

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA
Facultad de Ciencias y Humanidades



Excelencia que trasciende

DELVALLE
GRUPO EDUCATIVO

Estado de conservación de la rana arborícola *Plectrohyla guatemalensis* (Anura: Hylidae) y la calidad de agua de su microhábitat en la ciudad de Guatemala, el Parque Ecológico Florencia, Sacatepéquez y San Andrés Semetabaj, Sololá.

Trabajo de graduación presentado por
María Regina Zaghi Lara
para optar el grado de Licenciada en Biología

Guatemala
2015

Estado de conservación de la rana arborícola *Plectrohyla guatemalensis* (Anura: Hylidae) y la calidad de agua de su microhábitat en la ciudad de Guatemala, el Parque Ecológico Florencia, Sacatepéquez y San Andrés Semetabaj, Sololá.

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA
Facultad de Ciencias y Humanidades



Excelencia que trasciende


DELVALLE
GRUPO EDUCATIVO

Estado de conservación de la rana arborícola *Plectrohyla guatemalensis* (Anura: Hylidae) y la calidad de agua de su microhábitat en la ciudad de Guatemala, el Parque Ecológico Florencia, Sacatepéquez y San Andrés Semetabaj, Sololá.


Trabajo de graduación presentado por
María Regina Zaghi Lara
para optar el grado de Licenciada en Biología

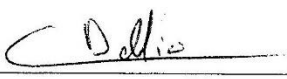
Guatemala
2015

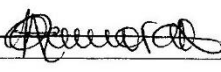
Vo. Bo. :

(f) 
M.Sc. Daniel Ariano
Asesor

Tribunal Examinador:

(f) 
M.Sc. Daniel Ariano

(f) 
M.Sc. Claire Dalliès de Masaya

(f) 
M.Phil. Olga Zamora

Fecha de aprobación: Guatemala, 26 de junio de 2015

Agradecimientos

Mi familia, especialmente mis papás han sido quienes me han brindado su apoyo incondicional toda la vida. Sin ellos no solo no habría concretado este trabajo de investigación, sino que no me encontraría donde estoy el día de hoy. Agradezco profundamente a mi familia por darme el espacio para cumplir mis metas y direccionarlas siempre para un beneficio colectivo y no individual.

Agradezco la dirección, apoyo y paciencia de Daniel Ariano quien ejerció como asesor principal en este trabajo. Fue gracias a su dirección que pude desde seleccionar un tema que me apasionara hasta concretar este estudio. A Claire Dalliès le agradezco el tiempo y las oportunidades que me dio para finalizar esta etapa y a Olga Alejandra Zamora por la revisión, consejos y apoyo.

Las instituciones que me abrieron las puertas para la realización del estudio fueron esenciales para la elaboración de esta investigación. Estas instituciones fueron el Parque Ecológico Florencia en Sacatepéquez, Parque Ecológico y Deportivo Cayalá, Arboretum de la Universidad Francisco Marroquín en Guatemala y Lomas de Atitlán en Sacatepéquez. En especial, le agradezco al Ing. Mario Ubaldino Chiquitó, administrador de la Finca Florencia y a don Florentín, don Rafael y don Erick por su compañía y apoyo en el trabajo en esta finca. Le agradezco al Lic. César Barrios, administrador del Parque Ecológico y Deportivo Cayalá y a la Licda. Raiza Barahona bióloga encargada del sitio. A la Licda. Carmen Mejía, administradora del Arboretum de la UFM y a Samuel Secaira, regente del bosque de Lomas de Atitlán.

Por último, agradezco a mis compañeros y amigos que se aventuraron conmigo para obtener resultados tanto en el campo como en el laboratorio. Alejandro Vásquez, Samuel Secaira, Daniel Gamboa, Marielos España, Alejandro Calderón y Miguel Morales: sin sus conocimientos, consejos y ánimos seguramente no tendría ningún resultado, les agradezco profundamente.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	vi
ÍNDICE.....	vii
LISTA DE CUADROS	viii
LISTA DE FIGURAS	ix
RESUMEN	x
ABSTRACT.....	xi
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MÉTODOS	9
III. RESULTADOS.....	15
IV. DISCUSIÓN	23
V. CONCLUSIONES	27
VI. RECOMENDACIONES.....	29
VII. LITERATURA CITADA	31
VIII. ANEXOS	36

LISTA DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Abundancia y características de <i>Plectrohyla guatemalensis</i> encontradas en los cinco ríos muestreados.....	15
2. Valores de calidad de agua encontrados para cada uno de los ríos muestreados y sus respectivas réplicas.....	16
3. Evaluación de diferencias de los parámetros de calidad de agua de los ríos muestreados con respecto a la presencia/ausencia de la rana arborícola <i>P.guatemalensis</i>	17
4. Regresión logística entre la presencia de <i>P. guatemalensis</i> y los parámetros de calidad de agua de los ríos analizados.....	19
5. Resumen estadístico del análisis bivariado entre la abundancia y los parámetros de calidad de agua muestreados.....	20
6.Parámetros utilizados para la selección de sitios prioritarios de conservación de <i>P. guatemalensis</i>	21
7. Parámetros fisicoquímicos de calidad de agua de acuerdo a normativas nacionales e internacionales	36
8.Parámetros químicos de calidad de agua de acuerdo a normativas nacionales e internacionales	37
9. Parámetros bacteriológicos de calidad de agua de acuerdo a normativas nacionales e internacionales.....	39
10.Parámetros radiológicos de calidad de agua de acuerdo a normativas nacionales e internacionales.....	41

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1. Características diagnósticas. La figura A muestra el prepólex bífido de un macho de <i>P. guatemalensis</i> , la cual se muestra en la figura B con los patrones de colores característicos de la especie.....	3
2. Mapa de distribución de <i>Plectrohyla guatemalensis</i>	4
3. Mapa de los sitios de muestreo de <i>P. guatemalensis</i> en los meses de julio a septiembre de 2014	11
4. Diagrama de flujo de la metodología utilizada para el cumplimiento de objetivos. El color amarillo se refiere a los pasos de preparación para el trabajo, el verde se refiere a trabajo de campo y el azul a trabajo de laboratorio.....	14
5. Gráfico de la relación entre la abundancia y presencia y los ríos muestreados.....	19
6. Gráfico del análisis bivariado entre la abundancia y Sulfatos (figura A) Conductividad (ppm) (figura B) y recuento total de Coliformes (figura C) de los ríos muestreados de julio a septiembre de 2014.....	21
7. Mapa de los sitios prioritarios para la conservación del anfibio de acuerdo a los resultados del estudio.....	22
8. Ficha utilizada en la fase de campo para la recolección de datos del presente estudio.	42
9. Metodología específica utilizada para el análisis de nitritos en las muestras de agua utilizando un colorímetro marca HACH.....	43
10. Metodología específica utilizada para el análisis de nitratos en las muestras de agua utilizando un colorímetro marca HACH.....	44
11. Metodología específica utilizada para el análisis de sulfatos en las muestras de agua utilizando un colorímetro marca HACH.....	46
12. Metodología de inoculación e incubación para el recuento de Coliformes con placas petrifilm 3M.....	47

RESUMEN

Hoy en día, distintos factores como la contaminación ambiental, alteración de ecosistemas, deforestación y otros han generado problemáticas ambientales con las que no nos habíamos enfrentado antes. Estas problemáticas han generado cambios en los ecosistemas que pueden afectar a muchas especies e incluso pueden afectar al ser humano. El presente trabajo trata de encontrar la relación entre la abundancia o presencia de la rana arborícola críticamente amenazada *P. guatemalensis* y la calidad de agua de diversos ríos en el Parque Ecológico Florencia, Sacatepéquez; el Área Metropolitana de Guatemala y en el área privada de Lomas de Atitlán, Sololá. Los resultados permitieron generar una línea base para determinar el estado de las poblaciones, así como el estado en la calidad de agua de los ríos que fueron muestreados.

Se tomó en cuenta parámetros fisicoquímicos como el Oxígeno disuelto, conductividad, temperatura, y cantidad de Nitratos, Nitritos y Sulfatos para verificar la calidad del agua. Además, se realizó un conteo de Coliformes e identificación de macroinvertebrados para utilizarlos como indicadores biológicos de calidad de agua. Cada sitio fue visitado tres veces y se tomaron muestras al inicio, en medio y al final de los transectos de 100 metros. A lo largo de estos transectos se buscó al anfibio en las hojas, troncos, suelo o dentro del agua o bien fue identificado por el canto. Los anfibios colectados fueron medidos; al finalizar se realizó un recuento de la abundancia poblacional por río cada vez que se visitó. Estos datos fueron analizados para determinar si existe una correlación entre la calidad de agua y la presencia y/o abundancia de *P. guatemalensis* en el río.

El presente trabajo muestra los resultados de 15 muestreos realizados en los meses de julio y septiembre de 2014, los análisis de calidad de agua, la abundancia de *P. guatemalensis* en cada río, los sitios prioritarios para conservación del anfibio y la viabilidad de utilizar a la especie como un indicador biológico de buena calidad de agua.

ABSTRACT

Today, a number of factors like environmental pollution, alteration of ecosystems, deforestations and others have generated environmental problems which we had not faced before. These problems have led to changes in ecosystems that may affect many species and can even affect humans. This thesis tries to find the relationship between the abundance and presence of the critically endangered tree frog *P. guatemalensis* and the quality of the river water in which it is located. The selected rivers are located in Parque Ecológico Florencia, Sacatepéquez; Área Metropolitana de Guatemala and in the private area of Lomas de Atitlan, Sololá. The results will attempt to generate a baseline to verify the status of populations, as well as the state water quality of the rivers sampled.

Physicochemical parameters such as dissolved oxygen, conductivity, temperature, and amount of nitrates, nitrites and sulfates were measured to verify water quality. Besides, coliform count and identification of macroinvertebrates was done to use as biological indicators of water quality. Each site was visited three times and samples were taken at the beginning, middle and end of 100 meter transects. It is along these transects that I searched the amphibian in the leaves, stems, soil or in the water; it was also identified by singing. The collected amphibians were measured during each visit. These data was analyzed to determine if there is a correlation between water quality and the presence and/or abundance of *P. guatemalensis* in the rivers.

This work shows the results of 15 samples taken in August and September 2014, for analysis of water quality, the abundance of *P. guatemalensis* in each river, the priority sites for amphibian conservation and the feasibility of using this species as a biological indicator of good water quality.

I. INTRODUCCIÓN

Todos los organismos dependen del ambiente en el que se encuentran para sobrevivir, si existen alteraciones en el ambiente en el que se encuentran la supervivencia se ve comprometida. En este trabajo se verificaron factores que determinan la calidad de agua del ambiente lótico de la especie de rana arborícola altamente amenazada: *Plectrohyla guatemalensis*.

A. Antecedentes

Etimológicamente, el origen de la palabra “anfibio” se deriva del griego “amphi” que significa que algo es de dos lados, ambos o ambiguo y “bio” que significa vida; siendo entonces, animales con una vida doble: acuática y terrestre (Orozco 2007). Lo anterior implica una alta dependencia del anfibio para su reproducción en medios acuáticos, sin embargo, aunque es el modelo reproductivo más conocido, existen otras modalidades de reproducción e interacción de los organismos con su ambiente. Una de las particularidades de los anfibios es que el órgano de la piel tiene la función de osmorregulación, respiración y secreción de moco para mantener humedad y veneno para protección. Por otro lado, los anfibios no tienen estructuras externas como escamas, plumas o pelos, lo que los convierte en organismos con mayor sensibilidad ambiental (Davies 2003).

Los roles que juegan los anfibios a nivel ecológico y socioeconómico son diversos (Lips y Reaser 1999). Por ejemplo, en muchas culturas los anfibios son importantes para la alimentación. Las famosas “ancas de rana” que suelen pertenecer a miembros de las familias Ranidae y Leptodactylidae son parte de la alimentación de algunos grupos culturales. Otras recetas que incluyen anfibios son consumidas en el mundo, pero la utilización de carne de anfibios como materia prima ha resultado en la disminución de sus poblaciones, en la mayoría de los casos. Por otro lado, los anfibios han sido utilizados en la medicina tradicional y, en la actualidad, se están llevando diversos estudios para aprovechar el potencial farmacéutico en la medicina moderna (Stuart *et al.* 2008). Los anfibios, además, han sido utilizados para control de plagas y son parte del comercio internacional. Tienen una importancia carismática, alto valor en algunas culturas y muchas veces son especies bandera (Lips y Reaser 1999).

A nivel ecológico, los anfibios son abundantes en algunos ecosistemas, especialmente en sitios muy húmedos, siendo importante biomasa para estos. Además, aunque hay variedad de alimentación entre los grupos de anfibios, la mayoría se alimenta de invertebrados o vegetación (Suazo y Alvarado 2004). Algunos estudios realizados con salamandras muestran que los anfibios son eficientes para transformar alimento en energía, la cual es integrada en las redes tróficas de los ecosistemas (Burton y Likens 1975).

En Guatemala hay registradas, al menos, 167 especies de anfibios, según Ariano (2014), los cuales están distribuidos en las 8 regiones naturales creadas por Stuart en 1942 y se basan en la distribución de salamandras. En estas ocho regiones la distribución de anfibios varía de acuerdo a sus características, por ejemplo, las salamandras prefieren ambientes húmedos y de gran altura, mientras que los anuros suelen encontrarse en todas las áreas pero son más numerosos en áreas montañosas (Campbell y Vannini 1989).

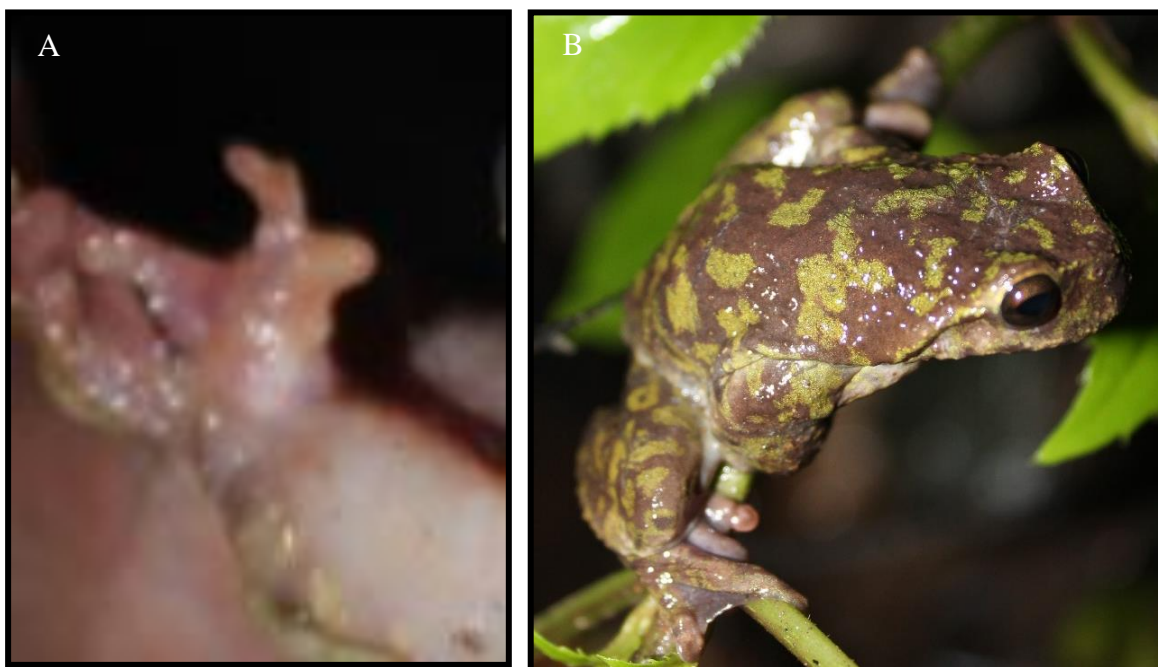
La familia Hylidae pertenece al orden Anura (sapos y ranas). Esta familia es muy diversa ya que cuenta con al menos 35 géneros y más de 600 especies. El género de *Plectrohyla* pertenece a la subfamilia Hyliinae, posee 21 especies, entre las que se encuentra *P. guatemalensis* (Duellman y Campbell 1992). El género fue descrito por primera vez en el Boletín filomático de París en 1877 por Brocchi, en donde justificaba que la ausencia de un tímpano visible y la singularidad en la conformación de las manos implicaba una nueva categoría de género. Además, sugiere el nombre de la especie ya que encontró al individuo en Patzicía, Chimaltenango en Guatemala (Brocchi 1877).

Este anfibio posee un cuerpo robusto con medidas promedio del largo del hocico hasta la cloaca de 47.5 mm en machos y 48.6 mm en hembras. Poseen una cabeza ligeramente más ancha que larga con un hocico corto y redondeado y ligeramente levantado si se observa de perfil. Las cavidades nasales se encuentran más cercanas al ojo que al hocico por una distancia de $\frac{4}{5}$ el diámetro del ojo, los cuales suelen ser bastante grandes con pupilas horizontales y elípticas. Poseen dientes pequeños fuertemente protuberantes en la mandíbula superior con 2-4 dientes, separados a nivel medio. Su lengua es ovoide y levemente libre posteriormente; dientes maxilares espatulados, algunos dientes anteriores alargados en machos; sacos y hendiduras vocales ausentes. No poseen tímpano visible pero poseen un pliegue supratimpánico, llamado así por encontrarse desde la esquina posterior del ojo llegando hasta el brazo. El brazo, es ancho en la parte superior cuando se trata de un macho, en hembras, suele ser más delgado. Las manos son largas con dedos delgados y discos grandes y redondos. Una de las características principales es que poseen una espina prepólica bífida (ver Figura 1). No existe una membrana axilar. Tienen la abertura anal con dirección posteroventral a nivel medio de los muslos, bordeada lateralmente por pliegues dermales verticales. Poseen tubérculos redondos en toda la parte dorsal, ventral y lateral, especialmente en la parte baja del dorso y detrás de las costillas. Los colores de *P. guatemalensis* pueden variar entre verde-olivo, verde opaco y manchas rojizas, cafés o verde brillante. Los renacuajos poseen un disco oral agrandado y estrías cortas en la mandíbula y en los procesos laterales (Duellman y Campbell 1992).

Algunas características específicas de la mano de este anfibio: el diámetro del disco del tercer dígito es mayor que el diámetro del ojo. La longitud relativa de los dedos sigue el siguiente parámetro: $I < II < IV < III$. Posee distintas formas de tubérculos de acuerdo a la posición de la mano; los tubérculos subarticulares son moderadamente largos, subcónicos o

globulares, menos en el dígito IV en donde es comúnmente bífido; los tubérculos supernumerarios son largos, redondos, presentes solo en los segmentos proximales; poseen tubérculo palmar bajo, plano y bífido; y tubérculos accesorios palmares numerosos, redondos y globulares. El prepólex es una característica importante, ya que es bastante grande, especialmente en los machos que lo utilizan para pelear. El prepólex es bífido mucho más largo en el externo, y comúnmente con hueso sobresaliente y sin excrescencias nupciales (Figura 1). Por ser de la familia Hylidae, este anfibio posee membrana interdigital excepto en entre el primer y segundo dedo (Duellman y Campbell 1992).

FIGURA 1. La figura A muestra el prepólex bífido de un macho de *P. guatemalensis*, la cual se muestra en la figura B con los patrones de colores característicos de la especie.



(Fotografías por Regina Zaghi)

Los miembros posteriores del anfibio son relativamente cortos y robustos con un largo de tibia de la mitad del largo entre el hocico y cloaca del animal. La longitud del pie es casi del mismo tamaño que la tibia y sólo posee un pliegue tarsal interno que cubre tres cuartos del tarso distal o lo cubre en su totalidad. Los tubérculos en los pies son tubérculos subarticulares de los pulgares redondeados, globulares; tubérculos supernumerarios ausentes; tubérculos plantares pequeños, redondos, levemente elevados y globulares; tubérculo metatarsal externo ausente; tubérculo metatarsal interno elíptico, plano, visible desde abajo; tubérculo metatarsal externo ovoide, pequeño y elevado. Poseen una franjadermal distintiva que se extiende desde el tubérculo metatarsal interno hasta el disco del primer dígito. Sus pulgares son delgados y siguen el mismo patrón de longitud que en la mano. Cuatro de los cinco dedos poseen una membrana (Duellman y Campbell 1992).

Plectrohyla guatemalensis, se encuentra distribuida en bosques nubosos y de pino-encino a alturas entre 990 y 2500 msnm (Ver Figura 2). Aparece en la Sierra Madre desde el sureste de Chiapas, México por las tierras altas centrales y del suroeste de Guatemala llegando al noroeste de El Salvador y en la Sierra Central de Honduras (Ver Figura 2) (Duellman y Campbell 1992). En Guatemala se encuentran en las regiones de Jalapa, Huehuetenango y Chimaltenango, de acuerdo a la clasificación de Stuart de 1964 (Méndez 2008). Las poblaciones se encuentran en descenso convirtiéndola en una especie común de encontrar en Honduras pero poco común en Guatemala y El Salvador. Lo último se debe a destrucción de hábitat por el avance de la urbanización y a la infección con Quitridiomicosis (Santos-Barrera 2004).

FIGURA 2. Mapa de distribución de *Plectrohyla guatemalensis*



(Santos-Barrera y Canseco-Márquez 2010)

En los últimos años las poblaciones de anfibios sufrieron un declive alarmante en sus poblaciones, siendo este fenómeno una nueva emergencia ecológica progresiva (Lips y Reaser 1999). Existen muchos factores antropogénicos que podrían haber generado esta problemática, sin embargo, muchos de estos factores tienen un efecto desencadenador y actúan de manera indirecta en el problema, dificultando las formas de manejo y mitigación de amenazas. El cambio climático, los cambios en la cantidad de radiación ultravioleta (UV) las sequías e inundaciones, capacidad de ozono presente y otras, son algunos de los factores que pueden afectar a las poblaciones de anfibios (Kiesecker, Blaustein y Belden 2001). Sin embargo, al ser tantos los factores asociados a la extinción masiva de los anfibios, es difícil pensar que éstos son afectados en sus genes, como individuos, en poblaciones y comunidades solamente por un factor decisivo (Blaustein *et al.* 2011).

Muchos estudios realizados sobre patógenos en anfibios suelen relacionar a un patógeno con un solo hospedero, sin tomar en cuenta que más del 80% de los mismos poseen más de

un hospedero y que los hospederos pueden tener más de un agente infeccioso a la vez. Esto significa que, tomar a cualquiera de los patógenos mencionados como el único causante del declive poblacional, sería una conjetura muy arriesgada (Blaustein *et al.* 2011). En Estados Unidos, varios estudios sobre el declive de las poblaciones de anfibios han logrado avances en la materia en cuanto a factores que afectan negativamente y patógenos relacionados (Green, Converse y Schrader 2002). El oomicete patógeno, *Saptrulegnia ferax*, está asociado a la precipitación y la exposición de renacuajos a rayos UV-Beta; los cambios de estos parámetros en los sitios de ovoposición de los anfibios generan mayor vulnerabilidad a este patógeno causando la muerte de los mismos (Kiesecker, Blustein y Belden 2001). Otros patógenos infecciosos importantes incluyen al hongo *Batrachochytrium dendrobatidis*, generador de la Quitridiomycosis, una enfermedad en la piel que se sospecha afecta la osmorregulación de algunos individuos y la frecuencia cardíaca, entre otras consecuencias para el anfibio (Johnson 2006; OIE 2011; Peñalva *et al.* 2011; Koprivnikaret *al.* 2012); distintos virus de *Ranavirus* que pueden no generar síntomas en los anfibios y causar grandes catástrofes a nivel poblacional por ser sumamente letales (Pessier y Mendelson 2010; Hoverman *et al.* 2012); algunos trematodos como *Ribeiroia ondatrae* son reconocidos por generar malformaciones en anfibios (Johnson *et al.* 2008 y 2009) y algunos Equinostomas, que afectan principalmente heridas anteriores en los organismos (Hoverman *et al.* 2012).

1. Calidad de agua. El agua potable es el término utilizado para referirse al agua que posee las características estrictas que son permitidas para el consumo humano, sin que éste sufra de alguna intoxicación o contraiga alguna enfermedad. No toda el agua puede ser potable, pero la gestión y cuidado de todo recurso hídrico es de vital importancia para la prevención y tratamiento de agua con posibilidad para el consumo o la interacción con el humano. La calidad del agua está relacionada al uso que le den a la tierra en la cuenca natural donde se encuentra. Las actividades como la minería, agricultura, ganadería, construcciones, desviación a los cauces de los ríos, eliminación de desechos y otras causan cambios en la calidad del recurso (OMS 2008).

A pesar de que el país cuenta con 97,120 millones de metros³ de agua dulce disponible anualmente, la problemática con respecto a la disposición de este recurso por áreas y especialmente las condiciones del recurso para uso humano dejan mucho que desear. Esta disponibilidad depende no solo de la región en la que se encuentre sino de también de las condiciones y factores que puedan afectar la calidad del recurso (SEGEPLAN 2006).

Los parámetros de calidad para el consumo de agua potable y calidad de los recursos hídricos del país se basan en distintos documentos de legislación nacional e internacional. La comisión Guatemalteca de Normas –COGUANOR- generó en el 2003 un documento sobre las normas guatemaltecas obligatorias que establecen los parámetros del agua potable en el país (COGUANOR 2003). Además, se emitió el acuerdo gubernativo 66-2005, el reglamento de descarga de aguas residuales a cuerpos receptores; sin embargo, este acuerdo fue derogado

totalmente el mismo año. Al año siguiente entraron en vigencia los acuerdos gubernativos 235-2006 y 236-2006, los reglamentos de la descarga y re uso de aguas residuales y de la disposición de lodos. Estos acuerdos se realizaron con el objetivo de proteger los cuerpos receptores de agua, evitar los procesos de eutrofización y promover una visión de gestión integrada del recurso (Gobierno de Guatemala 2006). La Organización Mundial de Salud – OMS – ha generado distintos documentos o guías con información actualizada y tomando en cuenta los resultados de análisis científico y ha generado un conjunto de parámetros aplicables a nivel mundial (2014). En los cuadros 7 - 10 en anexos se resumen los parámetros establecidos por estos documentos.

Si bien la mayoría de parámetros de agua están establecidos para agua potable y reglamentos sobre desechos en cuerpos de agua, no existen parámetros cuantitativos que reflejen las necesidades de la fauna y flora silvestre en los cuerpos de agua. En específico, sabemos que los anfibios son especialmente sensibles al ambiente, por ejemplo, se sabe que son altamente dependientes de la humedad por los procesos de respiración cutánea que realizan; la temperatura es crítica porque influye en el desarrollo y ciclos reproductivos de los anfibios. Por otro lado, sitios con un pH muy bajo podrían alterar el crecimiento de los organismos. Estos factores, alteran, además de sus ciclos biológicos, su distribución y abundancia (Heyer 1994).

B. Justificación

En el presente trabajo de investigación se pretendió hacer una relación entre la presencia de *P. guatemalensis* en diversos ríos del área metropolitana, Sacatepéquez y Sololá y la calidad de agua de los mismos. Además, se buscó generar información sobre la abundancia de las poblaciones del anfibio en los departamentos mencionados, así como determinar áreas prioritarias de conservación para mitigar amenazas para el anfibio y el mantenimiento de cuerpos de agua dulce con una buena calidad de salubridad en el área.

La Lista Roja de Especies Amenazadas de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza –UICN- tiene el objetivo de generar la información necesaria para la toma de decisiones de conservación de la diversidad biológica mundial (IUCN 2013). Para esto, ofrece una serie de criterios y clasificaciones basados en la abundancia y tamaño poblacional, rango geográfico, distribución, análisis de viabilidad, entre otros. De acuerdo a estos criterios, la UICN ha declarado que la especie *P. guatemalensis* se encuentra en la categoría de “Peligro crítico” con los criterios “A3e”. En términos generales, esto significaría que puede haber una reducción en el tamaño poblacional, un rango geográfico disminuido o fragmentado, un tamaño poblacional de 250 o menos individuos maduros o los resultados de análisis cualitativos que predican su extinción en vida silvestre (Santos-Barrera y Canseco-Márquez 2010). En el caso de *P. guatemalensis* los criterios responden a la proyección de una

reducción de la abundancia poblacional en un 80% o más a causa de especies introducidas, hibridación, patógenos, contaminación, competencia o parásitos. Por ejemplo, el hongo *Batrachochytrium dendrobatidis* es el causante de la Quitridiomycosis, una enfermedad que afecta a anfibios y es uno de los causantes más importantes del declive poblacional de anfibios a nivel mundial, sin ser *P. guatemalensis* una excepción a este fenómeno (Mendelson *et al.* 2004).

En el plan de acción de la Estrategia Nacional de Diversidad Biológica, elaborado por el Consejo Nacional de Áreas Protegidas –CONAP- (2013), se establece que las especies que están amenazadas o en peligro de extinción deberán entrar en programas de conservación *in situ* o *ex situ* que disminuyan sus amenazas. Los anfibios, en especial, juegan un papel importante dentro de los ecosistemas por el control que mantienen de las poblaciones de invertebrados de las que se alimentan. Además, son importantes por su potencial en la investigación farmacéutica y biomedicina, así como investigaciones científicas diversas (Suazo y Alvarado 2004). Por otro lado, los anfibios tienen una alta sensibilidad a cambios ambientales, por ejemplo, se sabe que varios pesticidas tienen efectos negativos en las poblaciones de anfibios: alteraciones neuromusculares, anomalías en el desarrollo y en las respuestas fisiológicas, cambios en el comportamiento e incluso cambios en la respuesta inmune (Gilbertson 2001). La importancia ecológica y sensibilidad de los anfibios los hace ideales para el análisis de calidad de los ecosistemas y cuerpos de agua (Rodríguez 2004; Rice *et al.* 2013).

Tomando en cuenta la vulnerabilidad de *P. guatemalensis*, su potencial como modelo de reproducción en cautiverio para otras especies del género (Campbell 2010), sensibilidad al ambiente y potencial como indicador de calidad de agua; esta especie es de vital importancia para su conservación y trabajos relacionados con ella. De acuerdo a la distribución que presenta Köhler en su guía de anfibios de Centroamérica (2011), *P. guatemalensis* se encuentra presente en varios departamentos del país, incluyendo a Guatemala y Sacatepéquez.

La urbanización creciente es uno de los factores importantes que contribuye con la destrucción y/o alteración del hábitat de varias especies, incluyendo el de este anfibio. La conservación de la diversidad biológica en el área metropolitana es un tema importante al que no se le ha dado mucha atención en los últimos años. Siendo *P. guatemalensis* una especie que se encuentra en esta área, es importante tomar las consideraciones necesarias para su conservación, especialmente si el anfibio puede funcionar como un indicador de calidad de agua. En las áreas urbanas la calidad de agua de los ríos tiene un impacto directo no solo en la diversidad biológica sino en la salud humana, por lo que es importante mantener cuerpos de agua urbanos con una alta calidad sanitaria.

C. Objetivos

1. Objetivo general

- Evaluar el estado de conservación de la rana arborícola críticamente amenazada *Plectrohyla guatemalensis* y su microhábitat lótico en los departamentos de Guatemala, Sacatepéquez y Sololá.

2. Objetivos específicos

- Determinar la distribución de *Plectrohyla guatemalensis* en los ríos Manzano y San Miguel, Sacatepéquez; ríos Negro y Contreras, Guatemala y río de Lomas de Atilán en Sololá.
- Analizar la calidad de agua de los ríos mencionados en cuanto a Nitratos, Nitritos, Sulfatos, Oxígeno disuelto, Conductividad, Temperatura, Coliformes y el valor de tolerancia de macroinvertebrados.
- Determinar la relación entre la presencia de *P. guatemalensis* y la calidad de agua en los ríos Manzano y San Miguel, Sacatepéquez; ríos Negro y Contreras, Guatemala y río de Lomas de Atilán en Sololá.
- Determinar la relación entre la abundancia de *Plectrohyla. guatemalensis* y la calidad de agua en ríos mencionados anteriormente.
- Priorizar sitios de interés para la conservación de la rana en el área de estudio.

D. Hipótesis de trabajo

- Existe diferencia significativa en la abundancia de *P. guatemalensis* entre los cinco ríos muestreados.
- Existe diferencia significativa en la calidad de agua entre los cinco ríos muestreados.
- Existe relación entre la calidad de agua y la abundancia de *P. guatemalensis*.
- Existe relación entre la calidad de agua y la presencia de *P. guatemalensis*.

II. MÉTODOS

A. Descripción de los sitios de estudio

1. Parque Ecológico Florencia –PEF-. El Parque Ecológico Florencia pertenece a la municipalidad de Guatemala y se encuentra bajo el nombre de “Finca Florencia”. Está ubicado en el municipio de Santa Lucía Milpas Altas, Sacatepéquez, con una extensión de 407 hectáreas, las cuales contienen bosque natural, áreas de recreación y vivienda, caminos y áreas de cultivo. El área limita con la carretera de San Lucas y además, en el área se encuentran remanentes de un sitio colonial (Aparicio 1993).

En esta área se puede encontrar bosque húmedo montano bajo subtropical, una temperatura promedio de 19°C y una precipitación anual de 1224 mm. Dentro del área nace el río Manzano y se encuentra el Río San Miguel, el cual generalmente recibe los desechos de los pobladores del municipio. El bosque mixto presenta las especies *Quercus brachystacys* y *Quercus tristis* como predominantes de la vegetación. En este sitio se ha registrado la presencia de la rana *P. guatemalensis* (Ariano 2003).

2. Parque Ecológico y deportivo Cayalá –PEDC-. El parque fue creado en 1995 por la Fundación para el Ecodesarrollo y la Conservación –FUNDAECO- para ser parte del cinturón verde metropolitano y un modelo de aprovechamiento de bosques del área. Consta de 9.78 hectáreas que incluyen zonas de barranco (altura máxima de 1265 msnm) y está atravesado por el Río Contreras. La zonificación del parque consta con zona de recuperación de ladera, bosque degradado y ladera, bosque primario sin regeneración, zona natural de ladera y en el lecho del río está la zona de bosque primario con regeneración. En el parque se puede encontrar un bosque clasificado como muy húmedo montano bajo subtropical de acuerdo a la clasificación de zonas de vida de Holdrige (1967). La precipitación anual oscila entre 1047 y 1588 mm en temperaturas de entre 15 y 23°C con un índice de evaporación relativa de 0.75. Posee una época de invierno marcada entre los meses de junio a octubre, que fueron los meses en que se desarrolló el trabajo de investigación (FUNDAECO 2003).

Tiene como objetivo ser el parque modelo de Cinturón Ecológico Metropolitano, junto con otras áreas verdes conformadas por barrancos y parques de la ciudad. Se encuentra ubicado en el Kilómetro 2.5 de la carretera a Santa Rosita en la zona 16 de la capital metropolitana. Además de ser un área de conservación, está designada para recreación y especialmente para educación ambiental. Dentro del parque se encuentran varias especies de flora con importancia comercial por el uso de su madera para construcción y como combustible; algunas especies que se encuentran son: *Quercus candicans*, *Bursera simarouba*, *Pinus oocarpa* entre otras (se tienen registradas al menos 40 especies de árboles). Por otro lado, se tienen registradas 15 especies de mamíferos incluyendo a *Urocyon cinereoargenteus* y *Mustela frenata*; también hay registro de varias especies de aves, incluyendo 9 especies migratorias (FUNDAECO 2003).

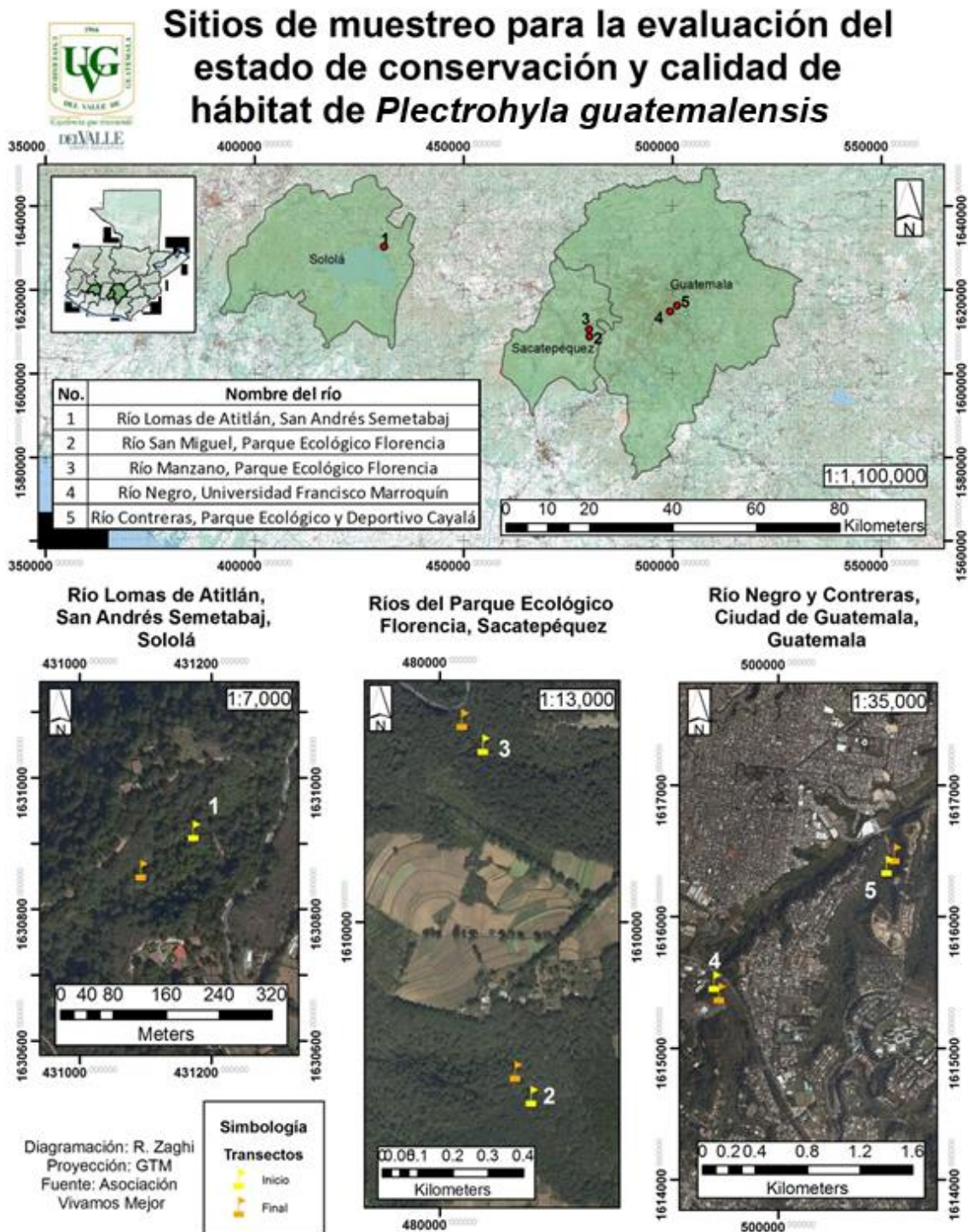
3. Arboretum de la Universidad Francisco Marroquín –UFM-. El Arboretum consta de 28 manzanas que son parte de un proyecto de biodiversidad que la Universidad Francisco Marroquín inició en 1980. Este proyecto es reforzado en 1994 por la identificación y rescate de orquídeas y otra flora en el área; en 1998 inicia un proyecto de reforestación con pinos, encinos, cipreses y jacarandas y se logra un programa para evitar la tala en el sitio. Desde 2003 se trabaja en la conservación, clasificación y trabajos de enseñanza ambiental en el área (Universidad Francisco Marroquín 2007).

El área se encuentra ubicada dentro de la Universidad Francisco Marroquín en la Calle Manuel F. Ayau en la zona 10 capitalina. El bosque que contiene se encuentra en un área de barranco en donde se encuentra el Río Negro rodeado de remanentes boscoso de Bosque Montano con predominantes encinos (*Quercus* spp.). Por otro lado, también hay registradas especies de árboles ornamentales como *Simarouba glauca* y *Liquidambar styraciflua*; hay registradas 15 especies de árboles y aproximadamente 400 especies de plantas con otros hábitos. Se han registrado 19 especies de hongos incluyendo *Stereum* sp., *Polyporus hirsutus*, *Ganoderma tsugae* y otros. Hay identificados 132 artrópodos, 197 aves, 11 mamíferos, 34 reptiles, 1 especie de pez y 19 especies de anfibios; entre las que se incluyen a *Plectrohyla guatemalensis* y *P. guatemalensis* (Universidad Francisco Marroquín 2007).

4. Río Lomas de Atitlán –LA-. La lotificación de Lomas de Atitlán pertenece a la Asociación de Lomas de Atitlán siendo ésta una propiedad privada organizada por la junta directiva que administra y representa el sitio. El área cuenta con 23 residencias privadas y propiedad comunal conformada por áreas verdes, caminos, nacimientos de agua y remanentes boscosos. Los nacimientos de agua en el territorio son parte de los recursos hidrográficos naturales que posee, además, hay una represa en uno de los ríos; los nacimientos están en concesión para Lomas por 10 años desde el 2014 (Junta Directiva de Lomas de Atitlán 2014).

Los remanentes boscosos que se encuentran están clasificados como “Bosque mixto” o “de Pino-encino” de regeneración secundaria, ya que, hace al menos 60 años, existen registros de que en el área se cultivaba trigo (Junta Directiva de Lomas de Atitlán 2014). El sitio se caracteriza por las especies como *Pinus pseudostrobus* y *Quercus tristis*; además, hay especies de árboles como *Alnus acuminata* y *Cupressus lusitanica*. Han sido identificadas al menos 82 especies de aves; 9 de mamíferos entre los que se encuentra *Urocyon cinereoargenteus* y *Mustela frenata*; reptiles del género *Sceloporus*, *Anolis* y *Corytophanes* (Oxom 2013); y algunos anfibios como *Craugastor stuarti*, *Bolitoglossa dofleini* y *Plectrohyla guatemalensis* (Junta Directiva de Lomas de Atitlán 2014).

FIGURA 3. Mapa de los sitios de muestreo de *P. guatemalensis* en los meses de julio a septiembre de 2014



B. Materiales y métodos

1. Muestreo de *P. guatemalensis*. Como se muestra en la Figura 3, se realizó una inspección por encuentro visual -IEV- en transectos de 100 x 2 metros en cada uno de los ríos. En cada uno se hizo un transecto nocturno en los sitios determinados en el Mapa 1. Los transectos se llevaron a cabo de 20:00 – 23:00 horas en los meses de julio a septiembre, en la época lluviosa. En el transecto se colocó una marca en la vegetación para identificación de las áreas con mayor densidad de ranas. Cada sitio fue visitado tres veces con una distribución aleatoria de las fechas de visita.

Los individuos recolectados fueron manipulados con guantes de látex previamente hervidos para eliminar el talco. Se utilizó un guante nuevo por cada individuo manipulado para evitar la contaminación o transmisión de enfermedades (Angulo *et al.* 2006). El equipo de trabajo: vernière, botas, redes, ropa y llantas de los vehículos fueron esterilizados con Lysol (que contiene 1% de cloruro de benzalconio) antes y después de iniciar la toma de muestras (Stetzinger 2012).

Con un GPS se anotaron las coordenadas UTM para identificar el punto de encuentro con cada individuo. Además, se tomaron datos de: a) hora de colecta; b) altura de percha; c) sexo (cuando se pudo); d) medidas biométricas: d.1) longitud hocico-cloaca; d.2) longitud de la tibia; d.3) ancho de cabeza (Aguirre-León 2011); y e) observaciones generales del individuo (en caso presente heridas o infecciones visibles). Se tomaron en cuenta individuos identificados por canto que no pudieron ser capturados.

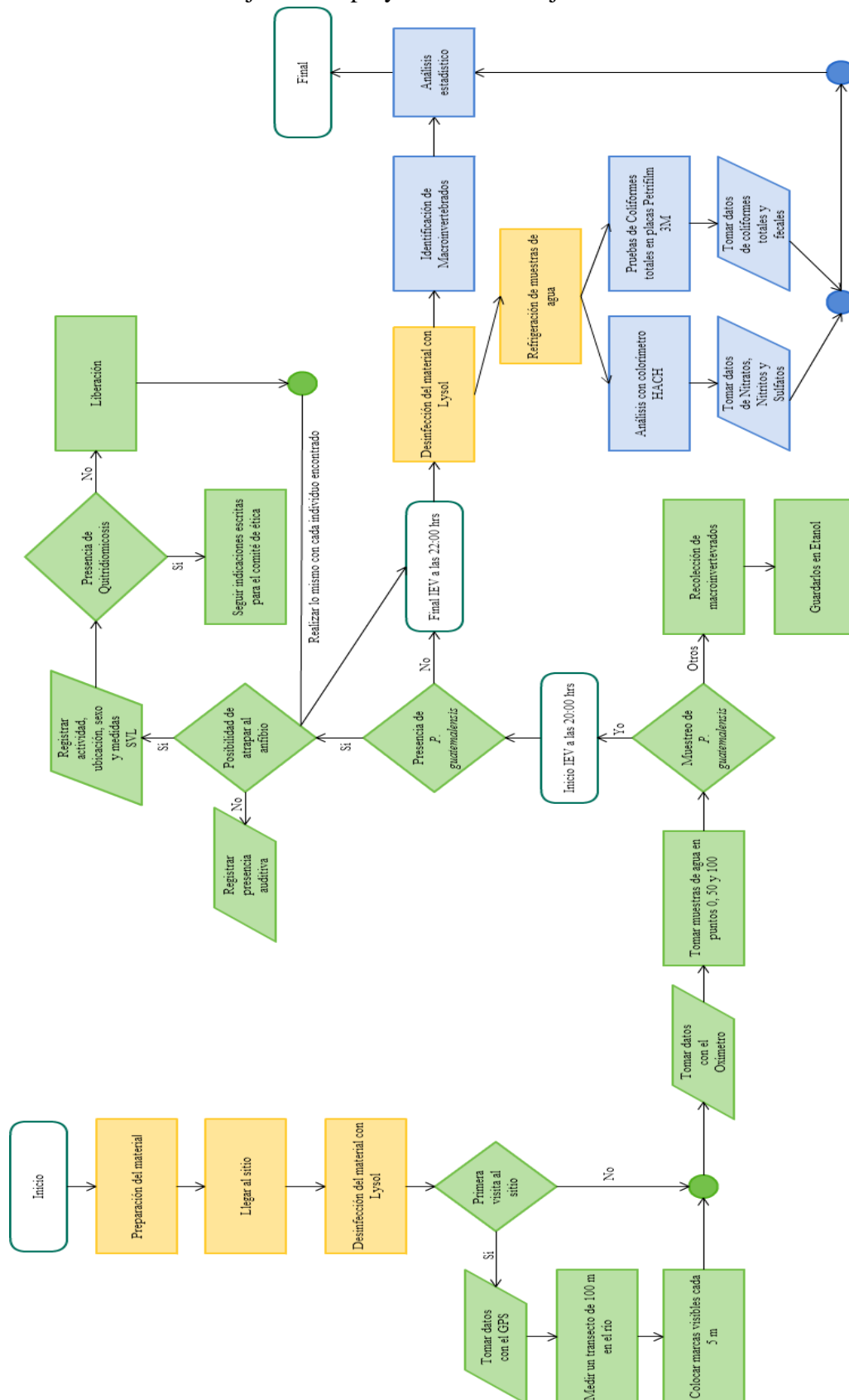
2. Toma de muestras y análisis de calidad de agua. Se seleccionaron tres puntos al inicio, en medio y al final de cada transecto, de los cuales se tomó una muestra de inmersión al medio de la corriente para evitar contaminación de la orilla. Las botellas utilizadas fueron previamente lavadas y cerradas hasta el momento de colecta y tenían una capacidad de 2 litros. Las botellas fueron sumergidas bajo el agua con la boca hacia abajo al ingresar y luego en contra de la corriente. Una vez llenas, se sacaron del agua y fueron cerradas inmediatamente. Las muestras fueron almacenadas en hieleras acondicionadas con “ice packs” suficientes para mantener una temperatura de aproximadamente 4°C (Zaixso 2002).

Con un oxímetro se tomaron los datos de: a) niveles de oxígeno disuelto (OD); b) concentración de oxígeno; c) conductividad; y d) temperatura. Para la recolección de invertebrados bentónicos se utilizó una red fina que se colocó cerca del fondo del río mientras se dieron pequeñas patadas al sedimento con las botas de hule. Los organismos fueron colectados en frascos con etanol al 70% (Bouchard 2004).

3. **Análisis en laboratorio.** La identificación de macroinvertebrados se realizó en el laboratorio con un estereoscopio y la guía de Macroinvertebrados acuáticos de Bouchard (2004). Por otro lado, se utilizó un instrumentomarca HACH para el análisis de agua utilizando la metodología adecuada según las características del instrumento de medición sugerido por la empresa para la medición de nitritos (Figura 10 en anexos), nitratos (Figura 11 en anexos) y sulfatos (Figura 12 en anexos) (Hach company 2007). Las muestras de agua recolectadas también fueron utilizadas para realizar un análisis de coliformes utilizando las placas de petrifilm 3M para recuento de *Escherichia coli* y Coliformes varios de acuerdo a las indicaciones de la empresa que produce las placas (ver Figura 13 en anexos) (3M 2011).

Se utilizó el paquete estadístico JMP 5 para llevar a cabo los análisis estadísticos necesarios para el cumplimiento de los objetivos planteados. En la Figura 4 se muestra un diagrama que grafica la sucesión metodológica que se utilizó para llevar a cabo este proyecto de investigación. En dicha figura se muestra con color amarillo los pasos previos requeridos para realizar una tarea específica como la desinfección del material antes de utilizarlo. Con color verde se muestran las fases relacionadas al trabajo de campo y con color azul se muestran las fases relacionadas al trabajo de laboratorio.

FIGURA 4. Diagrama de flujo de la metodología utilizada para el cumplimiento de objetivos. El color amarillo se refiere a los pasos de preparación para el trabajo, el verde se refiere a trabajo de campo y el azul a trabajo de laboratorio.



III. RESULTADOS

Se realizaron tres muestreos en cada uno de los cinco ríos seleccionados, para los cuales se tomaron las muestras y se analizaron al principio, medio y final del transecto en el tramo del río correspondiente. El cuadro 1 muestra un total de 26 individuos de *P. guatemalensis* identificados a lo largo del estudio realizado. Se puede observar que todos los organismos recolectados, exceptuando uno, fueron encontrados en el Parque Ecológico Florencia en Sacatepéquez; el otro individuo fue localizado en Lomas de Atitlán, Sololá. La mitad de los organismos identificados no pudieron ser medidos porque fueron identificados por canto y separados del resto por su posición en el transecto. No se encontró ningún ejemplar de *P. guatemalensis* en el río Negro y en el río Contreras, ambos en la Ciudad Capital de Guatemala. En ambos sitios había sido reportada la especie en años anteriores, por lo que se presume que la misma se encuentra extinta actualmente en ambas localidades.

CUADRO 1. Abundancia y características de *Plectrohyla guatemalensis* encontradas en los cinco ríos muestreados.

No.	Fecha	Río	Sitio	Departamento	Sexo	Altura de percha (m)	Posición transecto (m)	SVL (mm)	Tibia (mm)	Ancho de Cabeza (mm)	Actividad	Identificación por canto
1	10/09/2014	Río de Lomas de Atitlán	San Andrés Semetabaj	Sololá	H	1.5	45	36	29	19	Perchada	
2	01/09/2014	Río Manzano	Parque Ecológico Florencia	Sacatepéquez	n.d.	0	0	n.d.	n.d.	n.d.	Vocalizando	X
3	01/09/2014	Río Manzano	Parque Ecológico Florencia	Sacatepéquez	n.d.	0	0	n.d.	n.d.	n.d.	Vocalizando	X
4	01/09/2014	Río Manzano	Parque Ecológico Florencia	Sacatepéquez	n.d.	0	0	n.d.	n.d.	n.d.	Vocalizando	X
5	01/09/2014	Río Manzano	Parque Ecológico Florencia	Sacatepéquez	n.d.	0	0	55	28	18	Vocalizando	X
6	01/09/2014	Río Manzano	Parque Ecológico Florencia	Sacatepéquez	n.d.	0	15	n.d.	n.d.	n.d.	Vocalizando	X
7	01/09/2014	Río Manzano	Parque Ecológico Florencia	Sacatepéquez	n.d.	0	20	n.d.	n.d.	n.d.	Vocalizando	X
8	01/09/2014	Río Manzano	Parque Ecológico Florencia	Sacatepéquez	n.d.	0	30	n.d.	n.d.	n.d.	Vocalizando	X
9	01/09/2014	Río Manzano	Parque Ecológico Florencia	Sacatepéquez	H	0	40	51	21	17	Saltando	
10	31/08/2014	Río San Miguel	Parque Ecológico Florencia	Sacatepéquez	H	0	90	48	21	16	Dentro del agua	

La mayoría de los anfibios identificados eran hembras (de 12 identificadas por sexo 8 eran hembras) y en una ocasión se identificó a un individuo listo para la ovoposición afirmando la reproducción del individuo en época lluviosa. Comparando con los datos de Ariano (2003), la abundancia de *P. guatemalensis* en el Parque Ecológico Florencia disminuyó considerablemente. La mayoría de *P. guatemalensis* fueron encontradas y/o recolectados al nivel del suelo o dentro del río (altura de percha de 0 m en cuadro 1). Por otro lado, en cuanto a la posición del transecto se puede observar que hay variación dependiendo del río que se estaba muestreando. Esto último implicaría que hay áreas de mayor abundancia para el anfibio dentro del transecto realizado.

En el Cuadro 2 se muestran los resultados tanto del análisis de los factores fisicoquímicos de calidad de agua, así como los análisis con bioindicadores (macroinvertebrados y presencia de coliformes) y la presencia y abundancia de *P. guatemalensis* en los sitios muestreados. Utilizando esta información se generó un mapa que muestra los sitios prioritarios de conservación de *P. guatemalensis*.

CUADRO 2. Valores de calidad de agua encontrados para cada uno de los ríos muestreados y sus respectivas réplicas.

No.	Fecha	Río	Nitratos (mg/L)	Nitritos (mg/L)	Sulfatos (mg/L)	Oxígeno disuelto (%)	Oxígeno no disuelto (mg/L)	Conductividad (ppm)	Temperatura (°C)	Recuento total de Coliformes	Escala del recuento total de Coliformes	Macroinvertebrados (Valor de tolerancia)	Abundancia <i>P. guatemalensis</i> (no. de individuos)	Presencia <i>P. guatemalensis</i> (Presente/ausente)
1	15/08/14	Río Contreras, PEC	32.5	0.359	8	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	183.66	Medio	6.8	0	Ausente
2	16/08/14	Río San Miguel, PEF	29.3	0.195	n.d.	61.83	21.01	0	19.867	79.67	Bajo	5.36	1	Presente
3	17/08/14	Río Manzano, PEF	15.8	0.026	n.d.	57.3	22.21	0	17.5	142.33	Medio	4.93	5	Presente
4	18/08/14	Río Negro, Marro	35	0.375	34.5	42.1	16.6	109.27	19.2	124	Alto	6.8	0	Ausente
5	19/08/14	Río Negro, Marro	35	0.1823	22.33	40.33	15.61	107.9	21.133	127	Alto	6.8	0	Ausente
6	20/08/14	Río Contreras, PEC	33.93	0.257	32.67	44.067	17.96	1.2	20	293	Medio	6.8	0	Ausente
7	25/08/14	Río Contreras, PEC	35	0.213	32.667	41.3667	17.086	63.633	20.4	162.33	Medio	7	0	Ausente
8	26/08/14	Río Negro, Marro	35	0.117	35.667	30.6	12.27	1.5667	22.2	155.33	Medio	6.8	0	Ausente
9	30/08/14	Río Manzano, PEF	35	0.00633	2.667	57.2	23.32	0.2667	19.267	232.33	Medio	4.3	6	Presente
10	31/08/14	Río San Miguel, PEF	35	0.24	16.33	51.63	21.06	0	20.43	224.67	Medio	6.8	2	Presente
11	01/09/14	Río Manzano, PEF	35	0.0805	1	54.833	22.276	24.367	19.533	146	Medio	6.8	8	Presente
12	03/09/14	Río San Miguel, PEF	35	0.375	10	54.833	22.493	0	18.133	160	Alto	5.9	3	Presente
13	08/09/14	Río San Andrés Semetabaj	35	0.01	3.667	58.2	22.53	3.733	19.3	196	Medio	2	0	Ausente
14	09/09/14	Río San Andrés Semetabaj	35	0.1867	28.667	58.1667	22.253	30.2667	18.9	94.66	Alto	6	0	Ausente
15	10/09/14	Río San Andrés Semetabaj	35	0.016	4	59.8	23.11	0.2667	18.1667	58	Alto	4.3	1	Presente

El Cuadro 2 nos muestra cómo los parámetros cambian de acuerdo al sitio de muestreo. En algunos casos, como en los Nitratos, se puede observar que no hay mayor cambio entre sitios, pudiéndose deber a distintos factores. Para los demás parámetros las diferencias son más evidentes. Los cuadros marcados con verde son aquellos que sí se encuentran entre los parámetros aceptados por COGUANOR (2003). Según esto, los Nitritos, Sulfatos y la Temperatura se encuentran dentro de los parámetros aceptables de la legislación nacional.

El Recuento Total de Coliformes no cumple con las normas establecidas por dicha ley ya que sería preferible la ausencia de cualquier colonia de las mismas para el consumo humano. Sin embargo, este estudio se enfoca en la caracterización del recurso hídrico para buscar la relación con *P. guatemalensis* por lo que se generó una escala que mostrara la calidad del sitio en cuanto a la abundancia de coliformes encontrada en el estudio. Se consideró de 0 a 100 sería bajo; 100 a 300 medio y de 300 en adelante alto. La mayoría de los sitios muestra parámetros medios y altos.

En el mismo cuadro se pueden observar los niveles de tolerancia de los macroinvertebrados encontrados. Estos datos responden a los establecidos en la guía Bouchard (2004) en la cual

se indica que mientras más alto es su valor de tolerancia los organismos son menos adecuados como indicadores de buena calidad de agua. En este caso se observa que los parámetros varían en cada sitio, teniendo a San Andrés Semetabaj como el sitio con un valor de tolerancia medio menor al de los otros ríos.

CUADRO 3. Evaluación de diferencias de los parámetros de calidad de agua de los ríos muestreados con respecto a la presencia/ausencia de la rana arborícola *P. guatemalensis*

Variable de calidad de agua	Presencia de <i>P. guatemalensis</i>	Media			Prueba estadística	Valor P																																																																																					
Nitritos (mg/L)	Presente	0.1341			Anova	0.2646																																																																																					
	Ausente	0.2125					Nitratos (mg/L)	Presente	7.5714			Wilcoxon	0.6559	Ausente	8.375			Sulfatos (mg/L)	Presente	6.7994			Anova	0.0129	Ausente	24.771			Oxígeno disuelto (%)	Presente	56.7751			Anova	0.012	Ausente	44.9758			Oxígeno disuelto (mg/L)	Presente	9.8571			Wilcoxon	0.035	Ausente	5.1428			Conductividad (ppm)	Presente	4.4286			Wilcoxon	0.0054	Ausente	10.5714			Temperatura (°C)	Presente	18.9852			Anova	0.0749	Ausente	20.1619			Escala del recuento total de coliformes	Presente	Alto (%) 13.33	Medio (%) 26.67	Bajo (%) 6.67	Contingencia / Chi cuadrado	0.4421	Ausente	20	33.33	0	Valor de tolerancia promedio de Macroinvertebrados	Presente	6			Wilcoxon	0.0874	Ausente
Nitratos (mg/L)	Presente	7.5714			Wilcoxon	0.6559																																																																																					
	Ausente	8.375					Sulfatos (mg/L)	Presente	6.7994			Anova	0.0129	Ausente	24.771			Oxígeno disuelto (%)	Presente	56.7751			Anova	0.012	Ausente	44.9758			Oxígeno disuelto (mg/L)	Presente	9.8571			Wilcoxon	0.035	Ausente	5.1428			Conductividad (ppm)	Presente	4.4286			Wilcoxon	0.0054	Ausente	10.5714			Temperatura (°C)	Presente	18.9852			Anova	0.0749	Ausente	20.1619			Escala del recuento total de coliformes	Presente	Alto (%) 13.33	Medio (%) 26.67	Bajo (%) 6.67	Contingencia / Chi cuadrado	0.4421	Ausente	20	33.33	0	Valor de tolerancia promedio de Macroinvertebrados	Presente	6			Wilcoxon	0.0874	Ausente	9.75										
Sulfatos (mg/L)	Presente	6.7994			Anova	0.0129																																																																																					
	Ausente	24.771					Oxígeno disuelto (%)	Presente	56.7751			Anova	0.012	Ausente	44.9758			Oxígeno disuelto (mg/L)	Presente	9.8571			Wilcoxon	0.035	Ausente	5.1428			Conductividad (ppm)	Presente	4.4286			Wilcoxon	0.0054	Ausente	10.5714			Temperatura (°C)	Presente	18.9852			Anova	0.0749	Ausente	20.1619			Escala del recuento total de coliformes	Presente	Alto (%) 13.33	Medio (%) 26.67	Bajo (%) 6.67	Contingencia / Chi cuadrado	0.4421	Ausente	20	33.33	0	Valor de tolerancia promedio de Macroinvertebrados	Presente	6			Wilcoxon	0.0874	Ausente	9.75																					
Oxígeno disuelto (%)	Presente	56.7751			Anova	0.012																																																																																					
	Ausente	44.9758					Oxígeno disuelto (mg/L)	Presente	9.8571			Wilcoxon	0.035	Ausente	5.1428			Conductividad (ppm)	Presente	4.4286			Wilcoxon	0.0054	Ausente	10.5714			Temperatura (°C)	Presente	18.9852			Anova	0.0749	Ausente	20.1619			Escala del recuento total de coliformes	Presente	Alto (%) 13.33	Medio (%) 26.67	Bajo (%) 6.67	Contingencia / Chi cuadrado	0.4421	Ausente	20	33.33	0	Valor de tolerancia promedio de Macroinvertebrados	Presente	6			Wilcoxon	0.0874	Ausente	9.75																																
Oxígeno disuelto (mg/L)	Presente	9.8571			Wilcoxon	0.035																																																																																					
	Ausente	5.1428					Conductividad (ppm)	Presente	4.4286			Wilcoxon	0.0054	Ausente	10.5714			Temperatura (°C)	Presente	18.9852			Anova	0.0749	Ausente	20.1619			Escala del recuento total de coliformes	Presente	Alto (%) 13.33	Medio (%) 26.67	Bajo (%) 6.67	Contingencia / Chi cuadrado	0.4421	Ausente	20	33.33	0	Valor de tolerancia promedio de Macroinvertebrados	Presente	6			Wilcoxon	0.0874	Ausente	9.75																																											
Conductividad (ppm)	Presente	4.4286			Wilcoxon	0.0054																																																																																					
	Ausente	10.5714					Temperatura (°C)	Presente	18.9852			Anova	0.0749	Ausente	20.1619			Escala del recuento total de coliformes	Presente	Alto (%) 13.33	Medio (%) 26.67	Bajo (%) 6.67	Contingencia / Chi cuadrado	0.4421	Ausente	20	33.33	0	Valor de tolerancia promedio de Macroinvertebrados	Presente	6			Wilcoxon	0.0874	Ausente	9.75																																																						
Temperatura (°C)	Presente	18.9852			Anova	0.0749																																																																																					
	Ausente	20.1619					Escala del recuento total de coliformes	Presente	Alto (%) 13.33	Medio (%) 26.67	Bajo (%) 6.67	Contingencia / Chi cuadrado	0.4421	Ausente	20	33.33	0	Valor de tolerancia promedio de Macroinvertebrados	Presente	6			Wilcoxon	0.0874	Ausente	9.75																																																																	
Escala del recuento total de coliformes	Presente	Alto (%) 13.33	Medio (%) 26.67	Bajo (%) 6.67	Contingencia / Chi cuadrado	0.4421																																																																																					
	Ausente	20	33.33	0			Valor de tolerancia promedio de Macroinvertebrados	Presente	6			Wilcoxon	0.0874	Ausente	9.75																																																																												
Valor de tolerancia promedio de Macroinvertebrados	Presente	6			Wilcoxon	0.0874																																																																																					
	Ausente	9.75																																																																																									

Las variables analizadas muestran, en el Cuadro 3, si las mismas presentan una diferencia significativa entre los sitios en los que el anfibio está presente y en los que está ausente. Los cuadros verdes resaltan las variables que sí muestran una diferencia significativa ($p < 0.05$) con respecto a la presencia, es decir, sulfatos, oxígeno disuelto (en porcentaje y mg/L) y la

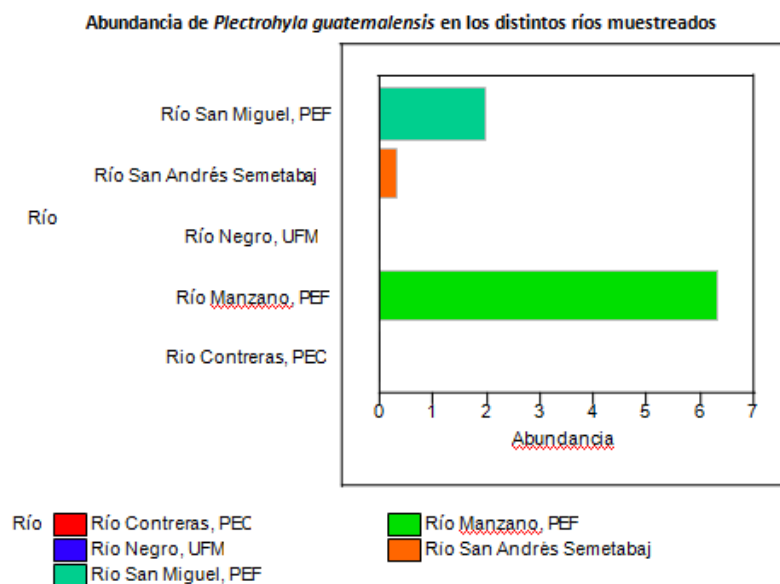
conductividad son factores que si muestran cambios en el recurso hídrico podrían no permitir la presencia de *P. guatemalensis*. La conductividad y sulfatos muestran que un aumento de los mismos está relacionado con la ausencia de la rana, al contrario del oxígeno disuelto que un aumento del mismo está ligada a la presencia de la misma. La temperatura no muestra un valor con diferencias significativas, pero los valores se acercan a los esperados; por tanto, las temperaturas más bajas están hasta cierto grado asociados a la presencia del anfibio.

Los datos obtenidos siguen distribuciones normales y anormales dependiendo de la variable que se haya medido. De acuerdo a lo anterior, las pruebas estadísticas fueron paramétricas y no paramétricas (respectivamente). De acuerdo a la información estadística obtenida sabemos que hay diferencia estadísticamente significativa entre los ríos muestreados para sus valores en nitritos ($p = 0.0262$) y oxígeno disuelto en porcentaje ($p = 0.0004$) y en mg/L ($p < 0.0001$). Para los demás parámetros no se encontró una diferencia significativa entre los sitios muestreados.

El recuento de coliformes se dividió en tres categorías de acuerdo a los resultados obtenidos: bajo 0 – 100; medio 100 – 300; y alto 300 en adelante. Si bien se requirió una prueba de contingencia para el análisis de dos variables continuas, no se muestra una relación muy fuerte entre la presencia y ausencia, en general, con las categorías. Sin embargo, se observa en el Cuadro 3 que el porcentaje total de coliformes es más alto en la categoría de “alto” y “medio” en los sitios en los que el anfibio se encuentra ausente. Por otro lado, en la Figura 5 se muestra la diferencia entre la abundancia del anfibio en los sitios muestreados. En los ríos Negro y Contreras del departamento de Guatemala se puede observar una abundancia de cero ya que no se encontró a dicho anfibio. En los demás ríos sí hay diferencia en la abundancia encontrada con un $p = 0.0014$ siendo el río Manzano el de mayor abundancia, seguido por el río San Miguel (ambos en el Parque Ecológico Florencia) y por último el río en Lomas de Atitlán en Sololá.

En cuanto a la abundancia del anfibio, la Figura 5 muestra que la abundancia sí es significativamente diferente en los sitios muestreados. El río Manzano muestra una mayor abundancia, seguido por el río San Miguel y el de Lomas de Atitlán. El cuadro 5 muestra en un análisis bivariado que la relación entre la abundancia y los parámetros de calidad no son relaciones lineales y no muestra una alta correlación (mayor a 0.9). El valor r muestra la probabilidad de encontrar un patrón entre ambas variables siguiendo distintos modelos polinomiales, los sulfatos, recuento total de coliformes y la conductividad son quienes tienen mayor relación con la abundancia pero los valores no son mayores al 90%.

Figura 5. Gráfico de la relación entre la abundancia y presencia y los ríos muestreados



En el Cuadro 4 se muestra la relación entre los parámetros de calidad de agua de los ríos evaluados y la presencia de *P. guatemalensis*, siendo los cuadros amarillos aquellas variables que están significativamente relacionadas ($p < 0.05$) con la presencia de la rana.

CUADRO 4. Regresión logística entre la presencia de *P. guatemalensis* y los parámetros de calidad de agua de los ríos analizados

Variable de calidad de agua	Valor de p
Nitritos (mg/L)	0.2257
Nitratos (mg/L)	0.1648
Sulfatos (mg/L)	0.0089
Oxígeno disuelto (%)	0.0067
Oxígeno disuelto (mg/L)	0.0037
Conductividad (ppm)	0.0182
Temperatura (°C)	0.0494
Recuento total de coliformes	0.3396
Valor de tolerancia promedio de Macroinvertebrados	0.3619

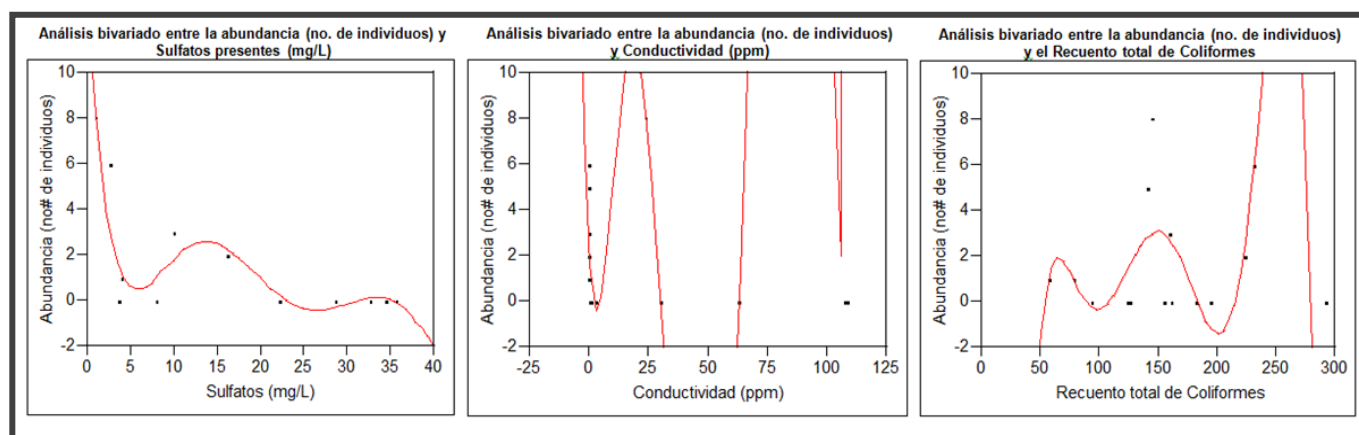
En este caso los sulfatos, el oxígeno disuelto, la conductividad y la temperatura están relacionadas significativamente con la presencia de la rana, lo cual concuerda con los resultados presentados en el Cuadro 3, excepto por la temperatura que en este caso sí muestra diferencia.

CUADRO 5. Resumen estadístico del análisis bivariado entre la abundancia y los parámetros de calidad de agua muestreados

Variable de calidad de agua	Función que se ajusta a los datos	Valor de R²
Nitritos (mg/L)	Polinomial de grado 6	0.4466
Nitratos (mg/L)	Polinomial de grado 5	0.1822
Sulfatos (mg/L)	Polinomial de grado 6	0.8438
Oxígeno disuelto (%)	Polinomial de grado 6	0.6543
Oxígeno disuelto (mg/L)	Polinomial de grado 6	0.3508
Conductividad (ppm)	Polinomial de grado 6	0.7262
Temperatura (°C)	Lineal	0.1431
Recuento total de coliformes	Polinomial de grado 6	0.8043
Valor de tolerancia promedio de Macroinvertebrados	Polinomial de grado 6	0.2397

La relación entre dos variables continuas se puede ajustar a distintos modelos que explican la relación entre los datos. Como se muestra en el Cuadro 5, la mayoría de datos se ajustan a una función polinomial de grado 6 al relacionar la abundancia de *P. guatemalensis* con las variables de calidad de agua. Sin embargo, solamente los sulfatos, la conductividad y recuento total de coliformes muestran un alto grado de relación entre los mismos y la abundancia con una probabilidad mayor al 70%.

Figura 6. Gráfico del análisis bivariado entre la abundancia y Sulfatos (figura A) Conductividad (ppm) (figura B) y recuento total de Coliformes (figura C) de los ríos muestreados de julio a septiembre de 2014.



De acuerdo a los resultados obtenidos se muestra que hay relación entre algunas variables de la calidad de agua y la presencia del anfibio. Estas variables, que se presentan en Cuadro 6, son utilizadas junto con la abundancia del anfibio para establecer los sitios prioritarios de conservación del anfibio. Los colores muestran los sitios con mayor prioridad (colores más oscuros) y los de menor prioridad (colores más claros) a los que se les asignó un valor de 1 a 5 para sacar un total del sitio prioritario de acuerdo a estos valores; el valor más alto representa el sitio de mayor interés de conservación.

Cuadro 6. Parámetros utilizados para la selección de sitios prioritarios de conservación de *P. guatemalensis*

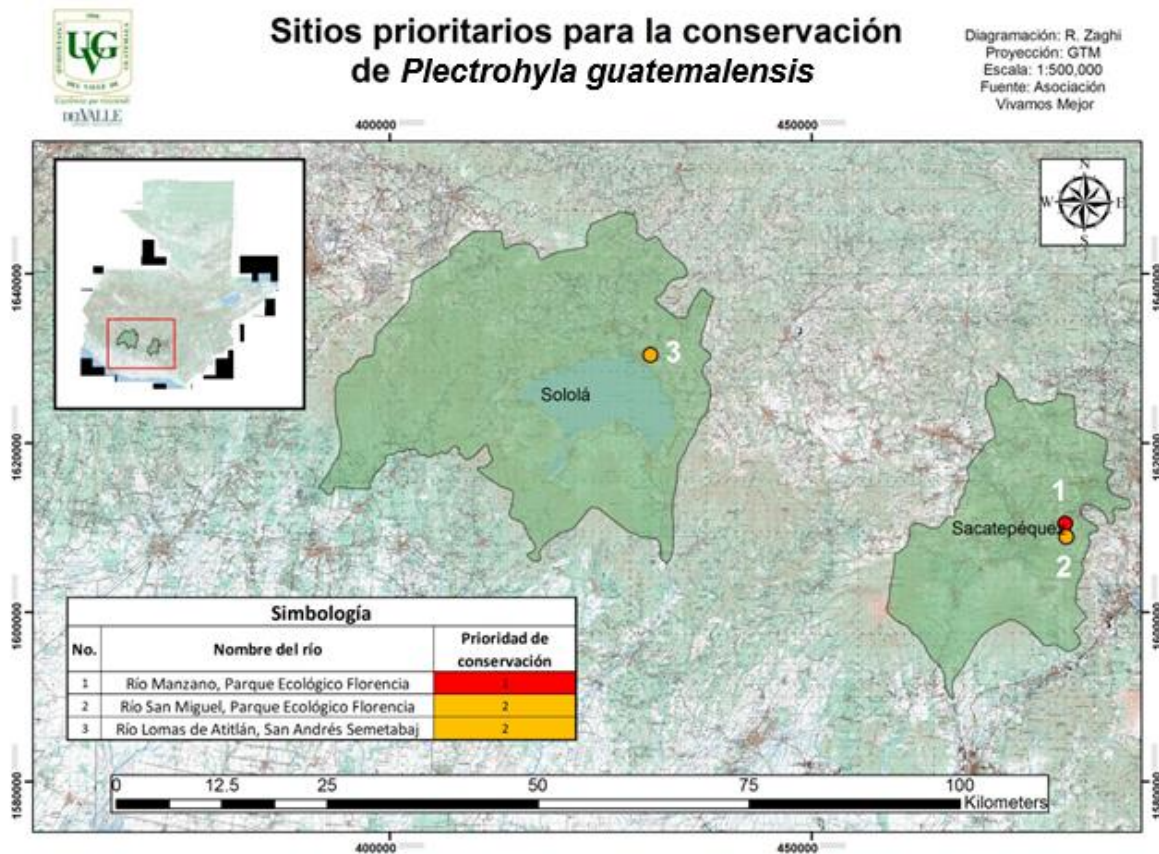
Río	Sulfatos (mg/L)	Oxígeno disuelto (%)	Oxígeno disuelto (mg/L)	Conductividad (ppm)	Temperatura (°C)	Total	Prioridad por parámetros de calidad de agua	Prioridad por abundancia	Total	Prioridad por ambos factores
Río Contreras, PEC	24.4457	42.71685	17.523	32.4165	20.2	8	5	4	9	4
Río Manzano, PEF	1.8335	56.44433	22.602	22.602	18.76666667	21	1	1	2	1
Río Negro, UFM	30.8323	37.67667	14.8267	14.82666667	20.84433333	10	4	4	8	3
Río San Andrés Semetabaj	12.1113	58.72223	22.631	22.631	18.7889	20	2	3	5	2
Río San Miguel, PEF	13.165	56.09767	21.521	21.521	19.47666667	18	3	2	5	2

Por otro lado, de acuerdo a los valores de abundancia del Cuadro 1 se asignó la prioridad a los sitios con mayor abundancia del anfibio. La combinación de estos parámetros da como

resultado los sitios de prioridad para la conservación de *P. guatemalensis* en los ríos muestreados.

En la Figura 7 se muestran el mapa de los sitios seleccionados para la conservación del anfibio estudiado. Los sitios seleccionados se basan en la abundancia de la especie en los ríos encontrados.

Figura 7. Mapa de los sitios prioritarios para la conservación del anfibio de acuerdo a los resultados del estudio



El hecho de que durante el estudio se encontrarán únicamente 26 ejemplares de *P. guatemalensis*, la disminución de su abundancia relativa en sitios del PEF monitoreados en el 2003, aunado a la ausencia de la especie en dos sitios con presencia histórica de la especie (río Negro y río Contreras, en la ciudad capital), muestra que la especie se encuentra en peligro crítico de extinción. Probablemente la especie ya se ha extinguido del río Negro y río Contreras, debido principalmente a sus niveles de contaminación reflejados en temperaturas más altas, bajas concentraciones de oxígeno disuelto y altos valores de conductividad y concentración de sulfatos. Sin embargo, es necesario estudiar más el área y encontrar registros del anfibio en la zona, de otra forma, no es posible saber el estado del animal en estos últimos dos ríos.

IV.DISCUSIÓN

La distribución potencial reportada de *P. guatemalensis* muestra que la especie tenía el potencial de encontrarse en los cinco ríos muestreados por su distribución y registros previos. Existen registros históricos de la presencia del anuro en cuatro de los cinco ríos muestreados: los dos ríos del Parque Ecológico Florencia (Ariano 2003), el Río Negro en la UFM (Universidad Francisco Marroquín 2007) y en el río de Lomas de Atitlán (Junta directiva Lomas de Atitlán 2014). De acuerdo a los resultados presentados en el Cuadro 1, la especie fue encontrada de nuevo en ambos ríos del PEF y en el río de Lomas de Atitlán. Sin embargo, no se encontró ningún ejemplar en el río Negro de la UFM en la Ciudad Capital, lo que puede interpretarse como una extinción local de la especie en dicho río, debido principalmente a la alta contaminación que presenta el mismo. En el cuadro 2 se observan los valores obtenidos para la verificación de la calidad de agua. Por otro lado, en observaciones de campo, se identificó la presencia de renacuajos de la especie en ambos ríos del PEF.

En el presente trabajo de investigación se obtuvo una mayor abundancia de la especie en el río Manzano, seguido por el río San Miguel, ambos en PEF y por último se encontró solamente un individuo en el río de Lomas de Atitlán (Ver Figura 5). En el caso del sitio en Sololá, no existe información previa que permita comparar la abundancia del sitio con la información obtenida; sin embargo, en el Parque Ecológico Florencia los datos de Ariano (2003), mostraban abundancias altas de esta especie en ambos ríos (Manzano y San Miguel). Las abundancias observadas en el presente estudio en ambos sitios muestran disminuciones drásticas con respecto a las abundancias observadas en el período 2002-2003 para el PEF (Ariano 2003).

Los valores promedio de cada parámetro medido se muestran en el Cuadro 2, el cual determina la media de los valores obtenidos en los muestreos en los que se tomaron datos al inicio, al medio y al final de cada transecto. La Figura 5 muestra que solamente los Nitritos y el Oxígeno disuelto (en porcentaje y mg/L) presentan una diferencia significativa en sus concentraciones en los cinco ríos muestreados. Las demás variables no muestran estas diferencias; en el caso específico de los Nitratos, que es el dato con valores más parecidos, esto podría deberse a la calidad de los reactivos utilizados con el colorímetro ya que algunos se encontraban vencidos, por lo que los datos deberían ser verificados con otra prueba similar.

En el Cuadro 2 los datos sombreados representan aquellos parámetros aceptados por la normativa COGUANOR. Esta normativa nacional intenta establecer parámetros para agua potable o agua de consumo humano. En este caso no se trataba de verificar si las condiciones del agua eran aptas para el consumo humano sino para la presencia del anfibio. Como se muestra en este cuadro, si bien solo tres parámetros cumplen esta normativa, el anfibio se

encuentra presente en tres de los cinco ríos muestreados. El Cuadro 3 se muestra que sí existe una relación entre algunos parámetros seleccionados y la presencia del anfibio.

Los sulfatos, oxígeno disuelto (en porcentajes y mg/L), conductividad y temperatura son los parámetros que muestran diferencias significativas entre los sitios donde se encontró el anfibio y donde éste se encuentra ausente. La presencia de *P. guatemalensis* está relacionada con bajos valores de concentraciones de sulfatos y conductividad, esto debido a la sensibilidad del anfibio con respecto a solutos disueltos y a las concentraciones de sulfatos (Heyer 1994). Estudios previos han demostrado que los niveles de conductividad pueden afectar directamente la presencia de un anfibio, aunque esto depende de las características de cada especie (Klaver, Peterson y Patla 2013). Por otro lado, se ha encontrado relación entre los niveles de Corticosterona secretados y el aumento de la conductividad en la que se encuentran renacuajos de distintas especies de anfibios, lo cual es un indicador de cómo este parámetro, en altos niveles, se convierte en un factor de estrés para los organismos (Chambers 2011). Otros estudios han demostrado que las variantes de la temperatura pueden tener distintos efectos en el desarrollo de los anfibios, especialmente en la duración del ciclo vital, tomando en cuenta el proceso de metamorfosis que puede variar en rapidez por la temperatura del agua en la que se encuentren (Ramos 2005).

La presencia de *P. guatemalensis* está relacionada con concentraciones más altas de oxígeno disuelto. De acuerdo a Peña (2007), valores altos de oxígeno disuelto indican buena calidad del agua porque muchas especies se benefician de un recurso más oxigenado por el tipo de intercambio gaseoso que realizan, el cual se lleva a cabo en sus pulmones y a través de la piel, en el caso de renacuajos, a través de branquias. Así mismo, Peña menciona la relación entre la oxigenación y la temperatura, mientras más baja la temperatura y mayor cantidad de oxígeno disuelto el ambiente es más favorable para las especies acuáticas porque sus niveles metabólicos no se aceleran como lo hacen a mayores temperaturas. Si bien la temperatura no muestra un valor significativamente diferente en este cuadro, en el cuadro 4 se muestra que sí existe una relación entre la presencia del anfibio y la temperatura del río. Niveles bajos de Oxígeno disuelto pueden acelerar procesos de descomposición de materia orgánica en los ríos. Las especies de anfibios tienen una tolerancia a distintos niveles de oxígeno dependiendo de si estas se suelen encontrar en sitios estancados o en riachuelos (Poole 2008). *P. guatemalensis* vive en riachuelos y tiene por tanto sus requerimientos de oxígeno disuelto no son demasiado elevados, aunque no existe un valor exacto asociado a la especie (Santos-Barrera y Canseco-Márquez 2010).

En cuanto a la abundancia del anfibio, esta mostró relación con tres variables de calidad: sulfatos, conductividad y conteo total de coliformes. Los sulfatos se encuentran naturalmente presentes en cuerpos y su abundancia puede variar por cercanía a un depósito natural o deposición atmosférica. También existen factores como la descarga de aguas industriales o domésticas y el uso de fertilizantes agrícolas cerca del cuerpo de agua (Castro, Pacheco y

Coronado 2009). La media de los sulfatos, de los ríos muestreados, se encuentra dentro de los parámetros aceptados por las normativas nacionales para consumo humano. Esto implica que en cuanto a este parámetro sí se cumple con una alta calidad en el agua muestreada. Si bien se encuentra de nuevo una relación con las concentraciones de sulfatos en el agua, en esta ocasión la relación no es significativa como para relacionar estas variables.

La conductividad eléctrica se refiere a la capacidad de conducir una corriente eléctrica por los iones presentes en una solución, siendo estos, generalmente, sales disueltas en el agua. Por esto mismo, la conductividad es un parámetro importante para indicar cambios en la calidad de un cuerpo hídrico y sabiendo que distintos organismos tendrán tolerancia a distintas concentraciones de sales en el medio en el que se encuentran (Rodríguez *et al.* 2010). Por tratarse de la época lluviosa, el caudal de los ríos se vio afectado por la precipitación característica de la época, la cual pudo ser la causante de los resultados obtenidos con respecto a este parámetro. Si bien el cuerpo de agua fue afectado por la lluvia sí se encuentra una alta relación entre la abundancia del anfibio y la conductividad de los ríos.

Los reglamentos nacionales e internacionales utilizados como referencia en este estudio establecen los límites aceptables para considerar un recurso hídrico con alta calidad. Sin embargo, las normativas de COGUANOR y de la OMS se refieren específicamente al agua potable (de consumo humano) mientras que el reglamento nacional se refiere a descargas de aguas residuales. No hay parámetros establecidos para la calidad de cuerpos de agua como los que se estudiaron en este trabajo, por lo que existe mucha variación entre la media de las medidas de lo muestreado en relación a las normativas establecidas. El cuadro 2 muestra nitratos, sulfatos, oxígeno disuelto, conductividad y temperatura sí cumplen con lo esperado de acuerdo a estos documentos. Sin embargo los nitritos, el recuento total de coliformes y los valores de tolerancia promedio de macroinvertebrados no cumplen con los requisitos por distintos motivos: los nitritos tienen un valor más alto esperado para agua potable pero no existen parámetros de comparación para ríos o riachuelos como los muestreados que contienen un recurso hídrico no destinado para el consumo humano; los coliformes totales pueden ser dañinos o no, dependiendo de la naturaleza de los organismos, sin embargo, para consumo humano COGUANOR indica que debe haber ausencia de los mismos en el agua; y por último, en los documentos utilizados no hay parámetros relacionados a macroinvertebrados como indicadores de calidad de agua, los niveles de tolerancia de los mismos representan un valor que puede servir como indicador de la calidad, pero no es posible el contraste de esta información con otros documentos.

La relación entre los parámetros de calidad de agua y la presencia y abundancia del anfibio en cada sitio permiten elegir sitios de interés para la conservación del mismo. Como se muestra en la Figura 8, las variables parecen seguir un patrón en todas menos en la conductividad, que no muestra relación entre los valores obtenidos de buena calidad y las demás variables muestreadas. Sin embargo, utilizando estos parámetros y asignándoles

valores prioritarios se obtuvo que el sitio más importante para la conservación del anfibio por la calidad del agua del río es el río Manzano en el Parque Ecológico Florencia, seguido por el río en San Andrés Semetabaj en Lomas de Atitlán y el río San Miguel también en Florencia. Los ríos que se encuentran en la capital son sitios con aparentes extinciones locales de la especie, debido posiblemente a las características del agua.

La abundancia también determina los sitios de prioridad. En la Figura 8 se muestra que el río Manzano es el sitio de mayor interés, seguido por el río San Miguel (ambos en el Parque Ecológico Florencia en Sacatepéquez) seguido por el río en Lomas de Atitlán Sololá y dejando de último ambos ríos del departamento de Guatemala (que mostraban una abundancia de cero en ambos casos). Tomando en cuenta esto y la priorización por calidad de agua, se considera que los sitios ideónos por la calidad del ambiente y la abundancia del anfibio son categorizados de la siguiente forma:

1. Río Manzano del Parque Ecológico Florencia, Sacatepéquez
2. Río de Lomas de Atitlán en San Andrés Semetabaj, Sololá y río San Miguel en el Parque Ecológico Florencia, Sacatepéquez
3. Río Negro en la Universidad Francisco Marroquin, Guatemala
4. Río Contreras en el Parque Ecológico Deportivo Cayalá, Guatemala

Como se puede observar, el río de Lomas de Atitlán y el río San Miguel ocupan el mismo puesto en el segundo lugar porque, aunque en San Miguel hay una mayor abundancia del anfibio, en Lomas de Atitlán hay mayor calidad de agua con respecto a los parámetros relacionados a la presencia del anfibio. Es necesario llevar a cabo más estudios para corroborar esta información.

V. CONCLUSIONES

- La ausencia de la especie el río Negro, en la ciudad capital, está relacionada a sus niveles de contaminación reflejados en temperaturas más altas, bajas concentraciones de oxígeno disuelto y altos valores de conductividad y concentración de sulfatos. La ausencia de la especie en el río Contreras puede deberse a estos mismos factores, sin embargo, no hay evidencias históricas de la presencia del anfibio en el río.
- La rana arborícola *Plectrohyla guatemalensis* se encuentra en peligro crítico de extinción en la región de estudio. Evidencia de esto es que la especie no se encontró en dos de los cinco ríos muestreados con presencia histórica de la rana (río Negro y río Contreras en la ciudad capital) y que se encontró una abundancia muy baja de ejemplares (26 ejemplares).
- Los registros previos indicaban la presencia de *P. guatemalensis* en los ríos de Lomas de Atitlán, Parque Ecológico Florencia y Parque Ecológico y Deportivo Cayalá. En el presente estudio se encontró a *P. guatemalensis* en los ríos mencionados exceptuando en el Parque Ecológico y Deportivo Cayalá. La abundancia del anfibio, en general, fue mayor en los ríos del Parque Ecológico Florencia.
- Los parámetros de calidad de agua mostraron diferencia significativa ($p < 0.05$) entre los ríos en cuanto a los valores de nitritos (mg/L) y oxígeno disuelto (% y mg/L). De acuerdo a las normativas nacionales e internacionales, los parámetros de nitratos, sulfatos, oxígeno disuelto, conductividad y temperatura se encuentran entre los valores esperados para calidad de agua apta para consumo.
- La presencia de *P. guatemalensis* en los ríos muestreados está relacionada significativamente ($p < 0.05$) con bajas concentraciones de sulfatos, bajos niveles de conductividad, temperaturas bajas y altos valores de oxígeno disuelto.
- La abundancia de la especie no presenta ninguna relación estadísticamente significativa con alguna de las variables medidas. Sin embargo, la variable con mayor relación es la concentración de oxígeno disuelto en el agua.
- El río Manzano en el Parque Ecológico Florencia es el sitio prioritario para conservación de *P. guatemalensis* por la abundancia de la misma en el sitio y las características del cuerpo de agua. Este es el único sitio cuyos valores en los parámetros de calidad de agua y abundancia de la especie caen en valores altos de prioridad de conservación.

- El río San Miguel del Parque Ecológico Florencia y el río de Lomas de Atitlán comparten el segundo puesto como sitios de interés de conservación del anfibio por tener mayor abundancia y mejor calidad del recurso hídrico, respectivamente.
- Tanto el río Negro como el río Contreras mostraron poca calidad de agua de acuerdo a los parámetros utilizados y no se encontró el anfibio en los sitios, descartándolos como sitios de interés para la conservación del anfibio, siendo sitios de que muestran aparente extinción local de la especie, principalmente en el río Negro donde ya se tenían registros del anfibio.
- La rana arborícola *P. guatemalensis* puede ser considerada una especie indicadora de calidad de agua para los ríos muestreados pues su presencia está relacionada con una alta sensibilidad a parámetros saludables de calidad de agua.

VI. RECOMENDACIONES

- Se recomienda darles interés particular a los sitios de conservación en donde sí se encontró al anfibio, ya que los ríos de la capital no presentan las condiciones ambientales para favorecer la presencia del mismo en estos sitios. Es válido evaluar la diversidad de anfibios en cada uno de los sitios muestreados.
- La distribución del anfibio muestra muchos sitios potenciales para continuar con este trabajo de investigación. Es importante hacer énfasis en los sitios que muestran registros históricos de la presencia del anfibio para verificar la relación de presencia con los valores de calidad de agua.
- Para cada una de las variables mediadas, se recomienda realizar más réplicas en los sitios de muestreo para la verificación de los datos. La relación entre la presencia o abundancia del anfibio y cada una de las variables es importante para la selección de parámetros relacionados a este anfibio.
- Los parámetros que sí muestran una relación con la presencia de *P. guatemalenis* deben ser considerados para generar estrategias de conservación del anfibio en las áreas potenciales para su distribución.
- Se recomienda utilizar esta especie como especie bandera en los sitios prioritarios para su conservación. La especie muestra una clara sensibilidad a factores asociados a calidad de agua, siendo esta un recurso importante no solo para esta especie sino para otros, incluyéndonos. La conservación de esta especie implica la conservación de un cuerpo de agua y sus condiciones apropiadas que permitan la presencia del anfibio.
- Para cada sitio hay recomendaciones específicas que se deben considerar:
 - a) Parque Ecológico Florencia: En este sitio se encontró la mayor cantidad de los anfibios, por lo que las prioridades de conservación son muy altas. Se recomienda, específicamente para este sitio utilizar a la especie como especie bandera del parque para iniciar un programa de educación ambiental y ayudar a conservar la especie en el sitio. En los dos ríos muestreados se encontró el anfibio adulto y en forma de renacuajo. En el río Manzano de dicho parque se encontró una mayor abundancia del anfibio y niveles más bajo de conservación, sin embargo, en el río San Miguel también hubo una abundancia alta en comparación con otros sitios. Mi recomendación personal, sería seleccionar uno de los dos ríos y catalogarlo como el “Santuario de *Plectrohyla guatemalensis*” para asegurar la conservación

del anfibio al 100% en uno de estos dos ríos. Todos los esfuerzos de limpieza del área (extracción de basura en el río y alrededores), prohibición de ingreso a los visitantes en cercanías del sitio, desviación o movimiento de parcelas para la agricultura a una distancia mínima que no afectara el sitio y otras acciones pueden ser tomadas como estrategias para el santuario en uno de los ríos. Este trabajo requeriría un monitoreo constante en el área, pero garantizaría la conservación *in situ* del anfibio.

- b) Parque Ecológico y Deportivo Cayalá: Este sitio no tiene registros de la presencia del anfibio, lo cual se confirma con este estudio. Sin embargo, por su localidad, la probabilidad de encontrar al mismo debería ser alta. La recomendación para este sitio es realizar otros estudios de diversidad de anfibios en distintos momentos del año y en distintos sitios de muestreo que abarquen la mayor parte del río que se encuentra dentro del parque.
- c) Arbolétum de la Universidad Francisco Marroquín: Este sitio posee registros que afirman la presencia de la especie estudiada. Sin embargo, en el presente estudio no se encontró ningún individuo, posiblemente por los altos niveles de contaminación. Es necesario realizar un sondeo de la diversidad de anfibios en el área y verificar si se puede declarar una extinción local de *Plectrohyla guatemalensis* en este sitio.
- d) Lomas de Atitlán: Los registros en este sitio no están oficialmente publicados, sino que pertenecen a la información privada del sitio. Se recomienda realizar un sondeo de la población actual para poder desarrollar un programa de conservación más detallado y adecuado para la locación. Ya que se trata de un área privada, las medidas de conservación pueden ser profundas e incluso, se podría generar un programa de reproducción de la especie en el área.

VII.LITERATURA CITADA

- 3M Food safety. 2011. *Guías de identificación: Placas 3M™ Aqua para análisis de agua*. Empresa 3M. Estados Unidos. 11 pp.
- Aguirre-León, G. 2011. *Métodos de estimación, captura y contención de anfibios y reptiles*. En: Gallina, S. y C. López. (eds.). *Manual de Técnicas para el estudio de la Fauna. Volumen 1*. Universidad Autónoma de Querétaro-Instituto de Ecología, A. C. Querétaro, México. Pp. 74 – 98.
- Angulo, A. et al. 2006. *Técnicas de inventario y monitoreo para los anfibios de la Región Tropical Andina*. Conservación internacional, Serie de Manuales de Campo N° 2. Panamericana Formas e Impresos S.A., Bogotá, Colombia. 300 pp.
- Ariano, D. 2003. *Poblaciones de Anfibios de las familias Hylidae y Plethodontidae presentes en el Bosque de encino-pino del Parque Ecológico Florencia, Sacatepéquez, Guatemala: Monitoreo, declinación y acciones de conservación*. Parque Ecológico Florencia-Municipalidad de Antigua Guatemala. Guatemala. 8 pp.
- Ariano, D. 2014. *Listado de especies de anfibios de Guatemala*. Curso Herpetología, Universidad del Valle de Guatemala. 2 pp.
- Aparicio, R. 1993. *Parques arqueológicos alrededor de Antigua: Una propuesta*. En: Laporte, H., Escobedo, S. y B. Villagrán. (eds.). *VI Simposio de investigaciones Arqueológicas en Guatemala*. Museo Nacional de Arqueología y Etnología, Guatemala. Pp. 382 – 387.
- Blaustein, A.; B. Han; R. Relyea; P. Johnson; J. Buck; S. Gervasi y L. Kats. 2011. *The complexity of amphibian population declines: understanding the role of cofactors in driving amphibian losses*. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1223: 108 – 119.
- Bouchard, R. 2004. *Guide to Aquatic Invertebrates of the Upper Midwest*. Water Resources Center, University of Minnesota. St. Paul, Minnestota, Estados Unidos. 311 pp.
- Brocchi, P. 1877. *Description d'un nouveau genre de Phaneroglosse Hyloeforume (Plectrohyla guatemalensis)*. *Bulletin de la Société philomantique de Paris*, Paris. 259 pp. Página de Internet.

- Burton, T. y E. Likens. 1975. *Energy Flow and Nutrient Cycling in Salamander Populations in the Hubbard Brook Experimental Forest, New Hampshire*. Ecology 56(5):1068 – 1080.
- Campbell, J. 2010. *Herramienta para evaluar las necesidades de conservación de anfibios, Guatemala*. En: <http://www.amphibianark.org/assessmentresults/Bolivia%20-%20Investigacion%20Ex%20Situ.pdf> [con acceso el 2-3-2015].
- Campbell, J. y J. Vannini. 1989. *Distribution of amphibians and reptiles in Guatemala and Belize*. Editorial de la Universidad de Oklahoma. 345 pp.
- CONAP. 2013. *Política Nacional de Diversidad Biológica (Acuerdo Gubernativo 220 - 2011) Estrategia Nacional de Diversidad Biológica y su Plan de Acción (Resolución 01-16-2012) La Década de la Vida y el Desarrollo. No.3, Guatemala. 112 pp.*
- Comisión Guatemalteca de Normas –COGUANOR-. 2003. *Norma guatemalteca obligatoria: agua potable*. Departamento de regulación de los programas de salud y ambiente. Diario Oficial. Guatemala. 12 pp.
- Davies, M. 2003. *Australian toadlets and water frogs (Myobatrachidae)*. En: Duellman, W. E. ed., *Grzimek's Animal Life Encyclopedia, Segunda edición. Volumen 6. Amphibians: 147–153.*
- Duellman, W. y J. Campbell. 1992. *Hylid frogs of the genus Plectrohyla: systematics and phylogenetic relationships*. Museo de Zoología, Universidad de Michigan. No. 181. 44 pp.
- Fundación para el Ecodesarrollo y la Conservación –FUNDAECO-. 2003. *Parque Ecológico y Deportivo Cayalá. Fundaeco*. En: <http://www.cayala.org/investigacionescientificas.html> [con acceso el 2-3-2015].
- Gilbertson, M.; G. Haffner; K. Drouillard; A. Albert y B. Dixon. 2003. *Immunosuppression in the northern leopard frog (Rana pipiens) induced by pesticide exposure*. Environ Toxicol Chem 22(1): 101 – 110.
- Green, D., K. Converse y A. Schrader. 2002. *Epizootiology of sixty-four amphibian morbidity and mortality events in the USA, 1996-2001*. Annals of the New York Academy of Sciences. 969: 323-329.

- Gobierno de Guatemala. 2006. *Reglamento de las descargas y reuso de aguas residuales y de la disposición de lodos* ACUERDO GUBERNATIVO No. 236-2006. Guatemala. 27 pp.
- Hach company. 2000. *Manual de análisis de Agua, segunda edición en español*. Hach company. Estados Unidos. 220 pp.
- Hoverman, J., J. Mihaljevic, K. Richgels, J. Kerby, y P. Johnson. 2012. *Widespread co-occurrence of virulent pathogens within California amphibian communities*. *Ecohealth* 9: 288-292.
- Heyer, W.; M. M. Donnelly, M. McDiarmid; R. Hayek y L. Foster. 1994. *Measuring and monitoring Biological diversity: Standart methods for Amphibians*. Smithsonian Institution Press. Washintong, D. C., Estados Unidos. 364 pp.
- Junta Directiva de Lomas de Atitlán. 2014. *Junta Directiva de Lomas de Atitlán, San Andrés Semetabaj*. Sololá, Guatemala. Teléfono: 40456236.
- Johnson, P. 2006. *Amphibian diversity: Decimation by disease*. The National Academy of Sciences of the USA. 103 (9): 3011-3012.
- Johnson, P., K. Lunde; E. Thurman; E. Ritchie; S. Wray; D. Sutherland; J. Kapfer; T. Frest; J. Bowerman y A. Blaustein. 2002. *Parasite (Ribeiroia ondatrae) infection linked to amphibian malformations in the Western United States*. *Ecological Monographs*. 72: 151-168.
- Köhler, G. 2011. *Amphibians of Central America*. Editorial Herpeton, Offenbach, Alemania. 376 pp.
- Kiesecker, J.M., A.R. Blaustein y L.K. Belden. 2001. *Complex causes of amphibian population declines*. *Nature* 410: 681-683
- Lips, K. y J. Reaser. 1999. *El monitoreo de anfibios en América Latina*. The Nature Conservancy. 42 pp.
- Mendelson, J., E. Brodie; J. Malone, B. Acevedo; M. Baker; N. Smatresk y J. Campbell. 2004. *Factors associated with the catastrophic decline of a cloudforest frog fauna in Guatemala*. *Biología Tropical* 52(4): 991.

- Méndez, C. 2008. *Guatemala y su biodiversidad, un enfoque histórico, cultural, biológico y económico*. Consejo Nacional de Áreas Protegidas, Guatemala. 259 pp.
- Asamblea Mundial de Delegados de la Organización mundial de sanidad animal –OIE-.2011. *Infección por Batrachochytrium dendrobatidis*.En: Organización mundial de sanidad animal (eds.). Manual de las Pruebas de Diagnóstico y de las vacunas para los Animales Terrestres 2014. http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health_standards/aahm/current/2.01.01_INF_BATRACHOCHYRIUM_7.3.11.pdf[con acceso el 2-3-2015].
- Organización Mundial de la Salud –OMS-. 2008.*Guía para la Calidad del Agua Potable*. Primer apéndice, tercera edición. Volumen 1. Biblioteca de la OMS. Suiza. 408 pp.
- Orozco, G. 2007. *Etimologías griegas. Modelo didáctica*. Editorial Pearson, México. 50 pp.
- Oxom. A. 2013. *Propuesta de un plan de manejo para la propiedad de la Universidad del Valle de Guatemala en el municipio de San Andrés Semetabaj, Sololá*. Trabajo de graduación de licenciatura, Departamento de Ecoturismo, Universidad del Valle de Guatemala. 122 pp.
- Pessier AP, Mendelson JR (eds) (2010) *A manual for control of infectious diseases in amphibian survival assurance colonies and reintroduction programs*. IUCN/SSC Conservation Breeding Specialist Group, Apple Valley, Minnesota, Estados Unidos. 229 pp.
- Rice, K., F. Mazzotti; J. Waddle y M. Conill. 2013. *Uso de anfibios como indicadores del éxito de la restauración de ecosistemas*. University of Florida. 5 pp.
- Rodríguez, B. 2004. *Distribución y abundancia de anfibios en bosques tropicales húmedos con diferente estado de sucesión, Estación Biológica La Selva, Sarapiquí, Costa Rica*. Trabajo de graduación de licenciatura, Facultad de Ciencias Básicas, Universidad de Costa Rica. 61 pp.
- Santos-Barrera, G. 2004. *Enfermedades infecciosas y su papel en la declinación mundial de las poblaciones de anfibios*. CONABIO Biodiversitas 56:1 – 6.
- Santos-Barrera, G. y L. Canseco-Márquez. 2010. *Plectrohyla guatemalensis*. UICN lista de especies amenazadas 2013. Estados Unidos. En: [Http://www.iucnredlist.org/details/55876/0](http://www.iucnredlist.org/details/55876/0) visitado

- SEGEPLAN. 2006. *Estrategia para la Gestión Integrada de los Recursos Hídricos de Guatemala*. Gobierno de Guatemala. Guatemala. 104 pp.
- Stuart, L. 1942. *Una descripción preliminar de las provincias bióticas de Guatemala, fundadas sobre la distribución del género Salamandrino (sic)*. Anales. Sociedad de Geografía e Historia de Guatemala. Guatemala. 18(1): 29 – 38.
- Stuart, S. *et al.* 2008. *Threatened Amphibians of the world*. Ediciones Lynx, Barcelona. 151 pp.
- Suazo, I. y J. Alvarado. 2004. *Anfibios: centinelas de la biodiversidad*. Ciencia y desarrollo 30(178):6 – 13.
- UICN. 2013. *The start point for conservation action*. The IUCN Red list of threatened species. 14 pp.

VIII. ANEXOS

En los siguientes cuadros se muestran los parámetros aceptados por distintas normativas nacionales e internacionales para formar un criterio de alta calidad de agua. Los documentos no utilizan los mismos parámetros, por lo que no es posible realizar una comparación de todos los aspectos tomados en cuenta, sin embargo, permiten un acercamiento a las consideraciones y normativas creadas para la regulación y manejo del recurso hídrico.

CUADRO 7. Parámetros fisicoquímicos de calidad de agua de acuerdo a normativas nacionales e internacionales

Parámetros	Dimensionales	Norma guatemalteca obligatoria (COGUANOR 2003)	Reglamento de las descargas y re uso de aguas residuales y de la disposición de lodos (Gobierno de Guatemala 2006)	Normas de regulación de la OMS (2014)
Parámetros fisicoquímicos				
Color	Unidades de color, escala de plantino-cobalto	35	1000	
Olor	Rechazable/ no rechazable	No rechazable		No rechazable
Sabor	Rechazable/ no rechazable	No rechazable		No rechazable
Turbiedad	Unidades Nefelométricas de de turbiedad	15		
Materia flotante	Ausencia/presencia		Ausentes	Ausentes
Sólidos suspendidos	mg/L		600	
Conductividad eléctrica	μS/cm a 25°	100 - 750		
Temperatura del agua	°C	15 – 34	25 ± 7	
Oxígeno disuelto disponible	mg/L		300	
Potencial de Hidrógeno		7 - 7.5	6.0 - 9.0	

CUADRO 8. Parámetros químicos de calidad de agua de acuerdo a normativas nacionales e internacionales

	Dimensionales	Norma guatemalteca obligatoria (COGUANOR 2003)	Reglamento de las descargas y re uso de aguas residuales y de la disposición de lodos (Gobierno de Guatemala 2006)	Normas de regulación de la OMS (2014)
Sustancias químicas				
Aluminio (Al)	mg/L	0.05 - 0.1		0.1 - 0.2
Arsénico (As)	mg/L	0.01	1.5	0.01
Bario (Ba)	mg/L	0.7		0.7
Benceno (C ₆ H ₆)	µg/L	5		10
Boro (B)	mg/L	0.3		0.5
Cadmio (Cd)	mg/L	0.003	0.4	0.003
Calcio (Ca)	mg/L	75 – 150		
Carbonato de Calcio (CaCO ₃)	mg/L	100 – 500		
Cianuro (CN ⁻)	mg/L	0.07	3	0.07
Cloro residual libre	mg/L	0.5 – 1		
Cloruro (Cl ⁻)	mg/L	100 – 250		
Cobre (Cu)	mg/L	0.05 - 1.5	5	
Cromo (Cr)	mg/L	0.05	0.5	0.05
Fluoruro (F)	mg/L	1.7		1.5
Fósforo total	mg/L		75	
Hierro Total (Fe)	mg/L	0.1 – 1		

Continuación CUADRO 8.

	Dimensionales	Norma guatemalteca obligatoria (COGUANOR 2003)	Reglamento de las descargas y re uso de aguas residuales y de la disposición de lodos (Gobierno de Guatemala 2006)	Normas de regulación de la OMS (2014)
Magnesio (Mg)	mg/L	50 – 100		
Manganeso (Mn)	mg/L	0.05 - 0.5		0.4
Mercurio (Hg)	mg/L	0.001	0.1	0.006
Níquel (Ni)	µg/L		400	70
Nitrato (NO ₃ ⁻)	mg/L	1		50
Nitrito (NO ₂ ⁻)	mg/L	10		3
Nitrógeno total	mg/L		100	
Plomo (Pb)	mg/L	0.01	1	0.01
Selenio (Se)	mg/L	0.01		0.01
Sulfato (SO ₄ ⁻²)	mg/L	100 – 250		
Zinc (Zn)	mg/L	1.0 - 3.0	10	

CUADRO 9. Parámetros bacteriológicos de calidad de agua de acuerdo a normativas nacionales e internacionales

Dimensionales	Norma guatemalteca obligatoria (COGUANOR 2003)	Reglamento de las descargas y re uso de aguas residuales y de la disposición de lodos (Gobierno de Guatemala 2006)	Normas de regulación de la OMS (2014)
Aspectos bacteriológicos			
Coliformes total	Número más probable en 100 ml; Ausencia presencia	Ausencia	
Coliformes fecales	Número más probable en 100 ml; Ausencia presencia	Ausencia	< 1x10 ⁶
<i>Burkholderia pseudomallei</i>	Colonias por litro en ríos y arroyos silvestres y afectados		Puede proliferar
<i>Campylobacter jejuni, C. coli</i>	Colonias por litro en ríos y arroyos silvestres y afectados		0 - 2500
<i>Cryptosporidium</i>	Colonias por litro en ríos y arroyos silvestres y afectados		2 - 480
<i>Escherichia coli</i> patógenada	Colonias por litro en ríos y arroyos silvestres y afectados		Moderada
<i>E. coli</i> enterohemorrágica	Colonias por litro en ríos y arroyos silvestres y afectados		6,000 - 1,000,000
<i>Giardia</i>	Colonias por litro en ríos y arroyos silvestres y afectados		1 - 470
<i>Legionella</i> spp.	Colonias por litro en ríos y arroyos silvestres y afectados		Moderada
Micobacterias no tuberculosas	Colonias por litro en ríos y arroyos silvestres y afectados		Prolifera

Continuación CUADRO 9

Dimensionales	Norma guatemalteca obligatoria (COGUANOR 2003)	Reglamento de las descargas y re uso de aguas residuales y de la disposición de lodos (Gobierno de Guatemala 2006)	Normas de regulación de la OMS (2014)
<i>Pseudomonas aeruginosae</i>	Colonias por litro en ríos y arroyos silvestres y afectados		Prolifera
<i>Salmonella typhi</i>	Colonias por litro en ríos y arroyos silvestres y afectados		1 - 58,000
Otras salmonelas	Colonias por litro en ríos y arroyos silvestres y afectados		Puede proliferar
<i>Shigella</i> spp.	Colonias por litro en ríos y arroyos silvestres y afectados		Moderada
<i>Vibrio cholerae</i>	Colonias por litro en ríos y arroyos silvestres y afectados		Puede proliferar
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Colonias por litro en ríos y arroyos silvestres y afectados		Puede proliferar

CUADRO 10. Parámetros radiológicos de calidad de agua de acuerdo a normativas nacionales e internacionales

	Dimensionales	Norma guatemalteca obligatoria (COGUANOR 2003)	Reglamento de las descargas y re uso de aguas residuales y de la disposición de lodos (Gobierno de Guatemala 2006)	Normas de regulación de la OMS (2014)
Aspectos radiológicos				
Concentraciones de radionucleidos	MSv	0 - 0.1		> 0.1
Actividad alfa	Bq/L	0 - 0.1		< 0.5
Actividad beta	Bq/L	1		< 1

FIGURA 8. Ficha utilizada en la fase de campo para la recolección de datos del presente estudio.

Universidad del Valle de Guatemala
 Taller de Graduación 2
 María Regina Zaghi Lara – 09257

Datos de recolección

Fecha: _____ Hora inicio: _____ Hora Final: _____

 Sitio _____ Altura _____
 GPS inicio: _____ Final: _____
 Humedad _____ Temperatura: _____
 Observaciones: _____

Limpiar equipo Lysol		Tomar muestras de macroinvertebrados 2 (50 m)	
Medir con data logger inicio		Guardar hielera 2	
Marcar transecto		Tomar muestras de Oxímetro 2	
Punto GPS inicio		Punto GPS 100 m	
Tomar muestras de agua 1 (0 m)		Tomar muestras de agua 3 (100 m)	
Tomar muestras de macroinvertebrados 1 (0 m)		Tomar muestras de macroinvertebrados 3 (100 m)	
Guardar en hielera 1		Guardar en hielera 3	
Tomar muestras de Oxímetro 1		Tomar muestras de Oxímetro 3	
Punto GPS 50 m		Medir con data logger final	
Tomar muestras de agua 2 (50 m)		Hacer conteo 1x1 tepocates (opcional)	

No.	Posición transecto	Altura de percha	Actividad	Sexo	Hocico-cloaca	Tibia	Ancho de cabeza	Observaciones

Observaciones: _____


La metodología utilizada para el estudio implicó realizar análisis de laboratorio para obtener los resultados de los parámetros seleccionados para verificar la calidad del agua que se estaba analizando. Entre estos análisis se utilizó un colorímetro marca HACH para medir la presencia de fosfatos, sulfatos y nitratos en el agua. A continuación se muestra la metodología específica utilizada para los análisis de cada uno de estos nutrientes de acuerdo a las indicaciones de la empresa.

FIGURA 9. Metodología específica utilizada para el análisis de fosfatos en las muestras de agua utilizando un colorímetro marca HACH

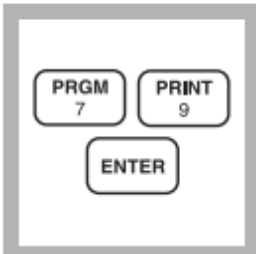
Method 8048

PHOSPHORUS, REACTIVE (0 to 2.50 mg/L PO₄³⁻) For water, wastewater, seawater


(Also called Orthophosphate) PhosVer 3 (Ascorbic Acid) Method*
 (Powder Pillows or AccuVac Ampuls) USEPA Accepted for wastewater analysis reporting**
 Using Powder Pillows




1. Enter the stored program number for reactive phosphorus, ascorbic acid method.
Press: **PRGM**
The display will show:
PRGM ?



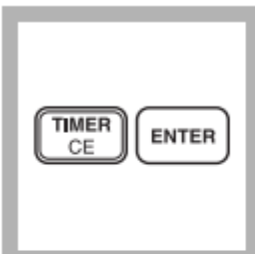
2. Press: **79 ENTER**
The display will show **mg/L, PO4** and the **ZERO** icon.




3. Fill a sample cell with 10 mL of sample.



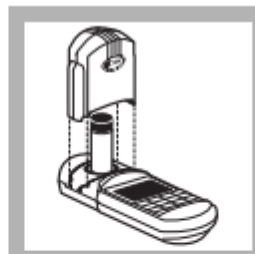
4. Add the contents of one PhosVer 3 Phosphate Powder Pillow for 10-mL sample to the cell (the prepared sample). Shake for 15 seconds.



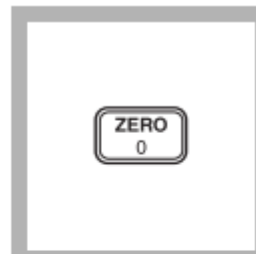
5. Press:
TIMER ENTER
A two-minute reaction period will begin. Perform Steps 6-8 during this period.



6. Fill another sample cell with 10 mL of sample (the blank).

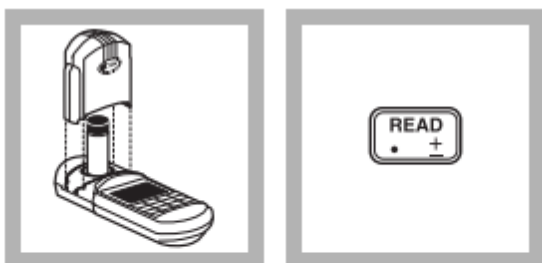


7. Place the blank into the cell holder. Tightly cover the sample cell with the instrument cap.



8. Press: **ZERO**
The cursor will move to the right, then the display will show:
0.00 mg/L PO4

Continuación FIGURA 9



9. After the timer beeps, place the prepared sample into the cell holder. Tightly cover the sample cell with the instrument cap.

10. Press: **READ**
The cursor will move to the right, then the result in mg/L phosphate (PO_4^{3-}) will be displayed.

FIGURA 10. Metodología específica utilizada para el análisis de nitratos en las muestras de agua utilizando un colorímetro marca HACH

NITRATE, High Range (0 to 30.0 mg/L NO_3^- -N) For water, wastewater, and seawater*

Cadmium Reduction Method (Using Powder Pillows or AccuVac Ampuls) Using Powder Pillows



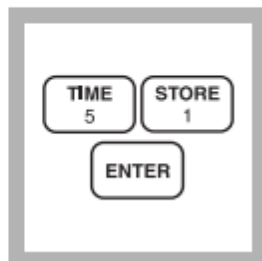
1. Enter the stored program number for high range nitrate nitrogen (NO_3^- -N) powder pillows.

Press: **PRGM**

The display will show:

PRGM ?

Note: For most accurate results, perform a Reagent Blank Correction using deionized water (see Section 1).



2. Press: **51 ENTER**
The display will show **mg/L, NO3-N** and the **ZERO** icon.

*Note: For alternate forms (NO_3), press the **CONC** key.*



3. Fill a sample cell with 10 mL of sample.

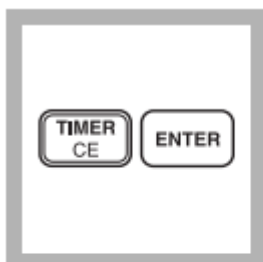
Note: Adjust the pH of stored samples before analysis.



4. Add the contents of one NitraVer 5 Nitrate Reagent Powder Pillow to the sample cell (the prepared sample). Cap the sample cell.

Note: It is important to remove all of the powder from the foil pillow. Tap the pillow until no more powder pours out.

Continuación FIGURA 10



5. Press:
TIMER ENTER

A one-minute reaction period will begin. Shake the sample cell vigorously until the timer beeps.



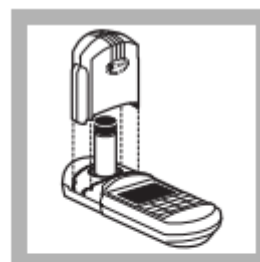
6. After the timer beeps, the display will show:
5:00 TIMER 2

Press: **ENTER**

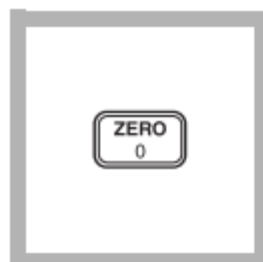
A five-minute reaction period will begin.



7. Fill another cell with 10 mL of sample (the blank). Wipe off any fingerprints or liquid.



8. Place the blank into the cell holder. Tightly cover the sample cell with the instrument cap.



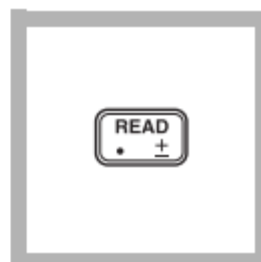
9. When the timer beeps, press **ZERO**.

The cursor will move to the right, then the display will show:

0.0 mg/L NO₃-N



10. Place the prepared sample into the cell holder. Tightly cover the sample cell with the instrument cap.



11. Press: **READ**

The cursor will move to the right, then the result in mg/L NO₃-N (or alternate form) will be displayed.

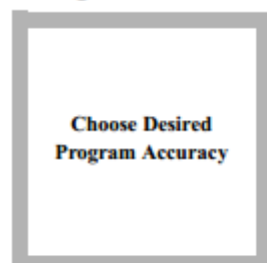
FIGURA 11. Metodología específica utilizada para el análisis de sulfatos en las muestras de agua utilizando un colorímetro marca HACH

SULFATE (0 to 70 mg/L)

For water, wastewater, and seawater

SulfaVer 4 Method* (Powder Pillows or AccuVac Ampuls); USEPA accepted for reporting wastewater analysis**

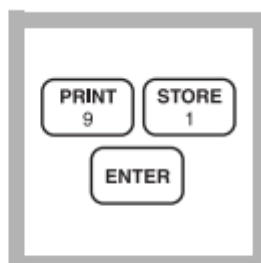
Using Powder Pillows



1. A User-Entered Calibration is necessary to obtain the most accurate results. See the *User Calibration* section at the back of this procedure. Program 91 can be used for process control or applications where a high degree of accuracy is not needed.



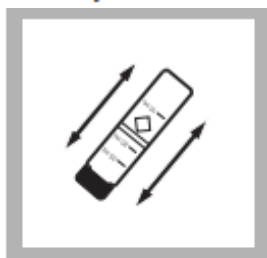
2. Enter the stored program number for sulfate (SO_4^-).
Press: **PRGM**
The display will show:
PRGM ?



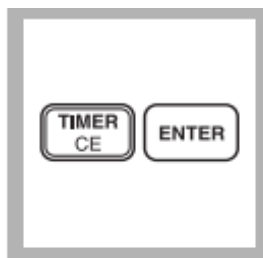
3. Press: **91 ENTER** or the program number selected for a user-entered calibration.
The display will show **mg/L, SO4** and the **ZERO** icon.



4. Fill a clean sample cell with 10 mL of sample.
Note: Filter highly turbid or colored samples. Use filtered sample in this step and as the blank.



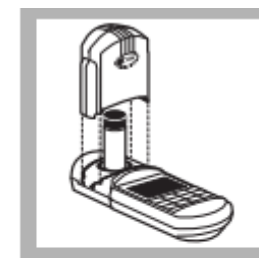
5. Add the contents of one SulfaVer 4 Sulfate Reagent Powder Pillow to the sample cell (the prepared sample). Cap the cell and invert several times to mix.



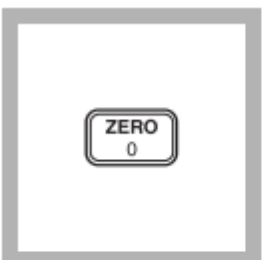
6. Press:
TIMER ENTER
A 5-minute reaction period will begin. Allow the cell to stand undisturbed.



7. After the timer beeps, fill a second sample cell with 10 mL of sample (the blank).



8. Place the blank into the cell holder. Tightly cover the sample cell with the instrument cap.



9. Press: **ZERO**
The cursor will move to the right, then the display will show:
0 mg/L SO4



10. Within five minutes after the timer beeps, place the prepared sample into the cell holder. Tightly cover the sample cell with the instrument cap.

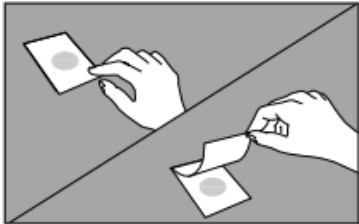


11. Press: **READ**
The cursor will move to the right, then the result in mg/L sulfate will be displayed.

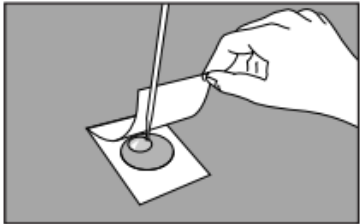
Las muestras de agua recolectadas serán analizadas con la siguiente metodología para recuento de *Escherichia coli* y Coliformes varios de acuerdo a las indicaciones de la empresa que produce las placas petrifilm 3M.

FIGURA 12. Metodología de inoculación e incubación para el recuento de Coliformes con placas petrifilm 3M.

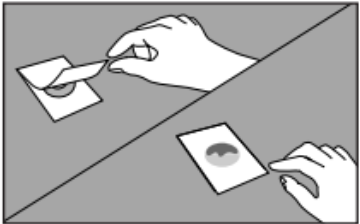
Inoculación



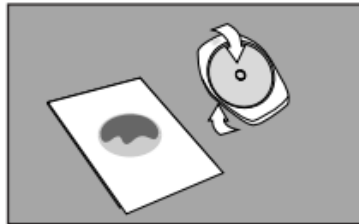
7 Colocar la placa Petrifilm en una superficie **plana**. Levantar el film superior.



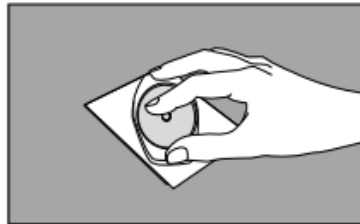
8 Con una pipeta colocada de forma **perpendicular** a la placa Petrifilm, colocar 1 ml. de la muestra en el centro del film inferior.



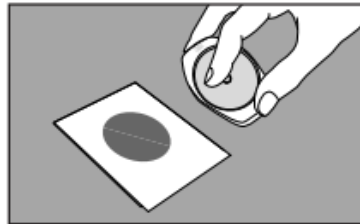
9 Bajar el film superior **con cuidado** evitando introducir burbujas de aire. **No** dejarlo caer.



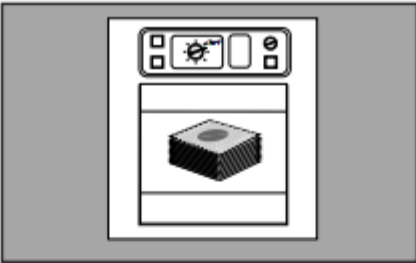
10 Con la cara **lisa** hacia abajo, colocar el aplicador en el film superior sobre el inóculo.



11 **Con cuidado**, ejercer una presión sobre el aplicador para repartir el inóculo sobre el área circular. No girar ni deslizar el aplicador.



12 Levantar el aplicador. Esperar un minuto a que solidifique el gel.



13 Incubar las placas cara arriba en pilas de hasta 20 placas. El tiempo e incubación varía según el método*.

Métodos aprobados más usuales :

- Método Oficial AOAC 991.14 : para coliformes, incubar 24h ± 2h a 35°C ± 1°C ; para E.coli, incubar 48h ± 2h a 35°C ± 1°C
- Método Oficial AOAC 998.08: para E. coli en carnes, aves y mariscos, y Coliformes en todos los alimentos, incubar 24 h +/- 2 h a 35°C +/- 1°C.
- Método NMKL 147.1993 : Para Coliformes, incubar 24h ± 2h a 37°C ± 1°C ; para E.coli, incubar 48h ± 2h a 37°C ± 1°C.