculata* también tuvieron una alta prevalencia con un 76.5% seguida por *Cosmocerca brasiliense* (29.4%).

En otro estudio realizado en “Corrientes” por González y Hamann (2016) también se encontró esta especie de nematodo con una alta prevalencia (33%) en los anuros de las especies *Leptodactylus elenae* y *Leptodactylus podicipinus*. Fue la segunda mayor prevalencia después de la especie *Cosmocerca podicipinus* (43%).

4.2.1.2 *Aplectana hylambatis*

Se encontró que, para esta especie, los huevos tuvieron unas dimensiones de 71,79 μm de largo, con una desviación estándar de 14,56 μm y un rango entre 55,01 μm y 81,17 μm , de ancho se obtuvo 40,76 μm de largo con una desviación estándar de 2,33 μm y un rango entre 38,57 μm y 43,21 μm . Estas medidas fueron muy similares a las que se encontraron en las investigaciones que se describen a continuación.

En el trabajo realizado por González, Quiroga, Moreno, y Sanabria (2013) las mediciones de los huevos se hicieron en ocho ejemplares de vida libre de la especie *Rhinella arenarum* en la provincia de San Juan, Argentina. Los parásitos fueron hallados tanto en intestino grueso como delgado. Se compararon medidas realizadas en investigaciones previas en otras especies de anuro y en otros lugares de Argentina. Se encontró diferencias en el tamaño de los huevos y parásitos según la especie de anuro y el lugar de muestreo. Esto podría indicar, como se explicó anteriormente, que los huevos hallados para la especie de anuro *Gastrotheca pseustes* en esta tesis podrían corresponder a otras especies de nematodos.

Es así que, para la especie *Rhinella arenarum* de la provincia de San Juan, Argentina, la longitud y ancho de los huevos fue de 83-85 μm y de 36-43 μm respectivamente; para la especie *Rhinella arenarum* en la provincia de La Plata, Buenos Aires, las dimensiones encontradas fueron de 83-102 μm de largo y de 50-63 μm de ancho y en la especie *Physalemus santafecinus* de la provincia de Corrientes, Argentina, se hallaron medidas de 78-100 μm de largo y 53-60 μm de ancho para los huevos de la especie *Aplectana hylambatis*. No

existe descripción de los huevos. Sin embargo, los tamaños son compatibles con las medidas encontradas (Ver tabla 2). Se puede observar uno de los huevos fotografiados a continuación en la figura 14.



Figura 14. Huevo compatible con la especie *Aplectana hylambatis* por sus dimensiones (79.18 μm x 40.50 μm) (Ver tabla 2). Se observa un huevo de nematodo de tipo strongiloide larvado. 20x.

4.2.1.3 *Aplectana travassosi*

Esta especie se registró en anfibios de vida libre la especie *Leptodactylus mystaceus* en Ecuador. Los parásitos fueron hallados en el intestino grueso de los ejemplares explorados. Los huevos se describen como ovalados, con una pared fina, algunos de los huevos con una larva completamente formada. Las medidas halladas fueron de 97-104 μm de largo y 56-72 μm de ancho (Dyer, 1990).

En este trabajo se hallaron huevos compatibles con estas dimensiones y descripción (Ver tabla 2). A continuación, en la figura 15 se muestra uno de los huevos.

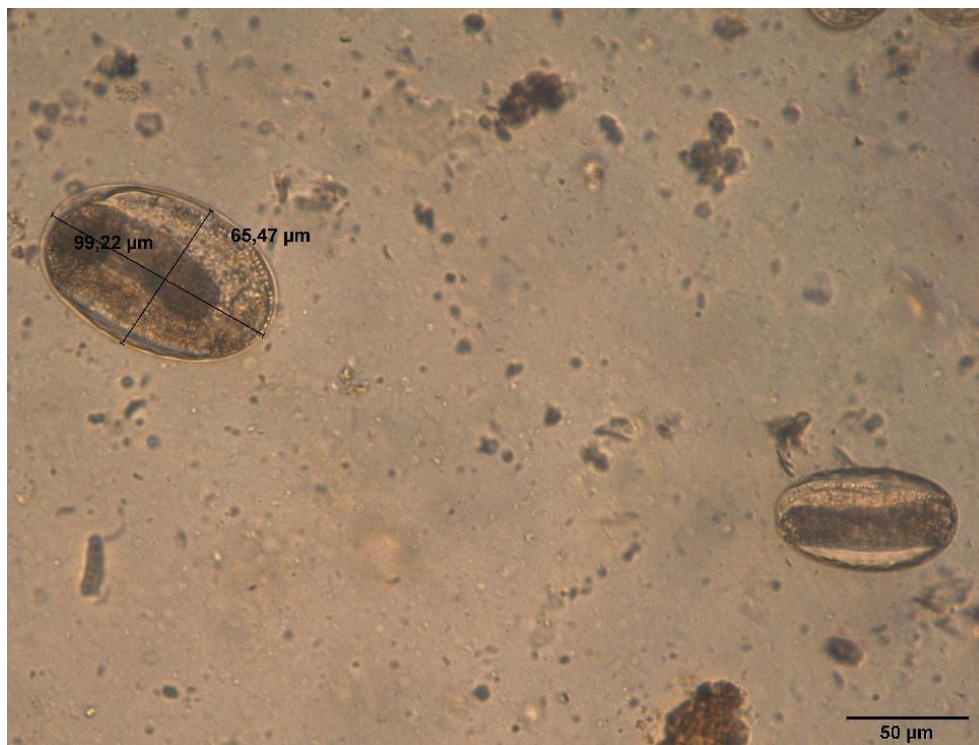


Figura 15. Huevo compatible con la especie *Aplectana travassosi* por sus dimensiones (99.22 μm x 65.47 μm) y descripción (Ver tabla 2). Se observa un huevo de forma ovalada, de pared fina, con una larva de nematodo bien formada en su interior. 20x.

4.2.1.3 *Aplectana vellardi*

Esta especie de nematodo fue encontrada en intestino de anfibios de la especie *Bufo marinus* en São Paulo, Brasil de acuerdo a lo mencionado por Vicente, Rodrigues, Gomes, y Pinto (1991) en su estudio, las medidas para los huevos fueron de 64-92 μm de largo y 53-64 μm de ancho.

No se encuentra descripción de los huevos. Sin embargo, los tamaños son compatibles con los hallados en esta primera exploración (Ver tabla 2). Se puede observar uno de los huevos encontrados a continuación en la figura 16.

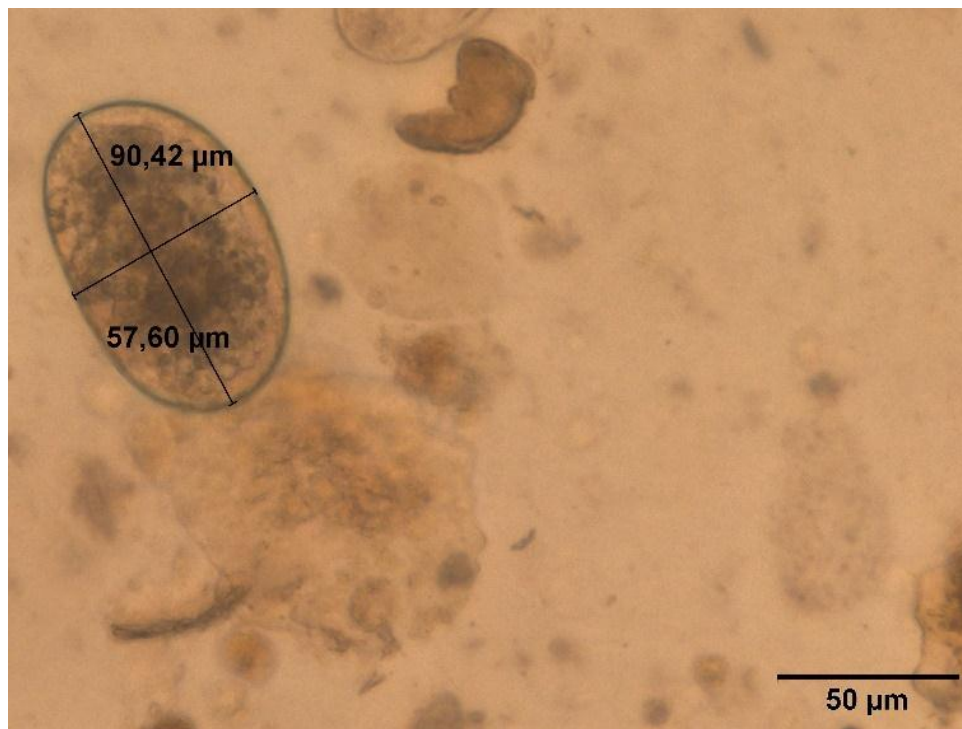


Figura 16. Huevo compatible con la especie *Aplectana vellardi* por sus dimensiones (90.42 μm x 57.60 μm) (Ver tabla 2). Se observa un huevo morulado.20x.

4.2.2 Género *Cosmocerca*

El promedio de largo de los huevos para este género fue de 95,42 μm , mientras que el promedio de ancho fue de 61,10 μm . La desviación estándar es de 6,40 μm para el largo y de 5,16 μm para el ancho. Se hallaron medidas semejantes a tres especies de este género: *Cosmocerca freitasi*, *Cosmocerca parva* y *Cosmocerca podicipinus*. En la tabla 3. Se puede observar, a la izquierda, las dimensiones de los huevos encontradas (promedio, desviación estándar, mínimo y máximo) y a la derecha las referencias bibliográficas de huevos correspondientes a estas medidas (Rangos).

Tabla 3

Comparación de las dimensiones de los huevos encontrados compatibles con especies del género *Cosmocerca* y estudios relacionados. Promedio± Desviación estándar (Mínimo- Máximo)

Género /Especies	Dimensiones (µm)		Otros estudios			
	Largo (µm)	Ancho (µm)	Vicente, Rodrigues, Gomes, & Pinto, 1991	Largo (µm)	Ancho (µm)	González & Hamann, 2008
<i>Cosmocerca</i>	95,42± 6,40 (79,67-105,14)	61,10±5,16(51,44-71,69)				
<i>Cosmocerca freitasi</i>	79,67	51,44	78-87	52		
<i>Cosmocerca parva</i>	96,91± 5,34 (91,93-105,14)	61,29±3,47(57,61-65,47)	112	62	91-116	57-78
<i>Cosmocerca podicipinus</i>	96,61± 4,25 (93,24-105,14)	62,35±5,28(56,76-71,69)			92-108	55-76

Nota. Adaptado de: Vicente, Rodrigues, Gomes, & Pinto (1991)

4.2.2.1 *Cosmocerca freitasi*

Solo se encontró un huevo compatible con esta especie de nematodo. Por esta razón no existe desviación estándar ni rangos de medidas (79,67 μm de largo y 51,44 μm de ancho) (Ver tabla 3). Las dimensiones fueron comparadas con una investigación realizada por Vicente, Rodriguez, Gómez y Pinto (1991) en la cual el parásito fue hallado en el intestino grueso de un anfibio de la especie *Hyla fuscovaria* de Itaguaí, Brasil. Según este estudio las medidas de los huevos hallados dentro de la hembra del parásito *Cosmocerca freitasi* fueron de 78 μm a 87 μm de largo y 52 μm de ancho.

A continuación, en la figura 17 se puede observar el huevo de *Cosmocerca freitasi* encontrado.

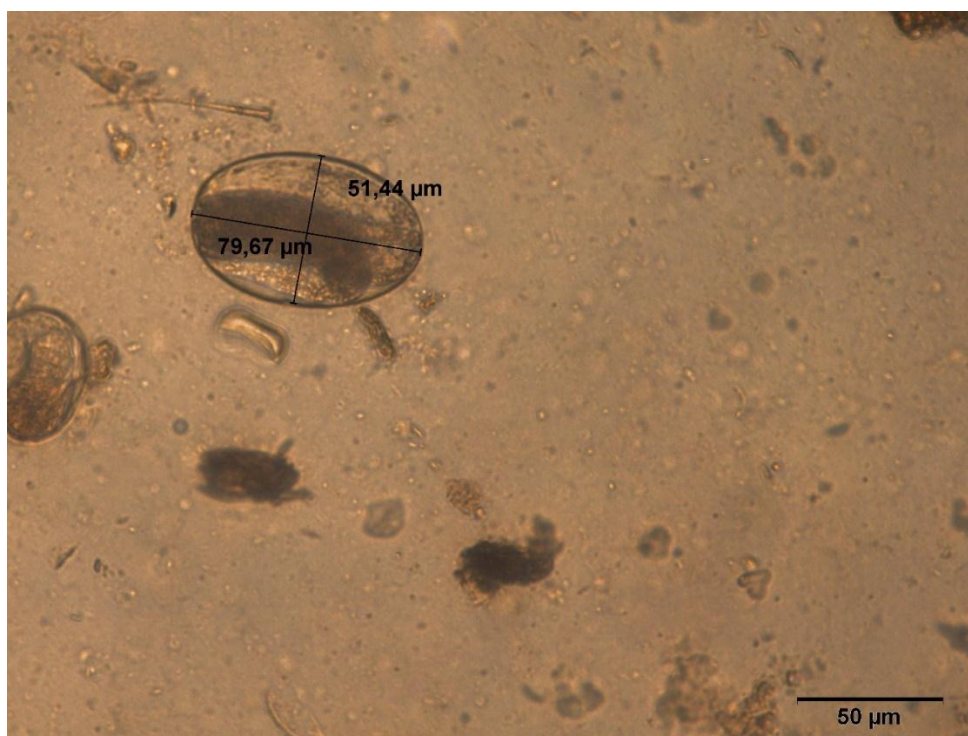


Figura 17. Huevo compatible con la especie *Cosmocerca freitasi* por sus dimensiones (79,67 μm x 51,44 μm) (Ver tabla 3). Se observa un huevo larvado.20x.

4.2.2.2 *Cosmocerca parva*

Los tamaños encontrados para esta especie fueron de 96,91 μm de largo con una desviación estándar de 5,34 μm y un rango entre 91,93 μm y 105,14 μm y de ancho una media de 61,29 μm con una desviación estándar de 3,47 μm y un rango entre 57,61 μm y 65,47 μm .

Estas medidas fueron similares a un registro realizado por Vicente, Rodríguez, Gómez y Pinto (1991) en el cual los parásitos adultos se hallaron en intestino grueso de la especie de anuro *Bufo crucifer* en Brasil y los huevos fueron descubiertos dentro de la hembra grávida con medidas de 112 μm de largo y 62 μm de ancho.

Además de este estudio, se encontró otro realizado por González y Hamann (2016) en el cual se hallaron especímenes de la especie *Cosmocerca parva* en el intestino de anfibios de las especies *Rhinella schneideri* y *Scinax acuminatus*. En esta investigación se encontraron huevos dentro de las hembras con un largo y ancho de 91-116 μm y 57-78 μm respectivamente. No se tiene una descripción de los huevos pero las medidas son equivalentes a los huevos encontrados.

A continuación, en la figura 18 se muestra una foto de los huevos con las medidas.



Figura 18. Huevo compatible con la especie *Cosmocerca parva* por sus dimensiones (99,22 μm x 65,47 μm) (Ver tabla 3). Se observa un huevo larvado.20x.

4.2.2.3 *Cosmocerca podicipinus*

El ancho y largo medio para los huevos de esta especie de nematodo fue de 96,61 μm y 62,35 μm respectivamente (Ver tabla 3). Estas dimensiones fueron equiparables a las medidas encontradas por González y Hamann (2008) en un estudio realizado en Corrientes, Argentina; en el cual los huevos fueron extraídos del interior de la hembra grávida, de las especies de anuro *Rhinella schneideri* y *Scinax acuminatus*. En este trabajo las medidas fueron 92-108 μm de largo y 55-76 μm de ancho.

A continuación, en la figura 19 se muestra un huevo compatible con esta especie por las mediciones realizadas.



Figura 19. Huevo compatible con la especie *Cosmocerca podicipinus* por sus dimensiones (94,70 µm x 58,95 µm) (Ver tabla 3). Se observa un huevo larvado. 20x.

4.2.3 Género *Falcaustra*: *Falcaustra mascula*

Se encontró una especie de este género cuyos huevos fueron compatibles con los hallados en esta investigación según sus tamaños. Las dimensiones encontradas para este género fueron de 53,47 µm de largo con una desviación estándar de 0,18 y un rango entre 53,34 µm y 53,60 µm; y de 39,27 µm de ancho con una desviación estándar de 0,65 µm y un rango entre 38,81 µm y 39,73 µm. Al haber hallado una sola especie estas medidas también corresponden a la especie *Falcaustra mascula* (Ver tabla 4).

Los huevos fueron similares con las medidas halladas por Vicente, Rodríguez, Gómez y Pinto (1991) para huevos de esta especie. Esta pesquisa fue realizada en Brasil y los nematodos fueron hallados en intestino grueso de la especie de anuro *Bufo paracnemis*. Los huevos fueron medidos dentro de la hembra grávida (53 µm de largo y 39 µm de ancho).

Tabla 4
 Comparación de las dimensiones de los huevos encontrados compatibles con especies del género *Falcaustra* y estudios relacionados. Promedio \pm Desviación estándar (Mínimo- Máximo)

Género /Especies	Dimensiones (μm)		Otros estudios	
	Largo (μm)	Ancho (μm)	Vicente, Rodrigues, Gomes, & Pinto, 1991	
			Largo (μm)	Ancho (μm)
<i>Falcaustra mascula</i>	53,47 \pm 0,18 (53,34-53,60)	39,27 \pm 0,65 (38,81-39,73)	53	39

Nota. Adaptado de: Vicente, Rodrigues, Gomes, y Pinto, 1991

4.2.4 Género *Oswaldocruzia*

Se hallaron huevos semejantes a tres especies de este género que serán descritas a continuación: *Oswaldocruzia lopesi*, *O. mazzai* y *O. subauricularis* (Ver tabla 5).

Para el género *Oswaldocruzia*, la media de tamaño de los huevos fue de 90,42 μm de largo con una desviación estándar de 3,98 μm y un rango entre 82,24 μm y 98,66 μm ; mientras que el ancho fue de 55,89 μm de media con una desviación estándar de 3,58 μm y un rango entre 47,24 μm y 59,98 μm .

Tabla 5

Comparación de las dimensiones de los huevos encontrados compatibles con especies del género *Oswaldocruzia* y estudios relacionados. Promedio± Desviación estándar (Mínimo- Máximo)

Género /Especies	Dimensiones (µm)		Otros estudios		
	Largo (µm)	Ancho (µm)	Largo (µm)	Ancho (µm)	Ancho (µm)
<i>Oswaldocruzia</i>	90,42± 3,98 (82,24-98,66)	55,89±3,58(47,24-59,98)			
<i>Oswaldocruzia lopesi</i>	90,28± 1,86 (87,89-92,20)	57,30±1,98(54,89-59,98)	80-92	50-59	
<i>Oswaldocruzia mazzai</i>	85,24± 3,41 (82,24-88,95)	50,64±4,63(47,24-55,91)	80-88	46-56	85 50
<i>Oswaldocruzia subauricularis</i>	92,45± 3,53 (87,89-98,66)	56,97±2,13(53,55-59,98)	92	67	85-100 50-60

Nota: Adaptado de: Vicente, Rodrigues, Gomes, y Pinto, 1991

4.2.4 1 *Oswaldocruzia lopesi*

Las dimensiones halladas para esta especie fueron de 90,28 μm de largo con una desviación estándar de 1,86 μm y un rango entre 87,89 μm y 92,20 μm y de 57,30 μm de ancho con una desviación estándar de 1,98 μm y un rango entre 54,89 μm y 59,98 μm . Estas medidas fueron similares a un trabajo anterior en el cual se encontraron huevos de esta especie dentro de la hembra del nematodo (Dimensiones: 80-92 μm de largo y 50-59 μm de ancho). Esta investigación se realizó en Brasil con anuros de varias especies, el nematodo *Oswaldocruzia lopesi* fue hallado en intestino delgado de anuros de la especie *Leptodactylus ocellatus* (Vicente, Rodrigues, Gomes, y Pinto, 1991).

A continuación, en la figura 20 se muestra un huevo encontrado con las mediciones realizadas.



Figura 20. Huevo compatible con la especie *Oswaldocruzia lopesi* por sus dimensiones (92,20 μm x 58,12 μm) (Ver tabla 5). Se observa un huevo morulado. 20X

4.2.4 2 *Oswaldocruzia mazzai*

Para esta especie se obtuvo una media de largo y ancho de 85,24 μm y 50,64 μm respectivamente (Ver tabla 5).

En un registro de nematodos realizado por Slimane y Durette-Desset (1995), se hallaron dimensiones que fueron correspondientes a los huevos de nematodo encontrados en esta tesis: 85 μm de longitud y 50 μm de ancho asimismo los huevos fueron descritos como morulados, lo que también concuerda con los huevos hallados para esta tesis. En este caso, los nematodos fueron extraídos del intestino de bufonidos de Brasil.

En Brasil, en otra investigación, se encontró nematodos de esta especie en el intestino de anuros de la especie *Bufo marinus*, el tamaño de los huevos fue de 80-88 μm de largo y de 46-56 μm de ancho (Vicente, Rodrigues, Gomes, y Pinto, 1991), datos semejantes a los que encontrados en esta tesis.

En la siguiente figura (Figura 21), se muestra una foto compatible con los huevos de esta especie por sus dimensiones y descripción.



Figura 21. Huevo compatible con la especie *Oswaldocruzia mazzai* por sus dimensiones y descripción (88,95 µm x 55,91 µm) (Ver tabla 5). Se observa un huevo morulado. 20X

4.2.4 3 *Oswaldocruzia subauricularis*

En este caso, la media de largo y ancho para los huevos de este nematodo fue de 92,45 µm y 56,97 µm respectivamente. Las medidas fueron equivalentes en largo y ancho con un estudio realizado por Slimane & Durette-Desset (1995) en bufonidos de Brasil y Ecuador. Se hallaron los nematodos en intestino grueso y los huevos morulados tuvieron dimensiones con rangos de 85-100 µm de largo y 50-60 µm de ancho.

Además, en otro estudio previo, realizado por Vicente, Rodrigues, Gomes, & Pinto (1991) se encontraron medidas de 92 µm de largo y 67 µm de ancho. Los largos son compatibles con este estudio, sin embargo, los anchos no coinciden. A continuación, en la figura 22, se muestra una foto de uno de los huevos que fue compatible con las medidas y descripción para los huevos de esta especie de nematodo.

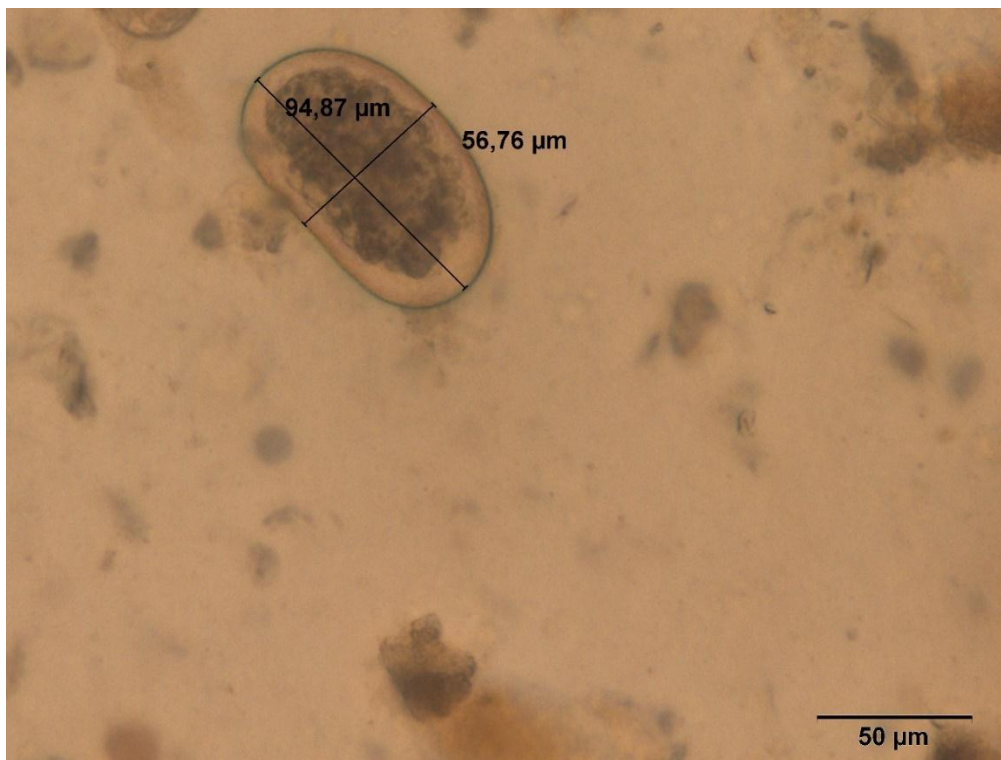


Figura 22. Huevo compatible con la especie *Oswaldocruzia subauricularis* por sus dimensiones y descripción (94,87 μm x 56,76 μm) (Ver tabla 5). Se observa un huevo morulado.20x

4.2.5 Género *Oxyascaris*

Las medidas halladas para los huevos de este género fueron de 81,36 μm de largo, con una desviación estándar de 8,55 μm y rangos entre 70,79 μm y 95,53 μm . En cuanto al ancho de los huevos, este fue de 52,42 μm con una desviación estándar de 5,07 μm y un rango entre 46,60 μm y 61,56 μm . Se encontraron dos especies de este género que fueron análogas a las mediciones realizadas: *Oxyascaris caudacutus* y *Oxyascaris oxyascaris*. Las dimensiones halladas para cada especie se pueden ver en la tabla 6 y se describen a continuación.

Tabla 6

Comparación de las dimensiones de los huevos encontrados compatibles con especies del género *Oxyascaris* y estudios relacionados. Promedio± Desviación estándar (Mínimo- Máximo)

Género /Especies	Dimensiones (µm)		Otros estudios			
	Largo (µm)	Ancho (µm)	Vicente, Rodrigues, Gomes, & Pinto, 1991	González & Hamann, 2008	Largo (µm)	Ancho (µm)
<i>Oxyascaris</i>	81,36± 8,55 (70,79-95,53)	52,42±5,07(46,60-61,56)				
<i>Oxyascaris caudacutus</i>	79,64± 7,71 (70,79-95,53)	51,21±4,68(46,60-61,56)			69-103,50	46-62,10
<i>Oxyascaris oxyascaris</i>	86,54± 10,01 (76,24-95,53)	56,04±4,99(51,41-61,56)	76-105			50-63

Nota: Adaptado de: Vicente, Rodrigues, Gomes, y Pinto, 1991

4.2.5.1 *Oxyascaris caudacutus*

Los huevos de esta especie fueron de 79,64 μm de largo con una desviación estándar de 7,71 μm y un rango entre 70,79 μm y 95,53 μm . Para el ancho, fueron de 51,21 μm con una desviación estándar de 4,68 μm y un rango entre 46,60 μm y 61,56 μm (Ver tabla 6).

Las medidas fueron muy similares a otras realizadas por González y Hamann (2008), en este estudio se midieron los huevos de esta especie de nematodo dentro de la hembra grávida. Los nematodos fueron extraídos del intestino de la especie de anuro *Scinax acuminatus* procedente de Corrientes, Argentina. Las dimensiones de los huevos fueron de 69 μm a 103,50 μm de largo y de 46 μm a 62,10 μm de ancho. A continuación se muestra, en la figura 23, un huevo con medidas compatibles para esta especie de nematodo.

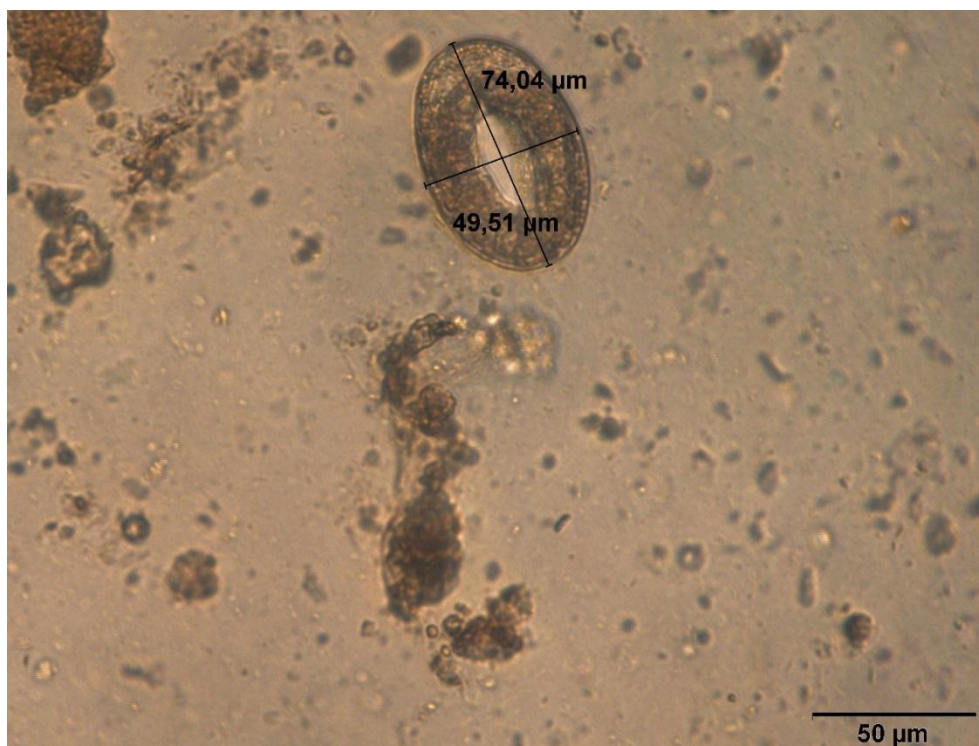


Figura 23. Huevo compatible con la especie *Oxyascaris caudacutus* por sus dimensiones (74,04 μm x 49,51 μm) (Ver tabla 6). Se observa un huevo larvado.20x.

4.2.5.2 *Oxyascaris oxyascaris*

Para esta especie, se encontraron tamaños de 86,54 μm de largo, con una desviación estándar de 10,01 μm y un rango de 76,24 μm a 95,53 μm . El ancho fue de 56,04 con una desviación estándar de 4,99 μm y un rango de 51,41 μm a 61,56 μm (Ver tabla 6). Estas medidas fueron compatibles con otras encontradas para los huevos de esta misma especie en un estudio anterior. En esta investigación se hallaron los nematodos en un anuro de la especie *Leptodactylus mystaceus* en Brasil. Los huevos se describen dentro de la hembra; con largos y anchos de 76 μm a 105 μm y de 50 μm a 63 μm respectivamente (Vicente, Rodrigues, Gomes, y Pinto, 1991).

En la figura 24 que se muestra a continuación, podemos observar un huevo compatible con las medidas para esta especie de nematodo.

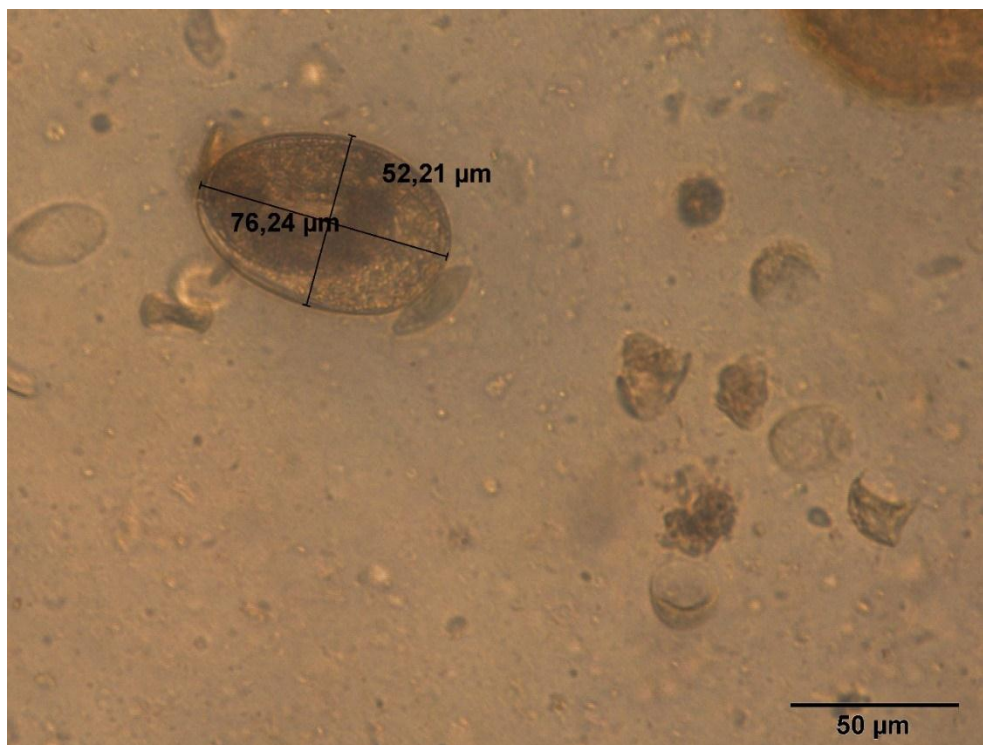


Figura 24. Huevo compatible con la especie *Oxyascaris oxyascaris* por sus dimensiones (76,24 μm x 52,21 μm) (Ver tabla 6). Se observa un huevo larvado.20x.

4.2.6 Género *Pteroxyascaris*

Para este género se hallaron medidas medias de 82,38 μm de largo y 50,57 μm de ancho. Se encontraron huevos compatibles con dos especies de nematodo por sus dimensiones: *Pteroxyascaris caudacutus* y *Pteroxyascaris similis*.

En la tabla 7, que se encuentra a continuación se observan las medidas medias de los huevos, la desviación estándar, el mínimo y máximo para cada una de las especies, así como del género y se pueden observar las referencias bibliográficas que fueron compatibles con estas.

Tabla 7

Comparación de las dimensiones de los huevos encontrados compatibles con especies del género *Pteroxyascaris* y estudios relacionados. Promedio± Desviación estándar (Mínimo- Máximo)

Género /Especies	Dimensiones (µm)		Otros estudios	
	Largo (µm)	Ancho (µm)	Vicente, Rodrigues, Gomes, & Pinto, 1991	
			Largo (µm)	Ancho (µm)
<i>Pteroxyascaris</i>	82,38± 11,06 (70,79-108,04)	50,57±7,98(42,63-67,86)		
<i>Pteroxyascaris caudacutus</i>	76,62± 2,74 (70,79-79,67)	46,73±2,70(42,63-51,44)	67-80	42-50
<i>Pteroxyascaris similis</i>	98,49± 9,21(84,53-108,04)	61,31±8,18(47,24-67,86)	84-109	42-67

Nota: Adaptado de: Vicente, Rodrigues, Gomes, y Pinto, 1991

4.2.6.1 *Pteroxyascaris caudacutus*

Los resultados de las mediciones para esta especie fueron 76,62 μm de largo con una desviación estándar de 2,74 μm y un rango de 70,79 μm y 79,67 μm . El ancho encontrado fue de 46,73 μm con una desviación estándar de 2,70 μm y un rango entre 42,63 μm y 51,44 μm

Estas medidas fueron compatibles con las halladas en el estudio realizado por Vicente, Rodríguez, Gómez y Pinto (1991). En el cual se observaron los nematodos en el intestino delgado de un anuro de la especie *Leptodactylus mystaceus* en Brasil. Los huevos se describen dentro de la hembra con dimensiones de 67 μm a 80 μm de largo y de 42 μm a 67 μm de ancho.

En la figura 25, se puede observar un huevo compatible con las medidas para esta especie de nematodo.

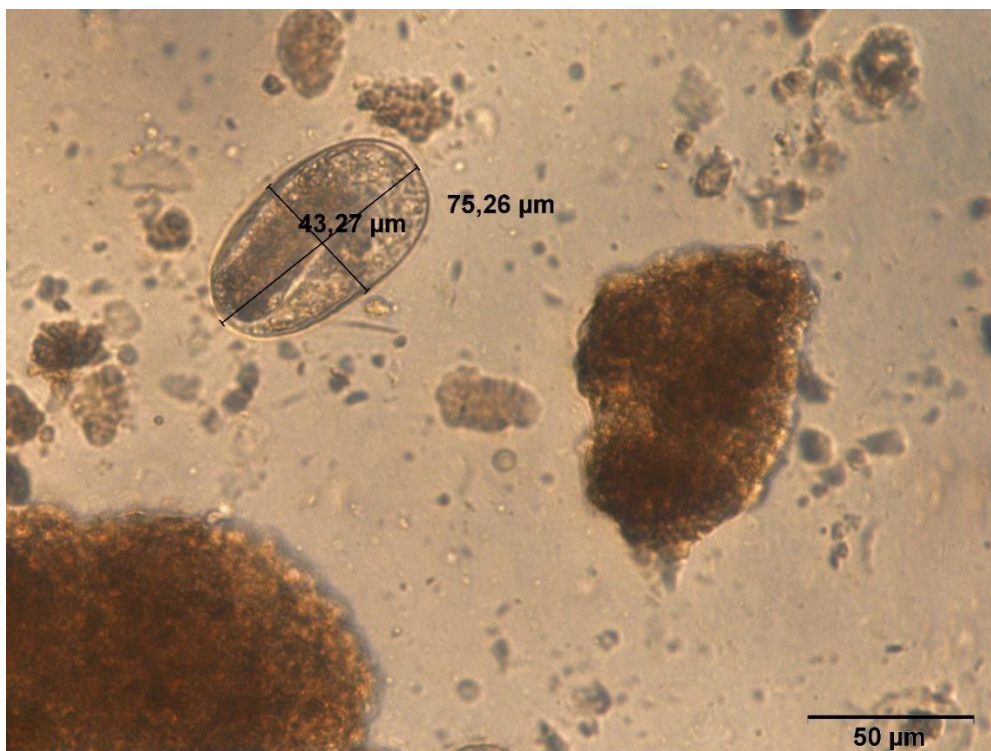


Figura 25. Huevo compatible con la especie *Pteroxyascaris caudacutus* por sus dimensiones (75,26 μm x 43,27 μm) (Ver tabla 7). Se observa un huevo larvado.20x.

4.2.6.1 *Pteroxyascaris similis*

Los huevos de esta especie midieron 98,49 μm de largo con una desviación estándar de 9,21 μm (84,53 μm -108,04 μm) y 61,31 μm de ancho con una desviación estándar de 8,18 μm (47,24 μm -67,86 μm) Se observaron similitudes con otra pesquisa realizada por Vicente, Rodriguez, Gómez y Pinto (1991) en la cual se encontraron estos nematodos en intestino grueso y delgado de anfibios de las especies *Bufo crucifer*, *Bufo marinus*, *Hyla faber*, *Leptodactylus ocellatus*, y *Leptodactylus pentadactylus* procedentes de Brasil. Los huevos de esta especie de parásitos fueron medidos dentro de la hembra, encontrando medidas de 84 μm a 109 μm de largo y de 42 μm a 67 μm de ancho. (Ver tabla 7).

A continuación, en la figura 26 se observa una foto de un huevo correspondiente a las medidas de esta especie.



Figura 26. Huevo compatible con la especie *Pteroxyascaris similis* por sus dimensiones (84,53 μm x 47,24 μm) (Ver tabla 7). Se observa un huevo larvado.20x.

4.2.7 Género *Raillietnema*: *Raillietnema spectans*

Algunos de los huevos fueron compatibles con la especie *Raillietnema spectans*. Tuvieron medidas de 104,13 μm de largo, con una desviación estándar de 4,50 μm y rangos entre 99,22 μm y 108,04 μm ; y anchos de 65,92 μm con una desviación estándar de 1,76 μm y rangos de 64,43 μm a 67,86 μm (Ver tabla 8).

Estas dimensiones fueron muy semejantes a las encontradas en un trabajo realizado por Vicente, Rodrigues, Gómez y Pinto (1991) en Brasil, en el cual se describieron algunos especímenes que fueron extraídos del intestino grueso de anfibios de las especies *Bufo ictericus* y *Bufo paracnemis*. Las medidas para los huevos de esta especie fueron de 99 μm a 130 μm de largo y de 53 μm a 73 μm de ancho.

A continuación, en la figura 27, se observa un huevo compatible con esta especie por sus dimensiones

Tabla 8

Comparación de las dimensiones de los huevos encontrados compatibles con especies del género *Raillietnema* y estudios relacionados. Promedio \pm Desviación estándar (Mínimo-Máximo)

Género /Especies	Dimensiones (μm)		Otros estudios	
	Largo (μm)	Ancho (μm)	Vicente, Rodrigues, Gomes, & Pinto, 1991	
			Largo (μm)	Ancho (μm)
<i>Raillietnema spectans</i>	104,13 \pm 4,50(99,22-108,04)	65,92 \pm 1,76(64,43-67,86)	99-130	53-73

Nota. Adaptado de: Vicente, Rodrigues, Gomes, y Pinto, 1991



Figura 27. Huevo compatible con la especie *Pteroxyascaris similis* por sus dimensiones (108,04 μm x 67,86 μm) (Ver tabla 8).20x.

4.2.8 Género *Rhabdias*

Se hallaron dos especies con tamaños y formas similares a huevos de este género: *Rhabdias elegans* y *Rhabdias fuelleborni*. Los huevos del género *Rhabdias* tienen una cubierta fina y lisa. En su interior se encuentra una larva bien formada. Son parásitos comunes en gran cantidad de vertebrados y muy comunes en anuros (Chero, et al., 2015).

Durante el muestreo se observaron gran cantidad de larvas que se cree que podrían ser compatibles con este género, debido a su ciclo de vida. Las larvas infectantes penetran al huésped por la piel y se dirigen hacia los pulmones, aquí maduran y se reproducen. Los huevos producidos pasan a la tráquea y luego al intestino donde se convierten en larvas y salen con las heces (Chero, et al., 2015). Esto explica por qué se encontrarían más larvas que huevos en este caso (Ver figura 28). Sería importante identificar los parásitos adultos o

utilizar técnicas de identificación moleculares para poder saber con exactitud de que especies se trata en este caso.

Las medidas para los huevos de este género de nematodo fueron de $96,55 \mu\text{m}$ de largo, con una desviación estándar de $5,29 \mu\text{m}$ y un rango entre $87,89 \mu\text{m}$ y $105,14 \mu\text{m}$. El ancho fue de $59,92 \mu\text{m}$ con una desviación estándar de $5,13 \mu\text{m}$ y un rango entre $53,55 \mu\text{m}$ y $67,22 \mu\text{m}$ (Ver tabla 9).



Figura 28. Larva que posiblemente corresponda al género *Rhabdias* por su forma.40x.

Tabla 9

Comparación de las dimensiones de los huevos encontrados compatibles con especies del género *Rhabdias* y estudios relacionados. Promedio± Desviación estándar (Mínimo- Máximo)

Género /Especies	Dimensiones (µm)		Otros estudios			
	Largo (µm)	Ancho (µm)	Vicente, Rodrigues, Gomes, & Pinto, 1991	González & Hamann, 2008	Largo (µm)	Ancho (µm)
<i>Rhabdias</i>	96,55± 5,29(87,89-105,14)	59,92±5,13(53,55-67,22)				
<i>Rhabdias elegans</i>	93,66± 3,97(87,89-98,66)	56,45±2,23(53,55-58,95)	91- 112	52- 59	88	53
<i>Rhabdias fueleborni</i>	101,37± 3,28(99,22-105,14)	65,71±1,41(64,43-67,22)			97-160	48-80

4.2.8.1 *Rhabdias elegans*

Para esta especie, se hallaron las siguientes medidas: 93,66 μm de largo con una desviación estándar de 3,97 μm y un rango entre 87,89 μm y 98,66 μm ; para el ancho de los huevos se tuvo dimensiones de 56,45 μm con una desviación estándar de 2,23 μm y un rango entre 53,55 μm y 58,95 μm (Ver tabla 9).

En una investigación previa se encontraron algunos huevos compatibles con las medidas halladas en esta tesis. Sin embargo, las medidas fueron tomadas a partir de un solo espécimen, por lo tanto descubierto en los pulmones de un anuro de la especie *Rhinella schneideri* encontrado en Corrientes, Argentina (Ver tabla 9) (González y Hamann, 2016).

También Vicente, Rodríguez, Gómez y Pinto (1991) en Brasil hallaron parásitos de esta especie en pulmones de anfibios de la especie *Bufo rufus* y los huevos medidos dentro de la hembra grávida fueron semejantes a las medidas de esta investigación (91 μm – 112 μm de largo y 52 μm – 59 μm de espesor) (Ver tabla 9).

A continuación, en la figura 29, se muestra una fotografía tomada de un huevo que posiblemente es correspondiente a esta especie de nematodo.

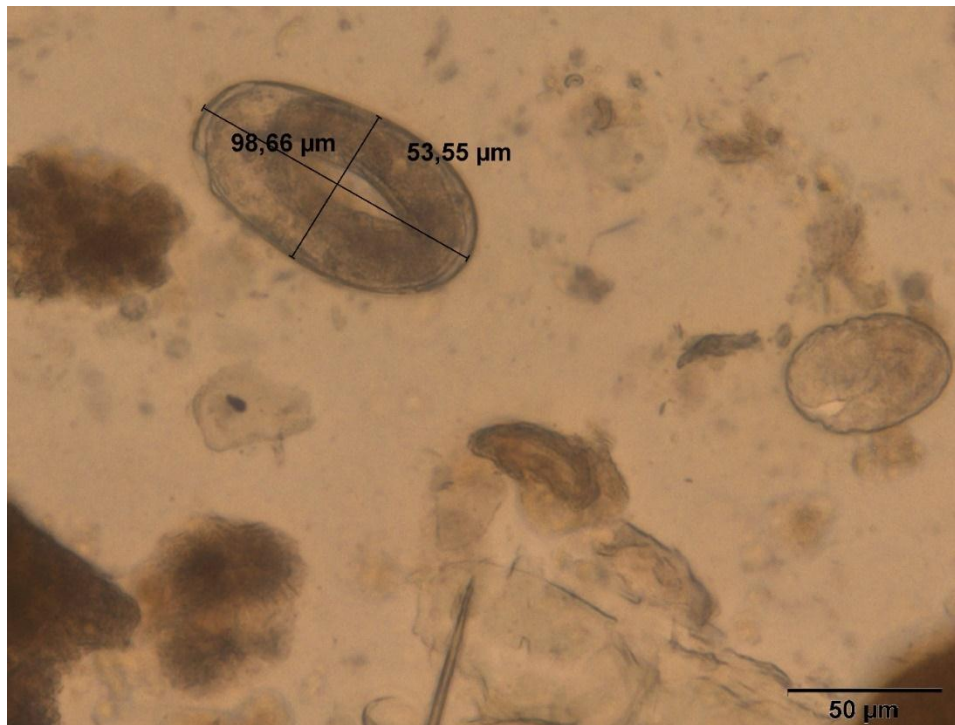


Figura 29. Huevo compatible con la especie *Rhabdias elegans* por sus dimensiones y descripción (98,66 µm x 53,55 µm) (Ver tabla 9). Se observa un huevo con una pared fina y lisa y una larva bien formada en su interior.20x.

4.2.8.1 *Rhabdias fuelleborni*

Para esta especie, las medidas halladas fueron; 101,37 µm de largo, con una desviación estándar de 3,28 µm y un rango de 99,22 µm a 105,14 µm. El ancho de los huevos fue de 65,71 µm con una desviación estándar de 1,41 µm y un rango entre 64,43 µm y 67,22 µm (Ver tabla 9).

Estas medidas fueron compatibles con descripciones de la especie realizadas por González & Hamann (2008) en Corrientes, Argentina, a partir de once especímenes de hembras grávidas de esta especie halladas en anuros de la especie *Rhinella schneideri*.

A continuación, en la figura 30, se observa un huevo compatible con esta especie por sus medidas.

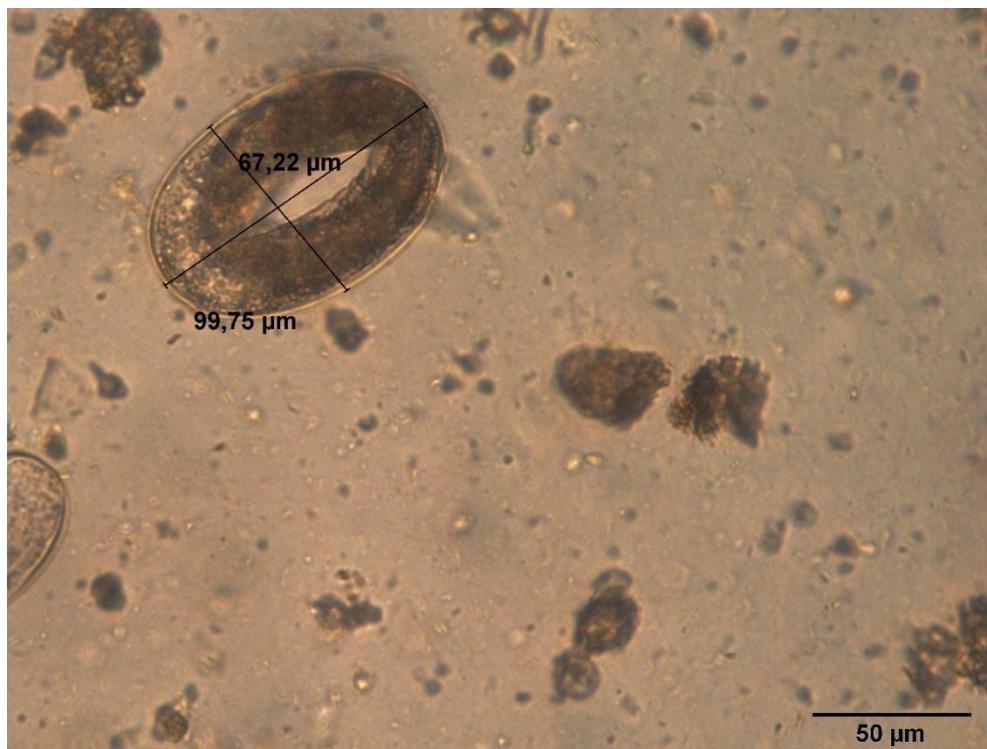


Figura 30. Huevo compatible con la especie *Rhabdias fuelleborni* por sus dimensiones y descripción (99,75 μm x 67,22 μm) (Ver tabla 9). Se observa un huevo con una pared fina y lisa con una larva bien formada en su interior.20x.

4.2.8 Género *Strongyloides*

Para este género, no fue posible identificar especies por las medidas de los huevos, ya que no se hallaron muchos estudios en los que se tuvieran medidas específicas para especies de este género y los trabajos encontrados no tuvieron medidas compatibles con los huevos hallados.

Además, se sabe que los parásitos del género *Strongyloides* ponen sus huevos en el intestino del huésped y estos eclosionan antes de salir en las heces como larvas. Las larvas son difíciles de identificar por los métodos coprológicos comunes utilizados para la identificación de nematodos (Patterson-Kane, Eckerlin, Lyons, y Jewell, 2001).

A pesar de esto, se hallaron varios huevos compatibles con este género, según un estudio realizado por Patterson-Kane, Eckerlin, Lyons, y Jewell (2001), en el

cual se examinaron 12 especímenes de la especie de anuro *Hyla chrysoscelis* procedentes del zoológico de Louisville.

Los huevos tuvieron dimensiones de 52,08 μm de largo, con una desviación estándar de 1,74 μm y rangos entre 50,22 μm y 53,68 μm . La media de ancho fue de 36,35 μm con una desviación estándar de 3,03 μm y rangos entre 32,95 μm y 38,76 μm . En la figura 31 se muestra un huevo compatible con las medidas halladas para este género.

Tabla 10

Comparación de las dimensiones de los huevos encontrados compatibles con especies del género *Strongyloides* y estudios relacionados. Promedio \pm Desviación estándar (Mínimo-Máximo)

Género /Especies	Dimensiones (μm)		Otros estudios	
	Largo (μm)	Ancho (μm)	Patterson-kane, Eckerlin, Lyons, & Melissa, 2001	
			Largo (μm)	Ancho (μm)
<i>Strongyloides</i>	52,08 \pm 1,74(50,22- 53,68)	36,35 \pm 3,03(32,95- 38,76)	37-46	20-30

Nota. Adaptado de Patterson-kane, Eckerlin, Lyons y Jewell, 2001.

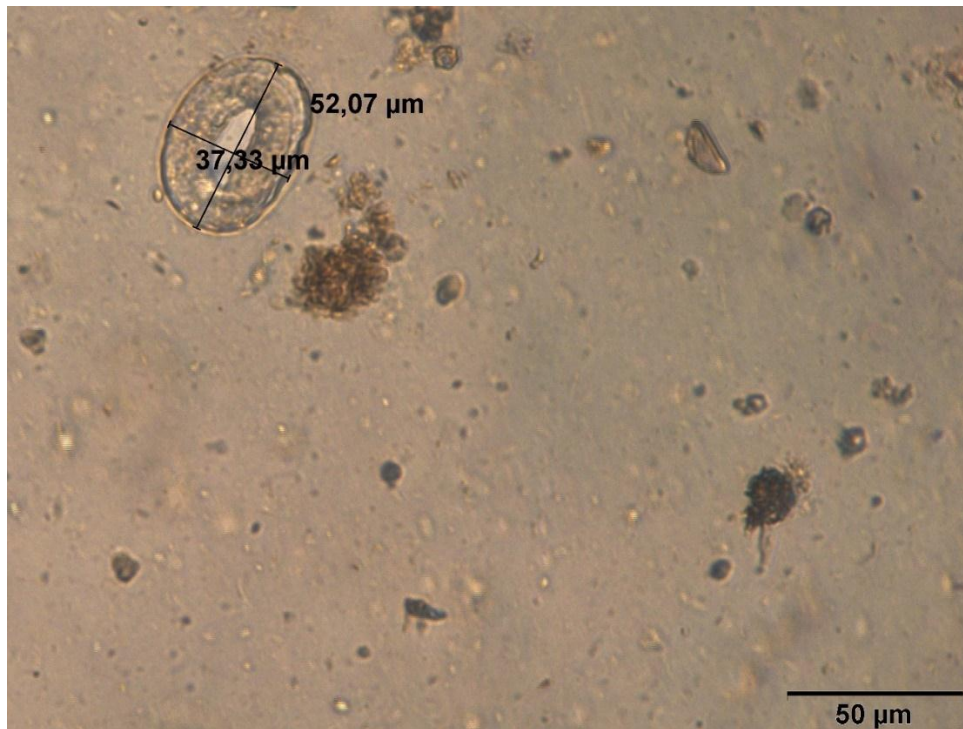


Figura 31. Huevo compatible con el género *Strongyloides* por sus dimensiones y descripción (52,07 μm x 37,33 μm) (Ver tabla 10). Se observa un huevo con una pared fina y una larva en su interior.20x.

Es importante mencionar que, en una tesis previa realizada por Cando (2017) en la que se describen lesiones histopatológicas halladas en anfibios del género *Gastrotheca*, se encontraron parásitos equivalentes a este género por las larvas y lesiones generadas en anuros de la especie *Gastrotheca pseustes* y *Gastrotheca litonedis* en el mismo lugar de cautiverio. Por lo tanto, estos parásitos, así como los otros nematodos hallados en este estudio podrían ser una de las causas para el síndrome de edema que sufren algunos de los animales que se encuentran en cautiverio en la Balsa de los Sapos.

A continuación, en la figura 32, se muestran las lesiones y larvas encontradas en la tesis de la que se habló.

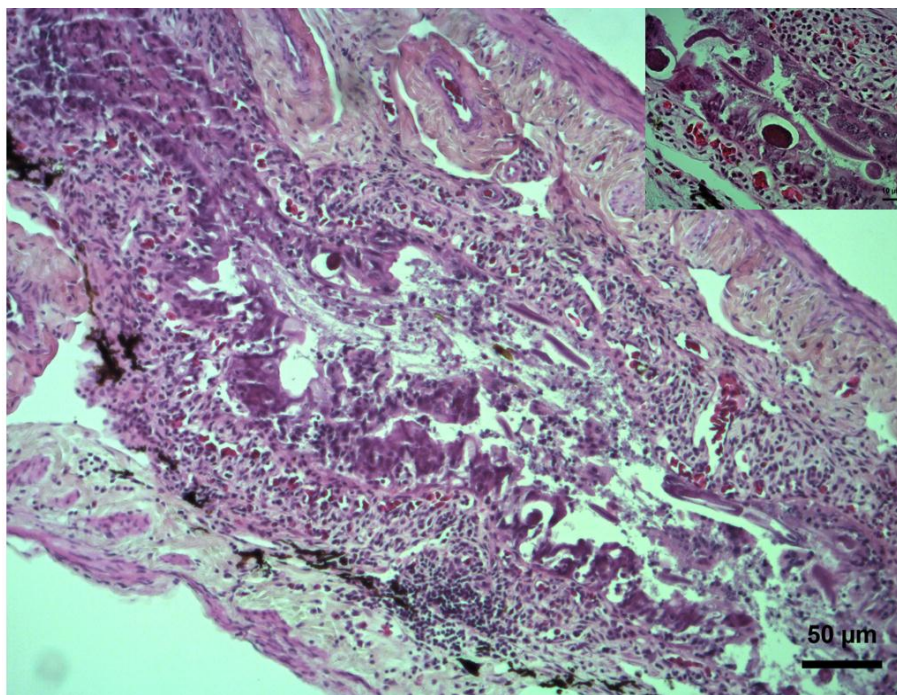


Figura 32. Enteritis parasitaria. Se observa desprendimiento del epitelio de la mucosa, a su vez fuera y dentro del epitelio de la mucosa formas redondas basofílicas (huevos) y en la luz varias estructuras fusiformes también basofílicas (larvas) compatibles con *Strongyloides* spp. Microfotografía intestino grueso (HE). *Gastrotheca pseustes*, 1856-14. 10x. Recuadro lateral derecho (Huevos y larvas): 100x. Tomado de: Genoy-Puerto., A, 2017;Cando, 2017

4.3 Correlaciones y regresiones

No se encontraron relaciones estadísticamente significativas en entre las variable dependientes e independientes planteadas. Así, estos resultados indicarían que no hay realcion directa ni inversa entre la carga parasitaria y peso ($R^2 = 0.008$), la carga parasitaria y tamaño ($R^2 = 0.488$) y la carga parasitaria y tiempo en cautiverio ($R^2 = 0.154$) (Ver figuras 33- 34- 35).

En otros estudios realizados se han encontrado relaciones positivas entre carga parasitaria y tamaño y entre carga parasitaria y peso pero no para animales en cautiverio (Gómez Navarrete, 2013).

Se sabe que, existe relación entre riqueza de parásitos y tamaño de los animales por estudios realizados tanto en plantas como en animales de vida libre, en los cuales se ha determinado una relación directa entre el tamaño de los animales y su riqueza de parásitos (Kamiya, 2014).

Sin embargo, en este caso puede ser que la pequeña población o la pequeña cantidad de muestreos hayan sido un factor importante para la falta de relación entre las variables o posiblemente la uniformidad en las condiciones ambientales y nutrición de los animales pudo haber influido en la uniformidad de la carga parasitaria entre los muestreos. Además, en este trabajo no se tomó en cuenta la riqueza de especies por animal, por lo que no se sabe si hay relación entre riqueza de especies de parásitos y tamaño a pesar de que no se haya encontrado relación entre carga parasitaria y tamaño.

A continuación se muestran los resultados encontrados para las relaciones y correlaciones entre las variables mencionadas.

4.3.1 Carga parasitaria y peso

Como se puede observar en la figura 33 no existe relación entre el peso de los animales y la carga parasitaria. Se obtuvo un R^2 de 0.008 lo que indica una relación del 0.8%. Esto quiere decir que la carga parasitaria no aumentaría ni disminuiría según el peso que tengan los animales.

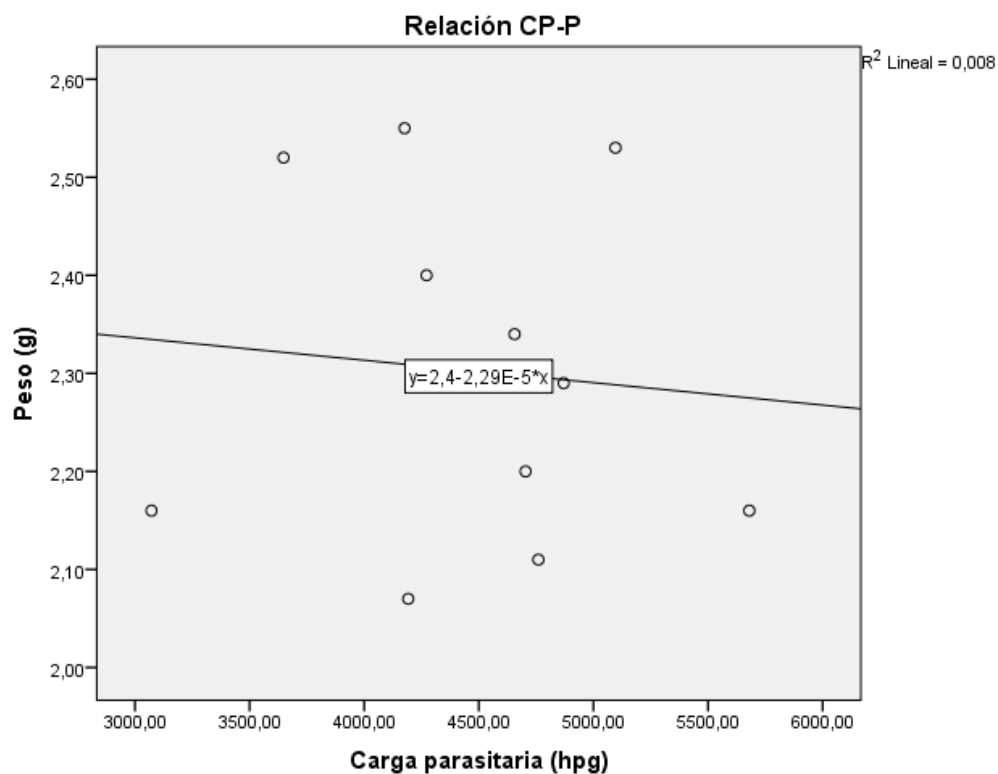


Figura 33. Relación entre carga parasitaria y peso para los animales de la especie *Gastrotheca pseustes* en cautiverio en la Balsa de los Sapos. Nota: g=gramos, hpg=huevos por gramo.

4.3.2 Carga parasitaria y largo recto boca-cloaca

Como se puede observar en la figura 33 existe una relación muy baja entre la carga parasitaria y el tamaño de los animales. Se obtuvo un R^2 de 0.488 lo que indica una relación inversa del 48% entre estas dos variables. A pesar de esto, la relación no es clara ni significativa estadísticamente; lo cual quiere decir que no hay una relación de aumento o disminución entre estas dos variables.

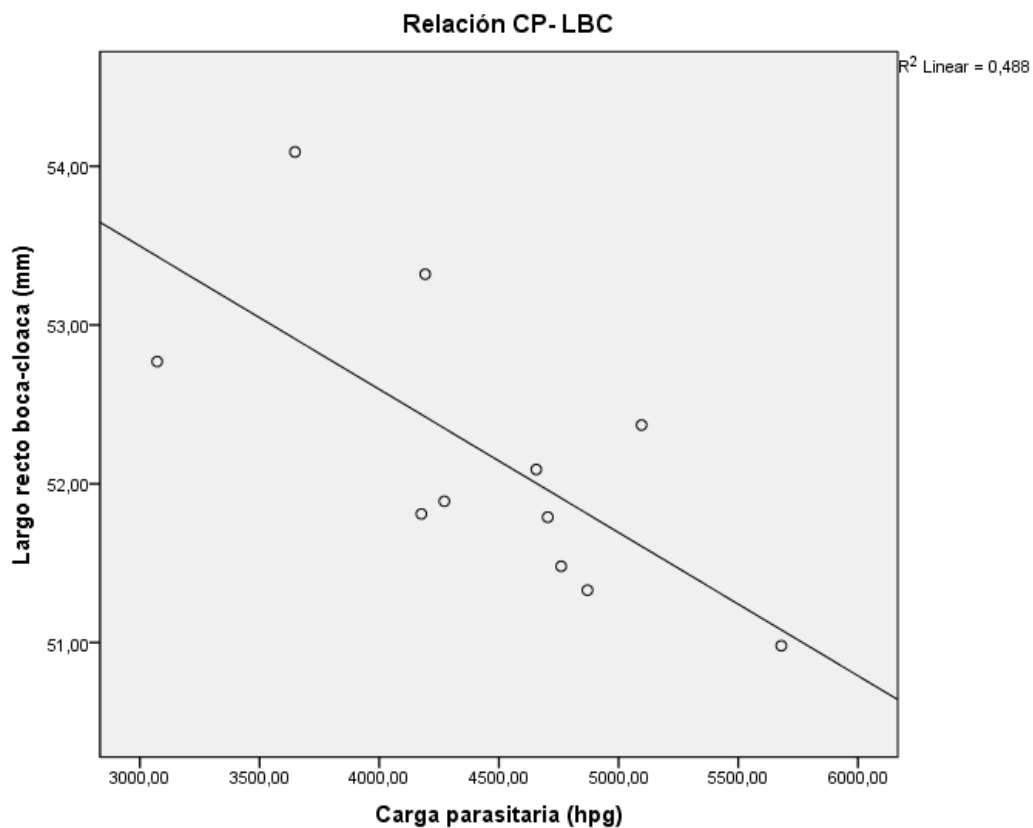


Figura 34. Relación entre carga parasitaria y tamaño para los animales de la especie *Gastrotheca pseustes* en cautiverio en la Balsa de los Sapos. Nota: g=gramos, hpg=huevos por gramo.

4.3.3 Carga parasitaria y tiempo en cautiverio

Como se puede observar en la figura 35 no existe una relación entre el tiempo en cautiverio y la carga parasitaria. Se obtuvo un R^2 de 0.154, lo que indica una relación del 15% entre las variables. Esto quiere decir que en este caso no hay un aumento o disminución de la carga parasitaria en relación a los días que los animales llevan en cautiverio. Es posible que se requiera un muestreo más amplio y una población mayor para determinar si existe una relación entre estas variables.

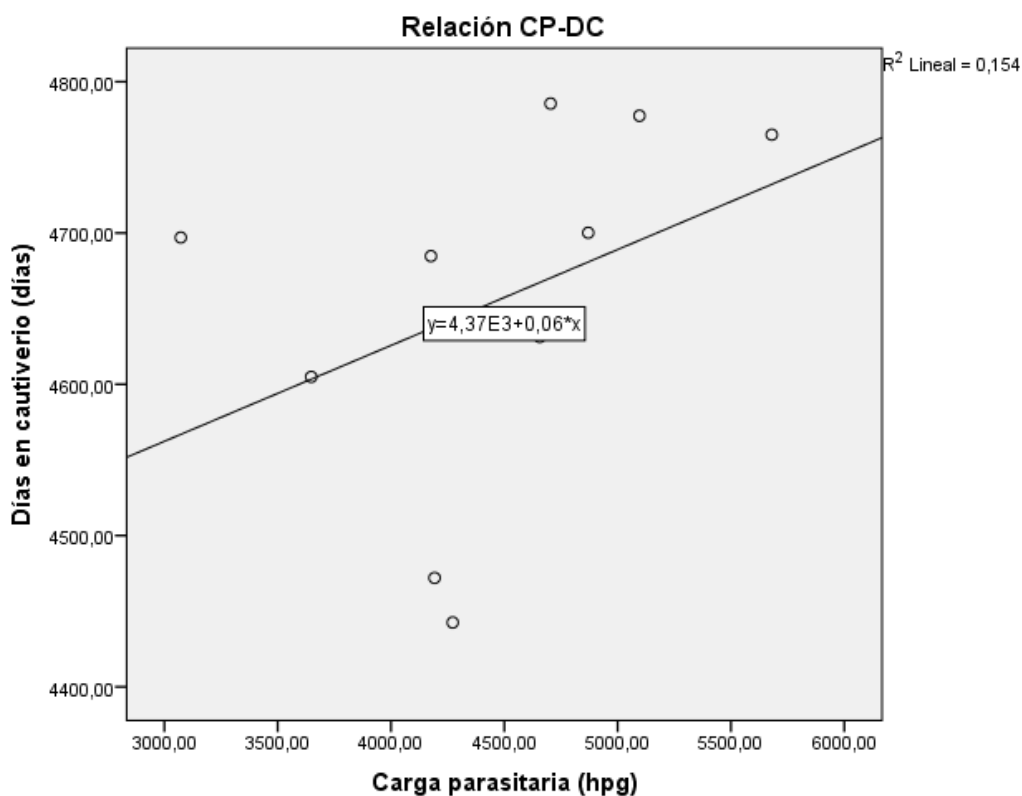


Figura 35. Relación entre carga parasitaria y días en cautiverio para los animales de la especie *Gastrotheca pseustes* en cautiverio en la Balsa de los Sapos. Nota: g=gramos, hpg=huevos por gramo.

4.4 Parásitos y estrés en cautiverio

Se sabe que, los glucocorticoides (hormonas del estrés) modulan el sistema inmune. Es así que, los animales sometidos a estrés por un tiempo prolongado se debilitan inmunológicamente y esto los vuelve susceptibles a otros problemas de salud y patologías que normalmente no los afectarían (Narayan, 2013). Esto ocurre mucho en cautiverio, cuando las condiciones de manejo no son las adecuadas para una especie o cuando las condiciones normales para un animal cambian drásticamente. Es por eso que, es tan importante tener condiciones óptimas de manejo e higiene que satisfagan las necesidades propias de cada especie (Beldomenico y Begon, 2015).

En cuanto al estrés en su relación con parasitosis en los animales, se sabe que el estrés aumenta la probabilidad de que una infección por parásitos se vuelva severa; y esto genera un círculo vicioso al debilitar más al animal, lo que resulta

en una mayor predisposición a nuevas infecciones graves que pueden incluso causarle la muerte (Beldomenico y Begon, 2015). Además, se ha estudiado la relación entre los cambios de comportamiento de los animales en momentos de estrés y el mayor o menor riesgo de infección. Por ejemplo, en algunos animales el estrés puede promover o disminuir la actividad de forrajeo, lo cual volverá al animal más o menos susceptible a ciertos parásitos (Lafferty y Kuris, 1999).

En anfibios en cautiverio, se ha estudiado la relación entre las condiciones ambientales y enfermedades parasitarias y se sabe que fallas en el transporte de los animales, espacios inapropiados, hacinamiento, condiciones pobres de higiene o una dieta inadecuada son factores que tienen gran relación con infestaciones de helmintos de ciclo directo o protozoarios. Sumado a esto, se ha visto que existen varios factores que pueden acelerar la propagación de los parásitos como: el uso de una sola fuente de agua para varios terrarios, sobrepoblación, calor excesivo, humedad insuficiente o excesiva, fuentes de agua inadecuadas y falta de limpieza de los restos de comida. Otro factor de suma importancia es la introducción de animales sin una cuarentena adecuada que puede resultar en la entrada de nuevas enfermedades o brotes de enfermedades subclínicas (Ippen y Zwart, 1996).

Las razones expuestas, en relación a los resultados obtenidos para la población en cautiverio de la rana marsupial de San Lucas, nos hacen pensar que las condiciones de cautividad de estos animales son adecuadas para la especie. Sin embargo, estos factores se deben tomar en cuenta en el futuro para evitar la posible muerte de los animales por parasitosis.

4.5 Limitaciones del estudio

Una limitación importante del estudio es el número de animales de la población estudiada, esto se encuentra sujeto a la población disponible en el centro de crianza Balsa de Los Sapos para esta especie. Esto a su vez, limita el número de muestras disponibles para la realización de los estudios parasitológicos al

igual que el pequeño tamaño de los animales. Es por esto que se tuvo que realizar los estudios en *pool* y no pudieron ser realizados animal por animal. Sin embargo, la metodología es válida para conocer los parásitos que infestan a esta población y poder desparasitarlos específicamente.

Otro limitante importante es la parte económica debido a la cual no se han podido realizar estudios moleculares para saber con exactitud las especies que parasitan a estos animales.

CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

Una vez concluido el trabajo de investigación, se pudo establecer las siguientes conclusiones:

La carga parasitaria de nematodos gastrointestinales en la rana marsupial de San Lucas por medio de la técnica de McMaster. La media de la población fue de 4305,47 hpg con una desviación estándar de 740,99 hpg y un rango entre 3072 hpg y 5680 hpg. Las medidas morfométricas normales y las escasas alteraciones en la salud de los animales podrían indicar que esta carga parasitaria es normal en poblaciones de anuros en cautiverio. Sin embargo, se requieren investigaciones más profundas que nos permitan conocer la carga normal de nematodos para esta especie.

Se identificaron las especies de nematodos por las dimensiones de los huevos encontrados. Las de mayor frecuencia fueron: *Aplectana delirae*, *Pteroxiascaris caudacutus*, *Oxyascaris caudacutus*, *Oswaldocruzia subauricularis* y *Cosmocerca podicipinus* en orden de importancia.

No se encontró relación entre carga parasitaria, peso tamaño y tiempo en cautiverio. Por lo tanto, en este caso, estas variables no tienen ninguna influencia en la carga parasitaria. Es factible pensar en la realización de un estudio más amplio, que involucre más especies de anfibios o un muestreo mayor.

Existe la posibilidad que los nematodos y otros parásitos sean parte del problema que está ocasionando el síndrome de edema en los animales estudiados. Es necesario realizar nuevos estudios.

5.2 Recomendaciones

Sería importante monitorear mejor a los animales que llegan del campo y desparasitarlos correctamente para evitar tener problemas de parasitosis

severas y evitar que ingresen nuevos parásitos que puedan ocasionar problemas con la población en el futuro.

En Ecuador, a pesar de la gran cantidad de anfibios endémicos que existe, hay muy pocos estudios; desde su anatomía y biología hasta patologías que los pueden estar afectando. Por lo tanto, se sugiere realizar estudios que involucren estos animales y que puedan ayudarnos a entender lo que ocurre con las poblaciones, para así poder conservarlos.

También es necesaria la realización de nuevos estudios de parasitología en anfibios con síndrome de edema ya que es posible que exista una relación entre esta patología y los parásitos presentes en los animales. Así mismo, se requiere realizar nuevos estudios coprológicos de carga parasitaria para poder saber los parámetros de carga parasitaria que son normales para anuros en cautiverio.

A lo largo de este trabajo también se ha mencionado la importancia de realizar nuevos estudios de los parásitos a nivel molecular que nos permitan saber si los parásitos hallados corresponden a los que parasitan a esta población en cautiverio.

REFERENCIAS

- Amin, O. M., Ha, N. V., & Heckmann, R. A. (2008). New and already known acanthocephalans from amphibians and reptiles in Vietnam, with keys to species of *Pseudoacanthocephalus* Petrochenko, 1956 (Echinorhynchidae) and *Sphaerechinorhynchus* Johnston and Deland, 1929 (Plagiorhynchidae). *J Parasitol*, *1*(94), 181-189. doi:hyyps://doi.org/10.1645/ge-1288.1
- Barlett, R., & Barlett, P. (2000). *The horned frog family and african bullfrogs*. Hong Kong: Barron's.
- Beldomenico, P., & Begon, M. (2015). Interacciones Entre el Estrés, el Parásito y el Hospedador: Un triángulo vicioso. *Revista FAVE*(14), 41–55.
- Boquimpani-Freitas, L., Vrcibradic, D., Vicente, J., Bursey, C., Rocha, C., & Van Sluys, M. (2001). Helminths of the horned leaf frog, *Proceratophrys appendiculata*, from southeastern Brazil. *Journal of Helminthology*, *111*(74), 233–236. doi:https://doi.org/10.1079/JOH200155
- Bowman, D. (2014). *Georgis parasitology for veterinarians (10 th)*. St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders.
- Cabanga, M., Lajmanovich, R., Peltzer, P., Attademo, A., Fiorenza, G., & Bassó, A. (2009). Primeros registros de endoparásitos en cinco especies de anfibios anuros del litoral argentino. . *Cuad. Herpetol.*, *1*(23), 33-40.
- Cabrera-Guzmán, E., León-Règagnon, V., & García-Prieto, L. (2007). Helminth Parasites of the Leopard Frog *Rana cf. forreri* (Amphibia: Ranidae) in Acapulco, Guerrero, Mexico. *Comparative Parasitology*, *1*(74), 96-107. doi:https://doi.org/10.1654/4247.1
- Cando, P. (2017). *Caracterización histopatológica de órganos del tracto gastrointestinal en ranas de la especie *Gastrotheca* spp. Afectadas por*

el síndrome de edema dentro del centro balsa de los sapos. Quito: Universidad de las Américas.

- Chero, J., Cruces, C., Iannacone, J., Sáez, G., Alvariño, L., Da Silva, R. J., & Minaya, D. (2015). Parasitofauna del anfibio neotropical *Rhinella limensis* Werner, 1901 (Anura: Bufonidae) en la Costa Central Peruana. *Neotropical Helminthology*, *1*(9), 87–90.
- Cordero del Campillo, M., Sánchez, C., Navarrete, I., Díez, P., Quiroz, H., & Carvalho, M. (1999). *Parasitología veterinaria*. Madrid: McGraw Hill Interamericana.
- Duellman, W. E., & Hills, D. (1987). Marsupial frogs (Anura:Hylidae:Gastrotheca) of the Ecuadorian Andes: resolution of taxonomic problems and phylogenetic relationships. *Herpetologica*, *VI*(43), 141-173.
- Dyer, W. G. (1990). Augmented description of *Aplectana travassosi* (Nematoda: Cosmocercidae) from leptodactylid frogs of Ecuador. *Journal of Parasitology*, *V*(76), 639-640.
- Flynn, R. (2007). *Flynn's parasites of laboratory animals*. New York: D. Baker, Ed. Blackwell Publishing.
- Gómez Navarrete, R. A. (2013). *Carga parasitaria y su posible efecto en algunos parámetros morfométricos de *Giardinichys multiradiatus* (Cyprinodontiformes: Goodeidae)*. México D. F.: Universidad Autónoma del Estado de México.
- González, C. E., & Hamann, M. (2016). Nematode Parasites of *Leptodactylus elenae* and *Leptodactylus podicipinus* (Anura : Leptodactylidae) . *Corrientes, Argentina*, *1*(83), 117-121. Obtenido de <https://doi.org/10.1654/1525-2647-83.1.117>

- González, C. E., & Hamann, M. I. (2008). Nematode parasites of two anuran species *Rhinella schneideri* (Bufonidae) and *Scinax acuminatus* (Hylidae). *Revista de Biología Tropical*, IV(56), 2147–2161.
- González, C. E., Quiroga, L. B., Moreno, D., & Sanabria, E. A. (2013). Primer registro de *Aplectana hylambatis* (Nematoda, Cosmocercidae) para anfibios de la provincia de San Juan. *Cuadernos de Herpetología*, I(27).
- Hendrix, C., & Robinson, E. (2012). *Diagnostic Parasitology for Veterinary Technicians*. St. Louis, Missouri: Elsevier.
- Iannacone, J. (2003). Helmintos parásitos de *Telmatobius jelskii* (Peters) (Anura, Leptodactylidae) de Lima, Perú. . *Revista Brasileira de Zoologia*, I(20), 131-134. doi:<https://doi.org/10.1590/S0101-81752003000100016>
- Ippen, R., & Zwart, P. (1996). Infectious and parasitic diseases of captive reptiles and amphibians, with special emphasis on husbandry practices which prevent or promote diseases. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz*, I(15), 43-54.
- Jiménez, J. (2009). *Manual clínico de animales exóticos*. Barcelona: R. Domingo, L. Crosta, & A. Martínez-Silvestre, Eds. Multimédic. .
- Jiménez-Sánchez, M. (1997). *Contribución al conocimiento de la parasitofauna de *Rana perezi* Seoane, 1885 (Amphibia: Ranidae) de la provincia de Ávila* . Madrid: Universidad Complutense de Madrid.
- Kamiya, T. O. (2014). What determines species richness of parasitic organisms? A meta-analysis across animal, plant and fungal hosts. , <https://doi.org/10.1111/brv.12046>. *Reviews, Biological*, I(89), 123–134.
- Lafferty, K., & Kuris, A. (1999). How environmental stress affects the impacts of parasites. *Limnology and Oceanography*, III(44), 925–931. doi:<https://doi.org/10.1515/ap-2016-0005>

- Lemke, L. B., Dronen, N., Fox, J. G., & Nambiar, P. R. (2008). Infestation of wild-caught American bullfrogs (*Rana catesbeiana*) by multiple species of metazoan parasites. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science: JAALAS*, *III*(47), 42-46. Obtenido de <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2654010&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Mcallister, C., Burse, C., & Freed, P. (2010). Helminth Parasites of Selected Amphibians and Reptiles from the Republic of Ecuador. *Comparative Parasitology*, *1*(77), 52-66. doi:<https://doi.org/10.1654/4402.1>
- Mitchell, M., & Tully, T. (2009). *Manual of exotic pet practice*. St. Louis, Missouri : Saunders Elsevier.
- Narayan, E. J. (2013). Non-invasive reproductive and stress endocrinology in amphibian conservation physiology. *Conservation Physiology*, *1*(1), 1-16. doi:<https://doi.org/10.1093/conphys/cot011>
- Navarro, P., Lluch, J., & Izquierdo, S. (1989). Strongyloides mascomai sp. n. (Strongyloididae) un nouveau Nématode parasite de *Rana perezi* Seoane, 1885 (Amphibia : Ranidae) de l'est de l'Espagne. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparee*, *4*(64), 315-318.
- Ortega, E. (2016). *Caracterización de la deformación ósea por imageneología e histopatología de anfibios de la especie *Agalychnis saltator*, dentro del centro de conservación Balsa de los Sapos*. Quito: Universidad de las Américas.
- Patterson-Kane, J. C., Eckerlin, R. P., Lyons, E. T., & Jewell, M. (2001). Strongyloidiasis in a Cope's Grey Tree Frog (*Hyla chrysoscelis*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, *1*(32), 106-110.
- Pessier, A., & Mendelson, J. (2010). *A Manual For Control of Infectious Diseases in Amphibian Survival Assurance Colonies and Reintroduction*

Programs. Apple Valley: MN: IUCN/SSD Conservation Breeding Specialist Group.

- Peterson, J. D., Steffen, J. E., Reinert, L. K., Cobine, P. A., Appel, A., Rollins-Smith, L., & Mendonça, M. T. (2013). Host Stress Response Is Important for the Pathogenesis of the Deadly Amphibian Disease, Chytridiomycosis, in *Litoria caerulea*. *PLoS ONE*, *VIII*(4), 1-7. doi:<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0062146>
- Reyes-Puig, C., & Trujillo, M. B. (2016). Primer registro de *Ochoterenella* sp. (Nematoda : Onchocercidae) en *Rhinella horribilis* (Anura : Bufonidae) del noroccidente de Ecuador. (8), 37-44.
- Ron, S., Guayasamin, J., Yanez-Muñoz, M., Merino-Viteri, A., Ortiz, D., & Nicolalde, D. (2016). *AmphibiaWebEcuador*. Obtenido de <http://zoologia.puce.edu.ec/Vertebrados/anfibios/AnfibiosEcuador/>
- Rosamond Glifford Zoo education volunteers. (2006). *Blue Poison Dart Frog*. Recuperado el 14 de November de 2017, de <http://www.rosamondgiffordzoo.org/assets/uploads/animals/pdf/BluePoisonDartFrog.pdf>
- Rundquist, E. (1999). *Reptile and amphibian parasites* . Filadelfia: Chelsea House Publishers.
- Ryan, U. (2010). *Cryptosporidium* in birds, fish and amphibians. *Experimental Parasitology*, *112*(4), 113-120. doi:<https://doi.org/10.1016/j.exppara.2009.02.002>
- Slimane, B., & Durette-Desset, M. C. (1995). *Oswaldocruzia* (Nematoda, Trichostrongylina, Molineoidea) parasitic in Brazilian and Ecuadorian amphibians, with redefinition of the type species *O-subauricularis* (Rudolphi, 1819) and *O-mazzai* Travassos, 1935. *Revue Suisse de Zoologie*, *III*(102), 635-653.

Smyth, J., & Smyth, M. (1980). *Frogs as host parasitesystems I*. London: The Macmillan Press Ltd.

The Pennsylvania State University. (2002). *The virtual nature trail at Penn State New Kensington*. Recuperado el 14 de November de 2017, de <http://www.psu.edu/dept/nkbiology/naturetrail/speciespages/american-toad.htm>

UICN. (2014). *UICN red list of threated species*. Obtenido de <http://www.iucnredlist.org/details/55354/0>

UNDP & Ecuador. (2015). *Conservación de la biodiversidad de anfibios ecuatorianos y uso sostenible de sus recursos genéticos*. Obtenido de http://www.ec.undp.org/content/dam/ecuador/docs/documentos/proyectos_ambiente/pnud_ec_PIMS_5314_Ecuador_Conservación_de_la_Biodiversidad_de_Anfibios_Version_Espanol.pdf

University of California . (2017). *Gastrotheca pseustes*. USA. Recuperado el 1 de January de 2017, de http://amphibiaweb.org/cgi/amphib_query?where-genus=Gastrotheca&where-species=pseustes&account=mol

Vicente, J., Rodrigues, H., Gomes, D., & Pinto, R. (1991). Nematóides do Brasil 2a parte: nematóides de anfibios. *Revista Brasileira de Zoologia*, VII(4), 549–626. doi:<https://doi.org/10.1590/S0101-81751990000400015>

ANEXOS

ANEXO 1. Base de datos

Número de terrario	Número de animales	Sexo	Peso (g)	Largo recto boca-cloaca (cm)	Fecha	Tiempo en cautiverio (Días)	Procedencia	Peso de la muestra (g)	Carga Parasitaria (hpg)
1505	1	H	2,83	5,49	2/7/2017	4674	Azuay, Cuenca	2,34	4704
1311	1	H	1,73	5,04	2/7/2017	4853	Azuay, Cuenca	2,34	4704
2463	1	M	2,37	5	2/7/2017	4106	Chimborazo	2,34	4704
2364	2	M	1,57	4,77	2/7/2017	S/I	S/I	2,34	4704
2364	2	M	1,96	5,19	2/7/2017	S/I	S/I	2,34	4704
556	1	M	1,84	4,72	2/7/2017	5300	Azuay	2,34	4704
1058	2	M	1,2	4,7	2/7/2017	4685	Chimborazo, Palmira	2,34	4704
3003	1	H	2,89	5,85	2/7/2017	6438	Chimborazo, Laguna de Colta	2,34	4704
1446	2	H	1,75	5,07	2/7/2017	S/I	S/I	2,34	4704
1446	2	H	2,76	5,71	2/7/2017	S/I	S/I	2,34	4704
473	1	H	3,08	5,66	2/7/2017	5048	Azuay, Cuenca	2,34	4704
1670	1	H	3,4	5,58	2/7/2017	4478	S/I	2,34	4704
1662	2	M	1,96	4,65	2/7/2017	4684	Chimborazo, Palmira	2,34	4704

ANEXO 1. Base de datos (continuación)

Número de terrario	Número de animales	Sexo	Peso (g)	Largo recto boca-cloaca (cm)	Fecha	Tiempo en cautiverio (Días)	Procedencia	Peso de la muestra (g)	Carga Parasitaria (hpg)
1662	2	M	2,28	4,72	2/7/2017	4684	Chimborazo, Palmira	2,34	4704
2188	2	M	1,57	5,33	2/7/2017	4330	El Oro, Chilla	2,34	4704
2188	2	M	1,54	5,36	2/7/2017	4330	El Oro, Chilla	2,34	4704
648	2	M	1,49	4,83	2/7/2017	4670	Chimborazo, Palmira	2,34	4704
648	2	H	3,08	5,51	2/7/2017	4670	Chimborazo, Palmira	2,34	4704
1223	1	M	2,43	5,22	2/7/2017	4834	Azuay	2,34	4704
718	1	H	2,66	5,24	14/7/2017	5159	Azuay	1,36	5680
456	1	M	2,88	5,35	14/7/2017	4867	Cotopaxi, Sigchos	1,36	5680
1446	2	M	1,75	5,07	14/7/2017	S/I	S/I	1,36	5680
1446	2	H	2,76	5,71	14/7/2017	S/I	S/I	1,36	5680
1876	1	M	2,23	4,55	14/7/2017	4362	Riobamba, Pungalá	1,36	5680
2364	2	M	1,57	4,77	14/7/2017	S/I	S/I	1,36	5680
2364	2	H	1,96	5,19	14/7/2017	S/I	S/I	1,36	5680
1561	1	M	1,5	4,9	14/7/2017	4672	Chimborazo, Palmira	1,36	5680
1561	1	M	1,5	4,9	21/7/2017	4679	Chimborazo, Palmira	1,89	4870
2427	1	H	2,8	5,06	21/7/2017	4125	Morona Santiago, Macas	1,89	4870

ANEXO 1. Base de datos (continuación)

Número de terrario	Número de animales	Sexo	Peso (g)	Largo recto boca-cloaca (cm)	Fecha	Tiempo en cautiverio (Días)	Procedencia	Peso de la muestra (g)	Carga Parasitaria (hpg)
1502	1	H	2,18	5,26	21/7/2017	4853	Azuay, Elcajas	1,89	4870
718	1	H	2,66	5,24	21/7/2017	5166	Azuay	1,89	4870
648	2	M	1,49	4,83	21/7/2017	4689	Chimborazo, Palmira	1,89	4870
648	2	H	3,08	5,51	21/7/2017	4689	Chimborazo, Palmira	1,89	4870
2463	1	M	2,37	5	18/8/2017	4153	Morona Santiago, Macas	2,062	4656
2364	2	M	1,57	4,77	18/8/2017	S/I	S/I	2,062	4656
2364	2	H	1,96	5,19	18/8/2017	S/I	S/I	2,062	4656
648	2	M	1,49	4,83	18/8/2017	4717	Chimborazo, Palmira	2,062	4656
648	2	H	3,08	5,51	18/8/2017	4717	Chimborazo, Palmira	2,062	4656
556	1	M	1,84	4,72	18/8/2017	5347	Azuay	2,062	4656
1440	1	M	2	5,62	18/8/2017	4397	Riobamba, Pungalá	2,062	4656
1446	2	H	1,75	5,07	18/8/2017	S/I	S/I	2,062	4656
1446	2	H	2,76	5,71	18/8/2017	S/I	S/I	2,062	4656
1670	1	H	3,4	5,58	18/8/2017	4525	S/I	2,062	4656
705	1	H	3,12	5,11	18/8/2017	5083	Cotopaxi, Sigchos	2,062	4656
2465	1	M	2,78	5,4	18/8/2017	4111	Morona Santiago, Macas	2,062	4656

ANEXO 1. Base de datos (continuación)

Número de terrario	Número de animales	Sexo	Peso (g)	Largo recto boca-cloaca (cm)	Fecha	Tiempo en cautiverio (Días)	Procedencia	Peso de la muestra (g)	Carga Parasitaria (hpg)
1446	2	M	1,75	5,07	21/8/2017	S/I	S/I	1,507	4272
1446	2	H	2,76	5,71	21/8/2017	S/I	S/I	1,507	4272
2463	1	M	2,37	5	21/8/2017	4156	Morona Santiago, Macas	1,507	4272
1225	1	M	2,19	5,08	21/8/2017	4470	Chimborazo, Cebadas	1,507	4272
2036	1	M	1,67	5,03	21/8/2017	4377	Azuay, Cuenca	1,507	4272
1505	1	H	2,83	5,49	21/8/2017	4724	Azuay, Cuenca	1,507	4272
1670	1	H	3,4	5,58	21/8/2017	4528	S/I	1,507	4272
1876	1	H	2,23	4,55	21/8/2017	4400	Riobamba, Pungalá	1,507	4272
456	1	M	2,88	5,35	24/8/2017	4908	Cotopaxi, Sigchos	0,928	5096
1440	1	M	2	5,62	24/8/2017	4403	Riobamba, Pungalá	0,928	5096
1311	1	H	1,73	5,04	24/8/2017	4906	Azuay, Cuenca	0,928	5096
705	1	H	3,12	5,11	24/8/2017	5089	Cotopaxi, Sigchos	0,928	5096
2427	1	H	2,8	5,06	24/8/2017	4159	Morona Santiago, Macas	0,928	5096
718	1	H	2,66	5,24	24/8/2017	5200	Azuay	0,928	5096
1446	1	M	1,75	5,07	28/8/2017	S/I	S/I	2,442	4176
1446	1	H	2,76	5,71	28/8/2017	S/I	S/I	2,442	4176
648	2	M	1,49	4,83	28/8/2017	4727	Chimborazo, Palmira	2,442	4176

ANEXO 1. Base de datos (continuación)

Número de terrario	Número de animales	Sexo	Peso (g)	Largo recto boca-cloaca (cm)	Fecha	Tiempo en cautiverio (Días)	Procedencia	Peso de la muestra (g)	Carga Parasitaria (hpg)
1356	1	M	1,78	4,22	28/8/2017	4626	Tungurahua	2,442	4176
1225	1	M	2,19	5,08	28/8/2017	4477	Chimborazo, Cebadas	2,442	4176
2465	1	M	2,78	5,4	28/8/2017	4121	Morona Santiago, Macas	2,442	4176
3014	1	H	2,57	5,65	28/8/2017	3938	Chimborazo	2,442	4176
629	1	H	2,35	4,9	28/8/2017	5172	Azuay, Yanuncachi Iruquis	2,442	4176
1670	1	H	3,4	5,58	28/8/2017	4535	S/I	2,442	4176
648	2	H	3,08	5,51	28/8/2017	4727	Chimborazo, Palmira	2,442	4176
709	1	H	3,17	5,05	28/8/2017	4912	Cotopaxi, sigchos	2,442	4176
705	1	H	3,12	5,11	28/8/2017	5093	Cotopaxi, sigchos	2,442	4176
718	1	H	2,66	5,24	28/8/2017	5204	Azuay	2,442	4176
1505	1	H	2,83	5,49	1/9/2017	4735	Azuay, Cuenca	1,53	3648
3014	1	H	2,57	5,65	1/9/2017	3942	Chimborazo	1,53	3648
473	1	H	3,08	5,66	1/9/2017	5109	Azuay, Cuenca	1,53	3648
648	2	H	3,08	5,51	1/9/2017	4731	Chimborazo, Palmira	1,53	3648
648	2	M	1,49	4,83	1/9/2017	4731	Chimborazo, Palmira	1,53	3648
1440	1	M	2	5,62	1/9/2017	4411	Riobamba, Pungalá	1,53	3648

ANEXO 1. Base de datos (continuación)

Número de terrario	Número de animales	Sexo	Peso (g)	Largo recto boca-cloaca (cm)	Fecha	Tiempo en cautiverio (Días)	Procedencia	Peso de la muestra (g)	Carga Parasitaria (hpg)
2293	1	H	2,1	5,69	1/9/2017	4391	El Oro, Chilla	1,53	3648
2427	1	H	2,8	5,06	1/9/2017	4167	Morona Santiago, Macas	1,53	3648
1229	1	M	1,98	4,93	1/9/2017	4924	Cotopaxi, sigchos	1,53	3648
690	1	H	3,22	5,65	1/9/2017	4908	Cotopaxi, sigchos	1,53	3648
1058	1	M	1,2	4,7	4/9/2017	4749	Chimborazo, palmira	3,04	3072
2463	1	M	2,37	5	4/9/2017	4170	Morona Santiago, Macas	3,04	3072
2364	2	M	1,57	4,77	4/9/2017	S/I	S/I	3,04	3072
2364	2	H	1,96	5,19	4/9/2017	S/I	S/I	3,04	3072
2188	2	M	1,57	5,33	4/9/2017	4394	El Oro, Chilla	3,04	3072
2188	2	M	1,54	5,36	4/9/2017	4394	El Oro, Chilla	3,04	3072
1436	1	M	1,89	5,87	4/9/2017	4414	Riobamba, Pungalá	3,04	3072
1229	1	M	1,98	4,93	4/9/2017	4927	Cotopaxi, sigchos	3,04	3072
556	1	M	1,84	4,72	4/9/2017	5364	Azuay	3,04	3072
1440	1	M	2	5,62	4/9/2017	4414	Riobamba, Pungalá	3,04	3072
2465	1	M	2,78	5,4	4/9/2017	4128	Morona Santiago, Macas	3,04	3072
3003	1	H	2,89	5,85	4/9/2017	6502	Chimborazo, laguna de colta	3,04	3072
3014	1	H	2,57	5,65	4/9/2017	3945	Chimborazo	3,04	3072

ANEXO 1. Base de datos (continuación)

Número de terrario	Número de animales	Sexo	Peso (g)	Largo recto boca-cloaca (cm)	Fecha	Tiempo en cautiverio (Días)	Procedencia	Peso de la muestra (g)	Carga Parasitaria (hpg)
2364	2	H	1,57	4,77	4/9/2017	S/I	S/I	3,04	3072
2364	2	M	1,96	5,19	4/9/2017	S/I	S/I	3,04	3072
1670	1	H	3,4	5,58	4/9/2017	4542	S/I	3,04	3072
2353	1	H	2,28	5,58	4/9/2017	4303	Imbabura, Urcuquí	3,04	3072
705	1	H	3,12	5,11	4/9/2017	5100	Cotopaxi, sigchos	3,04	3072
2293	1	H	2,1	5,69	4/9/2017	4394	El Oro, Chilla	3,04	3072
1502	1	H	2,18	5,26	4/9/2017	4898	Azuay, El Cajas	3,04	3072
718	1	H	2,66	5,24	4/9/2017	5211	Azuay	3,04	3072
629	1	H	2,35	4,9	12/9/2017	5187	Azuay, Yanuncachi Iruquis	1,14	4760
1311	1	H	1,73	5,04	12/9/2017	4925	Azuay, Cuenca	1,14	4760
705	1	H	3,12	5,11	12/9/2017	5108	Cotopaxi, sigchos	1,14	4760
1876	1	H	2,23	4,55	12/9/2017	4422	Riobamba, Pungalá	1,14	4760
1502	1	H	2,18	5,26	12/9/2017	4906	Azuay, El Cajas	1,14	4760
2036	1	M	1,67	5,03	12/9/2017	4399	Azuay, Cuenca	1,14	4760
2839	1	M	1,79	4,95	12/9/2017	4039	Pichincha	1,14	4760
1436	1	M	1,89	5,87	12/9/2017	4422	Riobamba, Pungalá	1,14	4760
1440	1	M	2	5,62	12/9/2017	4422	Riobamba, Pungalá	1,14	4760
2463	1	M	2,37	5	18/9/2017	4184	Morona Santiago, Macas	2,18	4192
456	1	M	2,88	5,35	18/9/2017	4933	Cotopaxi, sigchos	2,18	4192

ANEXO 1. Base de datos (continuación)

Número de terrario	Número de animales	Sexo	Peso (g)	Largo recto boca-cloaca (cm)	Fecha	Tiempo en cautiverio (Días)	Procedencia	Peso de la muestra (g)	Carga Parasitaria (hpg)
2188	2	M	1,57	5,33	18/9/2017	4408	El Oro, Chilla	2,18	4192
2188	2	M	1,54	5,36	18/9/2017	4408	El Oro, Chilla	2,18	4192
1440	1	M	2	5,62	18/9/2017	4428	Riobamba, Pungalá	2,18	4192

ANEXO 2.Base de datos para identificación de los huevos

Especie	Largo	Ancho	Órganos	Descripción	País	Referencia
<i>Rhabdias elegans</i>	91	52	Pulmón	Huevos ovalados, con pared fina, larvados.	Brasil	Nematoides do Brasil (Vicente, Olveira, Correa y Magalhaes, 1991)
	88	53	Pulmón			
<i>Rhabdias spp</i>	87		Heces			
<i>Rhabdias fuelleborni</i>	97	48	Pulmón	Huevos con cubierta fina, hialina	Argentina	Nematode parasites of two anuran species from Corrientes, Argentina (González y Hamann, 2008)
	40	55	Heces			
<i>Strongyloides spp.</i>	37	30	Intestinos		USA, zoo	IMLS amphibian disease manual (Pessier,2009)
<i>Strongyloides mascomai sp.</i>	32	24	Cloaca	Huevos larvados	España	Strongyloidiasis in a cope s grey tree frog (Patterson-Kane, Eckerlin, Lyons y Jewell, 2001) Strongyloides mascomai sp. Un nouveau parasite de Rana perezii del est d espagne (Navarro Lluch, Izquierdo, 1989)
<i>Capillara recondita</i>	38	21	Intestino delgado		Brasil	Nematoides do Brasil (Vicente, Olveira, Correa y Magalhaes, 1991)
<i>Oswaldocruzia lopesi</i>	80	50	Intestino delgado		Brasil	Nematoides do Brasil (Vicente, Olveira, Correa y Magalhaes, 1991)
	80	46	Intestino		Brasil	Nematoides do Brasil (Vicente, Olveira, Correa y Magalhaes, 1991)
<i>Oswaldocruzia mazzai</i>	85	50	Intestino delgado	Estado de mórula	Ecuador	Oswaldocruzia parasitic in Brazilian and Ecuadorian amphibians (Badreddine y Durette- Desset, 1995)
	92	67	Intestino		Brasil	Nematoides do Brasil (Vicente, Olveira, Correa y Magalhaes, 1991)
<i>Oswaldocruzia subauricularis</i>	85	50	Intestino delgado	Estado de mórula	Ecuador, Brasil	Oswaldocruzia parasitic in Brazilian and Ecuadorian amphibians (Badreddine y Durette- Desset, 1995)

ANEXO 2.Base de datos para identificación de los huevos (continuación)

Especie	Largo	Ancho	Órganos	Descripción	País	Referencia
<i>Oswaldocruzia dlouhyi</i>	85	50	Intestino delgado	Estado de mórula	Brasil	Oswaldocruzia parasitic in Brazilian and Ecuadorian amphibians (Badreddine y Durette- Desset, 1995)
<i>Oswaldocruzia Taranchoni</i>	85	40	Intestino delgado	Estado de mórula	Brasil	Oswaldocruzia parasitic in Brazilian and Ecuadorian amphibians (Badreddine y Durette- Desset, 1995)
<i>Schulzia subventricosa</i>	85	56	Intestino delgado y vesícula biliar		Brasil	Nematoides do Brasil (Vicente, Olveira, Correa y Magalhaes, 1991)
<i>Thelandros oswaldocruzi</i>	##	76	Intestino grueso		Brasil	Nematoides do Brasil (Vicente, Olveira, Correa y Magalhaes, 1991)
<i>Gyrinicola chabaudi</i>	##	51	Intestino		Brasil	Nematoides do Brasil (Vicente, Olveira, Correa y Magalhaes, 1991)
<i>Cosmocerca brasiliense</i>	90	54	Intestino delgado y grueso		Brasil	Nematoides do Brasil (Vicente, Olveira, Correa y Magalhaes, 1991)
<i>Cosmocerca freitasi</i>	78	52	Intestino grueso		Brasil	Nematoides do Brasil (Vicente, Olveira, Correa y Magalhaes, 1991)
<i>Cosmocerca parva</i>	##	62	Intestino		Brasil	Nematoides do Brasil (Vicente, Olveira, Correa y Magalhaes, 1991)
	91	57	Intestino grueso		Argentina	Nematode parasites of two anuran species from Corrientes, Argentina (González y Hamann, 2008)
<i>Cosmocerca podicipinus</i>	92	55	Pulmón, intestino grueso		Argentina	Nematode parasites of two anuran species from Corrientes, Argentina (González y Hamann, 2008)
<i>Aplectana crossodactyli</i>	70	74	Intestino		Brasil	Nematoides do Brasil (Vicente, Olveira, Correa y Magalhaes, 1991)

