



FORMATO DE PRESENTACIÓN DE PROYECTOS INVESTIGACION - VINCULACIÓN - ESPOCH

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

PROYECTO DE VINCULACIÓN

1. DATOS GENERALES

NOMBRE DEL PROGRAMA:		
INTEGRACIÓN DE LAS CAPACIDADES INVESTIGATIVAS Y DE DOCENCIA DE LA ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO		
NOMBRE DEL PROYECTO:		
Monitoreo de enfermedades y parásitos emergentes y reemergentes en relación con los cambios medioambientales de ecosistemas en las áreas protegidas de la Cuenca del Río Napo-Orellana		
NOMBRE DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN RELACIONADO:		
RESUMEN DEL PRESUPUESTO DEL PROYECTO		
PRESUPUESTO	ESPOCH	ULT
Año 1:	\$ 42 552,69	\$ 15 568,00
Año 2:	\$ 6 950,00	\$ 14 432,00
Presupuesto Total	\$ 49 502,69	\$ 30 000,00
REALIZADO POR:		
GRUPO DE INVESTIGACIÓN: X		
NOMBRE DEL GRUPO: INFOSO		
SEDE: ORELLANA		

1.1 INFORMACIÓN DEL DIRECTOR/INVESTIGADOR RESPONSABLE

Apellidos y Nombres:	Barbaru Grajales Asterio Denis		
Cargo:	Profesor Ocasional		
Correo electrónico:	asterio.barbaru@epoch.edu.ec		
Teléfono:	Celular: 0969010402	Convencional:	
Facultad, Carrera /Extensión:	SEDE ORELLANA		

TIPO DE INVESTIGACIÓN

Investigación Científica	X	Desarrollo Tecnológico		Innovación tecnológica	
--------------------------	---	------------------------	--	------------------------	--

1.2 SECTOR EN EL QUE TENDRÁ IMPACTO EL PROYECTO:

Desarrollo humano y social		Fomento agropecuario y desarrollo productivo		Biodiversidad y ambiente	X
Recursos naturales	X	Energía		Tecnología de la información y comunicación	



1.3 ÁREA DE INVESTIGACIÓN:

Ciencias Exactas y naturales	X	Ingeniería y Tecnología		Ciencias Médicas	
Ciencias Agrícolas		Ciencias Sociales		Humanidades	

Área del conocimiento	Sub-Área del conocimiento	Sub-Área Específica
05 ciencias Físicas, Ciencias Naturales, Matemáticas y Estadísticas	052 medio Ambiente	0521 ciencias Ambientales 0522 medio ambiente y vida silvestre

1.4 INDIQUE EL O LOS OBJETIVOS DEL PLAN NACIONAL DE DESARROLLO 2017 - 2021 TODA UNA VIDA, EN EL QUE EL PROYECTO SE IDENTIFICA CON SU EJECUCIÓN:

Garantiza una vida digna con iguales oportunidades para todas las personas		Afirmar la interculturalidad y plurinacionalidad, revalorizando las identidades	
Garantizar los derechos de la naturaleza para las actuales y futuras generaciones	X	Consolidar la sostenibilidad del sistema económico, social y solidario y afianzar la dolarización	
Impulsar la productividad y competitividad para el crecimiento económico sostenible, de manera redistributiva y solidaria		Desarrollar las capacidades productivas y del entorno, para lograr la soberanía alimentaria y el Buen Vivir Rural	
Incentivar una sociedad participativa, con un Estado cercano al servicio de la ciudadanía		Promover la transparencia y la corresponsabilidad para una nueva ética social	
Garantizar la soberanía y la paz, y posicionar estratégicamente al país en la región y el mundo			

1.5 LÍNEA INSTITUCIONAL DE INVESTIGACIÓN/VINCULACIÓN Y PROGRAMA

Administración y Economía Popular		Tecnologías de la Información, Comunicación		Energías Renovables y Protección Ambiental	
Gestión y Manejo Sustentable de los Recursos Naturales	X	Arte Cultura y patrimonio		Las que se generen en los próximos años	
Procesos tecnológicos Artesanales e Industriales					
Salud y Nutrición					
Ciencias básicas y aplicadas					
Educación y Pedagogía					



PROGRAMA(S) DE INVESTIGACION

Biotecnología Ambiental, Animal y Vegetal

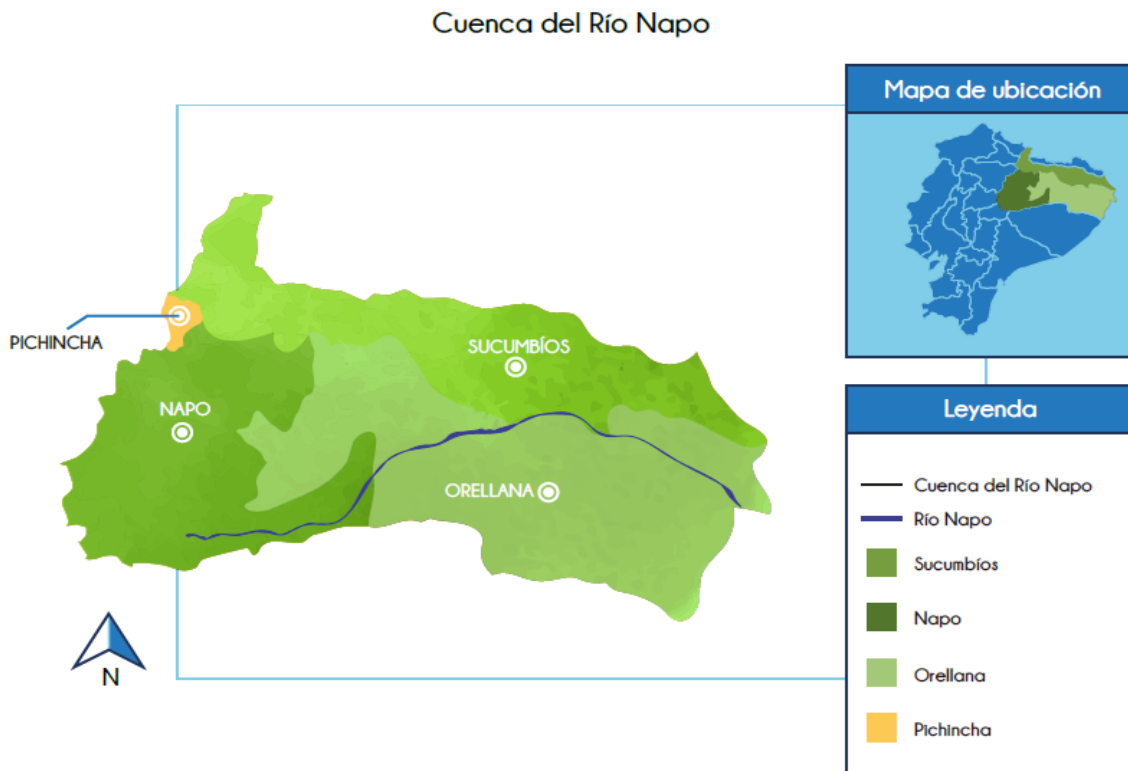
Procesamiento Digital de Señales e Imágenes

1.6 TIEMPO DE DURACIÓN DEL PROYECTO

DURACIÓN DEL PROYECTO: Tiempo total: 24 meses	Fecha de Inicio: 2023/02/01	Fin planificado: 2025/02/01
---	------------------------------------	------------------------------------

1.7 LOCALIZACIÓN DEL PROYECTO

El proyecto se realizará en ecosistemas de las áreas protegidas en la Cuenca del Río Napo perteneciente a la provincia de Orellana (Figura 1).



Fuente: Justicia ambiental en el Ecuador: una mirada desde la Cuenca del Río Napo (Escala 1:10 000)

Orellana, ubicada al este de Napo, tiene un área de 20.773 km² correspondiente al 18,6%, de la Amazonía ecuatoriana y se conforma por cuatro cantones (Orellana, Aguarico, Loreto y Joya de los Sachas).

El Napo es el río más grande de Ecuador y un gran tributario del Amazonas (Armas & Lasso, 2011). Este río es alimentado por algunos ríos, entre ellos Lloculin y Jatunyacu, que bajan de la cordillera oriental de los Andes Ecuatorianos hasta el piedemonte donde se unen para formar el Río Napo, el cual al seguir su curso recibe aguas de los ríos Coca, Aguarico y Curaray y de forma posterior se



adentra a la gran llanura Amazónica (Ministerio del Ambiente, 2012). Este río tiene una longitud de 1300 Km, de los cuales los primeros 460 Km se encuentran en territorio ecuatoriano (Laraque, et al., 2004).

Este constituye una fuente principal de agua para los numerosos asentamientos poblacionales cercanos al mismo, adicionalmente, las personas se sirven de él para transporte, pesca y turismo (Armas & Lasso, 2011).

La Cuenca del Napo cuenta con una gran diversidad de animales y plantas, entre ellas 17 tipos de vegetación; la cobertura vegetal se encuentra en buenas condiciones y representa el 86% del área de la cuenca. En cuanto a diversidad faunística existen 119 tipos de mamíferos, 435 tipos de aves y 152 especies de reptiles, de los cuales se encuentran amenazados 56 tipos de anfibios, 26 de mamíferos y 2 de reptiles (CISPDR, 2016).

1.8 TIPO DE COBERTURA

Nacional		Regional		Provincial	X	Cantonal		Parroquial	
----------	--	----------	--	------------	---	----------	--	------------	--

El proyecto se ejecutará en:

El área de intervención es las áreas protegidas en la Cuenca del Río Napo perteneciente a la provincia de Orellana.

1.9 Tipo de proyecto:

Nuevo	X	Continuación	
-------	---	--------------	--

1.10 PROPUESTA RELACIONADA CON UN PROYECTO EN EJECUCIÓN O YA EJECUTADO

En ejecución		Ejecutado	
--------------	--	-----------	--

1.11 DATOS DE LAS INSTITUCIONES EJECUTORAS DEL PROYECTO PRESENTADO

ESPOCH:

FACULTAD	PARTICIPACIÓN	CARRERAS
Facultad de Ciencias	-	-
Facultad de Informática y Electrónica	-	-
Facultad de Salud Pública	-	-
Facultad de Recursos Naturales	-	-
Facultad de Mecánica	-	-
Facultad de Administración de Empresas	-	-
Facultad de Ciencias Pecuarias	-	-
Sede Morona Santiago	-	-
Sede Orellana	X	Ingeniería Ambiental Zootecnia



1.12 OTRAS INSTITUCIONES NACIONALES O INTERNACIONALES QUE PARTICIPEN EN LA EJECUCIÓN DEL PROYECTO:

Nombre de la Institución:	Universidad de Las Tunas
Siglas:	ULT
Contacto:	Karel Ismar Acosta Pérez
Ciudad:	Las Tunas
Correo electrónico:	karelap@ult.edu.cu o karel0978@gmail.com
Página Web:	www.ult.edu.cu
Teléfonos:	+5331348014 Ext. 190
Tipo de participación:	Servicios científico técnicos para la realización de muestreos a áreas protegidas, conservación de muestras y análisis de laboratorio a escala molecular, y genética para la detección de enfermedades y parásitos en plantas y animales.
Nombre de la Institución:	MINISTERIO DEL AMBIENTE, AGUA Y TRANSICIÓN ECOLÓGICA
Siglas:	MAATE
Contacto:	Adriana Santos Díaz
Ciudad:	El Coca
Correo electrónico:	adriana.santos@ambiente.gob.ec
Página Web:	www.ambiente.gob.ec
Teléfonos:	0987335852
Tipo de participación:	Servicios científicos técnicos para la realización de muestreos a áreas protegidas, preparación de muestras. Apoyo con el traslado hacia las áreas de estudio.

1.13 PERSONAL DEL PROYECTO

Cargo	Facultad y carrera	Cédula de Identidad	Nombre completo	Docente titular/ ocasional	Correo electrónico institucional	Teléfono celular	Carga Horaria semanal
Investigador Responsable/ Director/ Coordinador	SEDE ORELLANA	1756782098	Asterio Denis Barbaru Grajales	Ocasional	asterio.barbaru@esPOCH.edu.ec	0969010402	2
Director Subrogante	SEDE ORELLANA	2100168273	Carlos Mestanza Ramón	Titular	carlos.mestanza@esPOCH.edu.ec	0968277770	2
Investigador/ Docente	SEDE ORELLANA	1722659651	Sandra Elizabeth Suarez Castillo	Ocasional	sandra.suarez@esPOCH.edu.ec	0998481076	2
Investigador/ Docente	SEDE ORELLANA	1704271426	González Marcillo Raúl Lorenzo	Ocasional	raul.gonzales@esPOCH.edu.ec	0997130592	2
Investigador externo internacional	UNIVERSIDAD DE LAS TUNAS CUBA	L059579	Karel Ismar Acosta Pérez	Docente / investigador	karelap@ult.edu.cu	+5354621023	2



Investigador externo internacional	UNIVERSIDAD DE LAS TUNAS CUBA	K720042	María Caridad González Borlet	Docente/investigador	mariacgb@ult.edu.cu	+5353780791	2
Investigador externo nacional	OFICINA TECNICA DE ORELLANA DEL MINISTERIO DEL AMBIENTE, AGUA Y TRANSICIÓN ECOLOGICA	1104437312	Adriana Patricia Santos Díaz	Especialista en Patrimonio Natural	adriana.santos@ambiente.gob.ec	0987335852	2
Investigador externo nacional	OFICINA TECNICA DE ORELLANA DEL MINISTERIO DEL AMBIENTE, AGUA Y TRANSICIÓN ECOLOGICA	1715409742	Diego Fernando Naranjo Cruz	Especialista en Vida Silvestre	diego.naranjo@ambiente.gob.ec	0984046836	2
Investigador externo nacional	OFICINA TECNICA DE ORELLANA DEL MINISTERIO DEL AMBIENTE, AGUA Y TRANSICIÓN ECOLOGICA	0603422478	Nancy del Rocio Enriquez Gusñay	Especialista en Vida Silvestre	Nancy.enriquez@ambiente.gob.ec	0995605182	2

1.14 Apoyo administrativo y técnico

Cargo	Facultad/Dependencia	Cédula de Ciudadanía	Nombre completo	Correo electrónico
Técnico de investigación ocasional 1	SEDE ORELLANA	1204658759	Hamilton Octavio Intriago Reina	hamilton.intriago@esPOCH.edu.ec



RESUMEN EJECUTIVO DEL PROYECTO

La influencia del clima en la estructura y función de los ecosistemas de zonas protegidas es ampliamente reconocida. El clima no solo juega un papel fundamental en la distribución de las especies forestales, sino también en la distribución de insectos, plaga, y microorganismos; que pueden albergar las especies arbóreas, así como en la dinámica de dichas interacciones. Por lo tanto, el clima es relevante para la salud de los bosques, y un clima cambiante puede alterar los patrones de perturbaciones bióticas pues se prevé que los brotes de plagas y enfermedades sean más frecuentes y graves, causado en parte por nuevas invasiones biológicas y factores estresantes abióticos que afectan a los ecosistemas sujetos al cambio climático. Además, existen otros factores contemporáneos como el comercio internacional, los patrones de uso de la tierra, la conectividad y las prácticas de manejo que también aumentan el riesgo de que se introduzcan insectos y hongos exóticos.

Las enfermedades emergentes o reemergentes son consecuencia de un proceso de interacción de múltiples factores, tales como: el cambio climático y condiciones que prevalecen y son identificables en algunos ecosistemas. Derivado de lo anterior, se pueden presentar situaciones que por su naturaleza sean definidas como una emergencia, ya sea porque no son conocidas o bien que por su rápida diseminación deriven en un problema de seguridad. Muchas de estas enfermedades, tienen un impacto poblacional y la respuesta que se ha organizado para contener o evitar daños es de mayor magnitud.

Ante la presencia de estos agentes y sus consecuentes daños, se dirigen los esfuerzos en estrategias integrales de prevención y contención oportuna que garanticen la protección del medio ambiente, las cuales deben basarse no sólo en los agentes, sino en factores que condicionan su nueva aparición para la implementación de estrategias. En este sentido, se identifica que en las áreas protegidas de los ecosistemas de la cuenca del Río Napo en Orellana no existen estudios relacionados con esta temática.

En base a lo planteado anteriormente se desarrolla la propuesta del presente proyecto que pretende “Caracterizar las principales enfermedades y parásitos en especies de plantas y animales distribuidas en relación con los cambios medioambientales que influyen en las áreas protegidas de la Cuenca de Río Napo en la provincia de Orellana”. La investigación tendrá una duración de dos años; y se plantea en dos etapas: la primera que corresponde identificación de los patógenos y parásitos asociados a enfermedades en plantas y animales por métodos moleculares y bioquímicos, en la cual se desarrollarán muestreos en los ecosistemas afectados, conservación de las muestras tomadas; seguido de análisis moleculares y bioquímicos; y una segunda etapa la evaluación de la incidencia, severidad y distribución de dos enfermedades en relación a los cambios medioambientales detectados en las áreas de estudio como modelo para futuras investigaciones.

Las investigaciones la desarrollarán docentes- investigadores de la ESPOCH en colaboración con investigadores de la Universidad de Las Tunas; la primera otorgará financiamiento para el proyecto si es aprobada esta propuesta y la segunda institución aportará financiamiento para servicios científicos técnicos, y participación del personal durante el desarrollo del proyecto, así como otros aportes por análisis molecular y bioquímico de muestras.

Los principales resultados que se obtendrán de la investigación son: creación de muestrario de tejidos, cultivos puros, ADN de especies de plantas y animales; un catálogo digital con imágenes y descripción de las principales sintomatologías observadas en las áreas de estudio; serán identificados los principales patógenos emergentes o reemergentes como agentes causales de epifitias en ecosistemas forestales y los principales parásitos que pueden constituir epidemias en las poblaciones de animales que habitan ecosistemas forestales en estudio. Asimismo las secuencias de ADN de los patógenos y parásitos quedarán depositadas en Bases de Datos Internacionales. Finalmente se desarrollará un modelo pronóstico de dos enfermedades con el estudio de la correlación de variables de incidencia, severidad y distribución con los factores edafoclimáticos cambiantes en las zonas de estudio.

Estos resultados beneficiarán a las comunidades rurales y productores agropecuarios que viven en las áreas protegidas y en muchas ocasiones obtienen sus recursos de estas, por lo cual evitar



epidemias contribuirá a mantener los equilibrios en estos ecosistemas al tomar estrategias para el manejo de las enfermedades.

2. CONTENIDO DEL PROYECTO

2.1. ANTECEDENTES

Los sistemas forestales están experimentando tasas de transformación sin precedentes debido a muchas perturbaciones relacionadas con el cambio global, incluido el desmonte y la fragmentación de tierras, sequías graves e incendios forestales y brotes de plagas y patógenos exóticos invasivos (Ramsfield et al., 2016).

La enfermedad es consecuencia de un patógeno virulento, un huésped susceptible y un entorno propicio (es decir, el triángulo de la enfermedad según Agrios, 2005). Los árboles en los ecosistemas naturales se mezclan en edad y composición de especies, y el impacto de los patógenos adaptados a un huésped o etapa de vida en particular está limitado por la disponibilidad de recursos (Burgess y Wingfield, 2002).

Los ecosistemas naturales suelen estar en equilibrio con sus patógenos nativos, y los brotes de enfermedades graves son raros (Burdon y Thrall, 2009). Sin embargo, esta coevolución ocurrió con el tiempo y dentro de un entorno ambiental (Stenlid y Oliva, 2016). Las actividades humanas han alterado este equilibrio natural entre los árboles y sus patógenos coevolucionados, lo cual reduce la resiliencia del ecosistema. Estas actividades incluyen el desmonte y la fragmentación de la tierra, lo que lleva a más bordes expuestos a las fluctuaciones climáticas y otros factores estresantes, como el aumento de la escorrentía o los pesticidas de la agricultura.

La cosecha de árboles, selectiva o tala rasa, altera la clase de edad y la composición de especies y, por lo tanto, la disponibilidad de hospedantes susceptibles. Esta interacción compleja entre la resiliencia natural y el aumento de los factores estresantes puede llevar a que los patógenos naturales provoquen epidemias de enfermedades tan impactantes como las que se observan normalmente con los patógenos invasivos. Además de estos impactos directos de las actividades humanas, los impactos del cambio climático antropogénico se experimentan cada vez más en los sistemas forestales, lo que contribuye aún más al desarrollo de enfermedades por patógenos nativos.

Por otro lado, la barrera ambiental puede superarse debido al cambio de uso de la tierra y/o al cambio climático global, lo que lleva a situaciones en las que los patógenos nativos exhiben una mayor patogenicidad para los huéspedes coevolucionados. Por ejemplo, la tala selectiva o los golpes de tala pueden dar como resultado un monocultivo de una especie de árbol nativo de edad uniforme que ahora es igualmente susceptible a patógenos específicos (Desprez-Loustau et al., 2016; Burgess y Wingfield, 2017).

Si lo anterior genera oportunidades para que los microorganismos encuentren huéspedes que carecen de resistencia coevolucionada, entonces se cruzan las barreras evolutivas/de compatibilidad. Hay numerosos ejemplos de esto: muerte súbita del roble en el oeste de EE. UU. (Rizzo y Garbelotto, 2003), tizón del castaño (Rigling y Prospero, 2018), muerte regresiva por *Phytophthora* en el suroeste de Australia (Shearer et al., 2007), enfermedad del olmo holandés (Brasier y Buck, 2001) y muerte regresiva del fresno (Pautasso et al., 2013).

El medio ambiente puede alterar las relaciones huésped-patógeno y, según la región, las condiciones climáticas pueden volverse más o menos favorables para los patógenos. El tiempo (condiciones atmosféricas a corto plazo) y el clima (tiempo de una región específica promediado durante un largo período de tiempo) afectan a los patógenos, sus huéspedes y sus interacciones. El cambio climático se refiere a cambios a largo plazo en el clima. Por ejemplo, el cambio climático que conduce a la sequía a largo plazo es un cambio crónico, mientras que la sequía es un cambio agudo; ambos pueden favorecer a los patógenos mejorando su aptitud o impulsando la expansión en los rangos de distribución y/o ejerciendo estrés sobre los árboles huéspedes, predisponiéndolos al desarrollo de enfermedades (Ghelardini et al., 2016).



Tal vez, el primero en destacar el papel del clima en las enfermedades forestales fue Hepting (1963), quien concluyó que un brote severo de un patógeno nativo “es una rara eliminación por parte del clima de los obstáculos que normalmente limitan al patógeno”. En una era de cambio global, el triángulo de enfermedades debe actualizarse para considerar el componente ambiental en dos marcos de tiempo: el clima, que debe ser propicio para el desarrollo de las enfermedades, y el cambio climático general y el estrés subyacente que la causa (Hennon et al., 2020).

A principios de la década de 2000 se produjo un aumento en los estudios y revisiones de los desafíos para la salud de los bosques frente a la globalización y el cambio climático (Anderson et al., 2004; Holdenrieder et al., 2004; Desprez-Loustau et al., 2006). La sequía, en particular, se consideró un importante factor impulsor de la aparición de enfermedades.

Teniendo en cuenta lo anterior cobra vital importancia las investigaciones que se van a desarrollar en las áreas protegidas de la Cuenca del Río Napo-Orellana una vez que no se informan estudios que incluyen la caracterización de las principales enfermedades y parásitos que afectan la flora y la fauna y la influencia del medioambiente en la distribución de las patologías presentes.

2.2. JUSTIFICACIÓN

Desde hace varios años entre las amenazas y vulnerabilidades en las áreas protegidas existentes en la Cuenca del Río Napo están las actividades hidrocarburíferas que contribuye a la destrucción de hábitats; pérdida o disminución de biodiversidad; contaminación del suelo; impacto en el paisaje; cambio del uso del suelo para agricultura, ganadería y pastoreo; explotación maderera legal e ilegal; extracción de vida silvestre; entre otras (Paredes, 2001).

Otras amenazas que afectan a las áreas protegidas son el avance de la frontera agrícola y el cambio de uso del suelo que se producen como consecuencia de la apertura de vías y de la colonización. Además, las poblaciones y el desarrollo de infraestructura generan cambios de uso del suelo ya que donde existen carreteras y vías de comunicación acuática se generan procesos de transición de bosque a “no bosque” (Zárrate, 2012).

Actualmente debido al detrimento acelerado de los hábitats, la degradación de los ecosistemas y la rápida pérdida de la biodiversidad, el tema ambiental es una preocupación global, incluida en las agendas de los organismos internacionales. La humanidad ha empezado a generar conciencia más clara sobre la dependencia del hombre hacia los recursos naturales. Estos hechos han favorecido el incremento de los estudios que se centran en conocer la biodiversidad y sus diferentes enfoques, como la conservación de especies, mitigación de la perturbación, ecología de enfermedades, entre otros.

El estudio de las enfermedades infecciosas emergentes tiene su historia en los campos médico y veterinario, pero también se ha aplicado a los patógenos de las plantas [Anderson et al., 2004]. Tres barreras limitan el desarrollo de las enfermedades infecciosas emergentes: geográfica, ambiental y evolutiva (compatibilidad) (para más detalles, véase Paap et al. [2022]). La liberación de cualquiera de estas barreras puede resultar en el desarrollo de enfermedades. En el contexto de los patógenos exóticos invasores, la globalización (comercio que conduce al movimiento accidental de patógenos forestales a huéspedes ingenuos y adecuados) permite que los patógenos superen las barreras geográficas (Bonnamour et al., 2021).

El medioambiente puede alterar las relaciones huésped-patógeno y, según la región, las condiciones climáticas pueden volverse más o menos favorables para los patógenos. El impacto de los patógenos forestales exóticos invasivos está bien documentado; sin embargo, en las áreas protegidas de la Cuenca del Río Napo en la provincia de Orellana no existen estudios de la influencia de las alteraciones causadas por las amenazas y vulnerabilidades al medioambiente en la salud de la vegetación y fauna silvestres; por ello esta investigación se concentrará en la caracterización de las principales enfermedades complejas de los árboles (disminuciones) y animales causadas por patógenos nativos en la era del cambio global antropogénico.



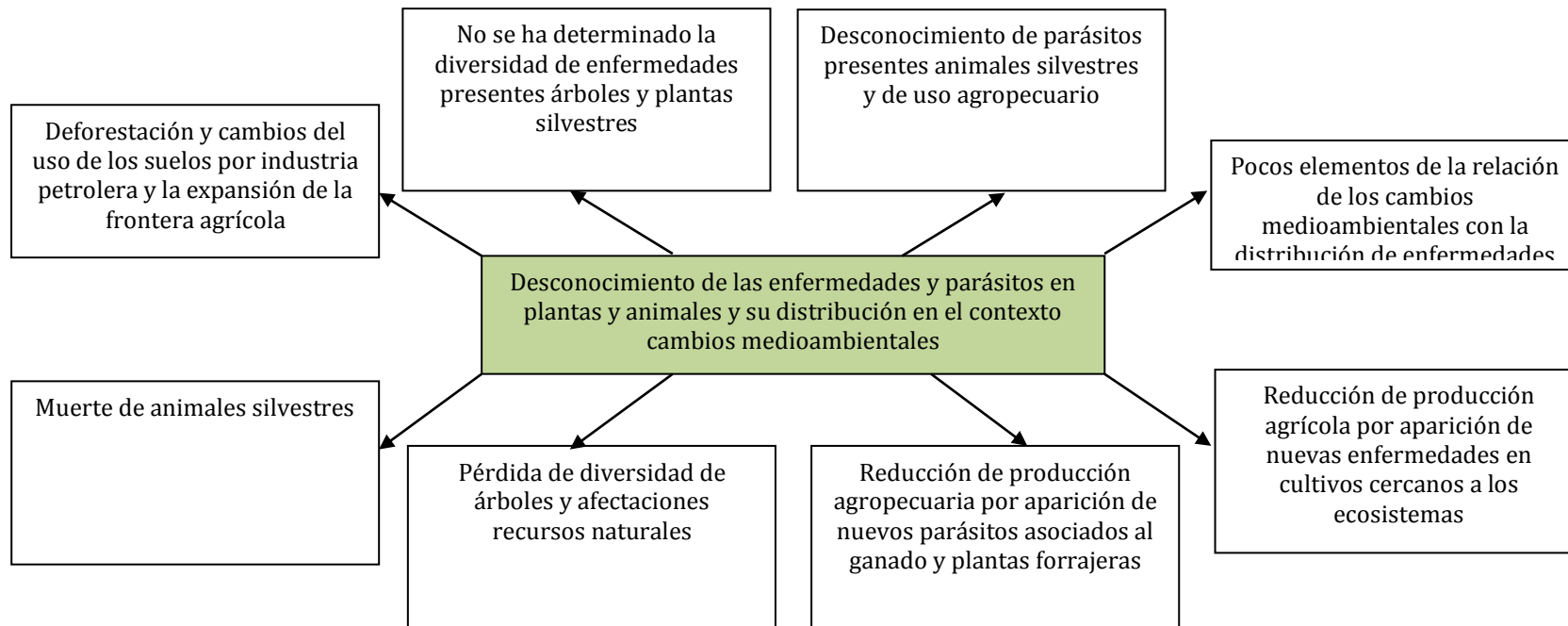
2.3. ANÁLISIS DE LA SITUACIÓN ACTUAL

En la provincia de Orellana desde hace varios años se han identificado varios problemas ambientales, pero resalta la deforestación y cambios del uso de los suelos asociados a la explotación petrolera, agricultura y ganadería, explotación de madera, las cuales causan pérdidas del ecosistema. En este sentido, las principales amenazas constituyen la industria petrolera y la colonización ya que están vinculadas a efectos negativos como la deforestación y expansión de la frontera agrícola (GADP Orellana, 2015).

Actualmente, Quezada et al. (2022) plantean que la deforestación ha superado las 300 ha en el Yasuní, concluyendo que las actividades extractivas especialmente la petrolera no han cesado en los últimos 30 años. Además, los factores que contribuyen a la deforestación circulan en base a: modificación del uso de suelo para agricultura, explotación maderera en comunidades restringidas, incompetencia de políticas públicas de incentivos a la conservación de hábitats, construcción de vías de acceso y en ciertos casos incendios forestales (Valdez y Cisneros, 2020).

Según lo planteado por los autores antes mencionados y en los antecedentes se puede decir que estos problemas ambientales tienen un impacto profundo en la vida silvestre de las áreas protegidas provocando cambios y alteraciones de los ecosistemas que lleva a la aparición de nuevas enfermedades y parásitos. El desconocimiento de la presencia de enfermedades emergentes o reemergentes puede conllevar a la explosión de epidemias que afecten los recursos en estos ecosistemas en los cuales se verán afectadas comunidades humanas que dependen en muchos casos de estos recursos naturales para su subsistencia.

ÁRBOL DE PROBLEMAS





2.4. OBJETIVOS

A. Objetivo General

Caracterizar las principales enfermedades y parásitos en especies de plantas y animales distribuidas en relación con los cambios medioambientales que influyen en las áreas protegidas de la Cuenca de Río Napo en la provincia de Orellana.

B. Objetivos Específicos

1. Identificar los principales patógenos y parásitos causantes de las sintomatologías observadas en plantas y animales con el empleo de herramientas biológicas, bioquímicas y moleculares.
2. Evaluar el efecto de los cambios medioambientales en la distribución de las enfermedades y parásitos presentes en las áreas estudiadas.



2.5. MATRIZ DE MARCO LÓGICO

Resumen de objetivos	Línea base	Metas	Indicadores	Fuentes de verificación	Supuestos
<p>Fin Contribuir al estudio de la diversidad de patógenos en plantas y de parásitos en animales causantes de patologías emergentes y reemergentes mediante técnicas biológicas, bioquímicas y moleculares.</p>	<p>No existen estudios de la identificación de enfermedades y parásitos y se pretende muestrear las áreas con afectaciones en el medioambiente. Además, se pretende evaluar el efecto de los cambios medioambientales en la distribución de los patógenos y parásitos.</p>		<p>Hasta octubre del año 2024 se habrán caracterizado e identificado cuatro (4) patógenos en plantas y tres (3) parásitos en animales y evaluado el efecto de las alteraciones del medioambiente en la distribución de al menos una patología en cada grupo.</p>	<p>Informes cuatrimestral y anual. Informe de prospecciones a campos. Informe de la Georeferenciación. Informe de la evaluación del efecto del medioambiente. Socialización de resultados en Revistas Científicas. Archivo Fotográfico.</p>	<p>La ESPOCH Sede -Orellana cuenta con los recursos para el desembolso de recursos económicos para el cumplimiento de las actividades del proyecto y del apoyo interinstitucional con la participación de Universidad de Las Tunas.</p>
<p>Propósito Diversidad de patógenos en plantas y parásitos en animales causantes de patologías emergentes y reemergentes mediante técnicas biológicas, bioquímicas y moleculares, así como los efectos en su</p>		<p>Identificar cuatro (4) patógenos en plantas y tres (3) parásitos en animales que constituyen riesgo de epidemias y el efecto de las alteraciones del medioambiente en la incidencia, severidad y distribución de al menos</p>	<p>Hasta octubre del año 2024 se habrán caracterizado e identificado cuatro (4) patógenos de plantas y tres (3) parásitos en animales causantes de patologías que provoquen daños graves y riesgo de epidemias.</p>	<p>Libros de campo Archivos fotográficos</p>	<p>Las asignaciones presupuestarias se han ejecutado en los plazos correspondientes para cada actividad de investigación planificada.</p>



distribución relacionada con cambios ambientales en áreas estudiadas.		una patología en cada grupo.			
Componente 1 Diversidad de los principales patógenos y parásitos causantes de las sintomatologías observadas en plantas y animales con el empleo de herramientas biológicas, bioquímicas y moleculares.		Establecer una (1) colección de muestras de patógenos y parásitos aislados de plantas y animales afectados por diversas patologías. (6 meses) Confeccionar un (1) catálogo descriptivo de las principales sintomatologías observadas en plantas y patologías en animales, localización, grado afectación o porcentaje aparición, patógenos y parásitos identificados e información si es emergente o reemergente. (12 meses)	Hasta julio del año 2023 se establece una (1) colección de patógenos de plantas constituida por cultivos puros de dos (2) hongos y dos (2) bacterias; extracciones de ADN totales de cinco (5) sintomatologías foliares virales; así como muestras de sangre y heces de tres (3) especies de animales capturados. Hasta julio del año 2024 se habrá elaborado un (1) catálogo publicable en formato libro de los principales patógenos de plantas y parásitos en animales causantes de patologías que provoquen daños.	Muestras conservadas en los laboratorios en condiciones de refrigeración y liofilizadas. Informe de prospecciones a campos. Archivos fotográficos	Muestrario conservado en los laboratorios de la Sede Orellana. Se ha cumplido con el cronograma para la elaboración del catálogo.
Actividades					
1.1 Permisos gestionados en el Ministerio de Ambiente para la recolección de recursos genéticos y		Obtener un (1) permiso del Ministerio del Ambiente y una (1) certificación bioética de la ESPOCH. (2	Para finales de febrero del año 2023 se habrá obtenido un (1) permiso del Ministerio del ambiente y una (1) certificación	Informe de permisos de recolección de muestras de plantas silvestres y heces fecales,	Obtenidos permisos Ambientales y certificación bioética de la ESPOCH al 100 %



certificación bioética de la ESPOCH obtenida.		meses)	bioética.	ectoparásitos y sangre de animales. Informe de certificación bioética de la ESPOCH	
1.2 Georeferenciación de las áreas con las alteraciones medioambientales que afectan flora y fauna.		Georeferenciadas las dos (2) áreas en una (1) zona de estudio la cual represente el 10% de las áreas protegidas de la Cuenca del Río Napo en Orellana con alteraciones medioambientales (1 mes)	Hasta inicios de abril del 2023 se habrá georeferenciado una zona de estudio dividida en dos (2) áreas y estas a su vez en dos (2) subáreas para la realización de los muestreos.	Mapas con representación de zonas y sectores. Informe de la Georeferenciación.	Investigadores y estudiantes dispuestos a la colaboración para georeferenciación de las áreas a muestrear.
1.3 Muestreos para coleccionar plantas con signos y síntomas de patógenos en los ecosistemas.		Contar con 200 muestras de plantas con la expresión de sintomatologías de la época de alta (abril, mayo, junio) y baja (agosto, septiembre, octubre) pluviosidad. (6 meses).	A finales de septiembre del 2023 se habrán terminado la recolección de 200 muestras de plantas en las dos áreas y sus dos subáreas de la zona de estudio.	Archivos fotográficos Informes de recolección de signos y síntomas en muestras de plantas Libro de campo	Los muestreos han sido realizados oportunamente
1.4 Muestreos para la toma, recolección y envío de muestra de heces, raspado cutáneo, recolección con hisopo de algodón en animales.		Disponer de muestras de sangre, heces, ectoparásitos de 100 animales de la época de alta (abril, mayo, junio) y baja (agosto, septiembre, octubre) pluviosidad. (6 meses).	A finales de septiembre del 2023 se habrán terminado de tomar muestras de sangre, heces, ectoparásitos en 100 animales capturados en las dos áreas de la zona de estudio.	Archivos fotográficos Informes de recolección de muestras de animales Libro de campo	
1.5 Aislamiento y conservación de muestras de patógenos en tejidos de plantas y parásitos en tejidos de animales, así		Conservar el 90% de las muestras de tejidos, cultivo de patógenos de plantas y sangre, heces y ectoparásitos de animales;	A finales de septiembre del 2023 se habrán conservado dos (2) patógenos fúngicos y dos (2) bacterianos aislados de muestras de plantas; así como 200	Muestras de tejidos de plantas conservadas por liofilización y patógenos en medio cultivo. Muestras de heces	



como extracción de ADN totales de ambos.		así como las extracciones de ADN totales de ambos grupos de organismos a -20°C. (7 meses).	extracciones de ADN totales de sintomatologías foliares virales; además, muestras de sangre, heces y ectoparásitos de 100 individuos de las especies de animales capturados.	conservadas en frascos en un sitio fresco y alejado de la luz. ADN de tejidos de plantas enfermas y animales conservados en congelación a -20°C y liofilizados.	La conservación ha sido realizada oportunamente
1.6 Patógenos identificados de acuerdo a la sintomatología y posible grupo que pertenezcan por métodos biológicos, bioquímicos y moleculares.		Identificar los cuatro (4) principales patógenos presentes en la zona de estudio por marcadores morfológicos por microscopía, bioquímicos en medios de cultivos, serológicos, análisis de ADN y marcadores moleculares. (5 meses)	Hasta inicios de febrero del 2024 se habrán identificado los cuatro (4) principales patógenos de mayor impacto en las dos áreas y subáreas de la zona de estudio.	Informe de patógenos identificados. Archivos fotográficos. Pruebas de patogenicidad. Secuencias de ADN de patógenos.	Disponibilidad de recursos económicos por parte de la ESPOCH para el análisis de algunas muestras en laboratorios externos al 100%. Colaboración de la Universidad de Las Tunas en los análisis de las muestras al 100%.
1.7 Parásitos identificados en las heces fecales, raspado cutáneo y otros fluidos por métodos biológicos, bioquímicos y moleculares.		Identificados tres (3) principales parásitos en los animales capturados en la zona de estudio por marcadores morfológicos por microscopía, bioquímicos en medios de cultivos, serológicos, análisis de ADN y marcadores moleculares. (5 meses)	Hasta inicios de abril del 2024 se habrán identificado los tres (3) principales patógenos causante de epidemias en poblaciones de animales en las dos áreas y subáreas de la zona de estudio.	Informe de parásitos identificados. Archivos fotográficos Secuencias de ADN de patógenos.	
Componente 2 Efecto de los cambios		Evaluado el efecto del estado de alteración del	A inicios de noviembre de 2024 se habrá evaluado el efecto de las	Informe de incidencia, severidad y distribución	Colaboración de investigadores y



medioambientales en la distribución de las enfermedades y parásitos presentes en las áreas estudiadas.		medioambiente en la incidencia, severidad y distribución de una (1) enfermedad y un (1) parásito como modelo de comparación durante la época de alta y baja pluviosidad. (7 meses)	variables edafoclimáticas sobre una (1) enfermedad y un (1) parásito.	del patógeno y el parásito que constituyan mayor riesgo. Archivos fotográficos Informe con la georreferenciación y distribución de las especies	estudiantes involucrados para determinar el efecto de la alteración del medioambiente
Actividades					
2.1 Base de datos elaborada y procesada con incidencia y distribución de una especie predominante de patógeno y un parásito por ambientes estudiados.		Elaborar una (1) base de datos con la incidencia, severidad y distribución de un (1) patógeno y un (1) parásito. (6 meses)	Hasta inicios de noviembre del 2024 se habrán elaborado una (1) base de datos con la incidencia, severidad y distribución de un (1) patógeno y un (1) parásito como modelo en la zona de estudio.	Base de datos Informes Tablas en Excel Fotos aéreas	Disponibilidad del técnico de TIC para la elaboración de base de datos 100 % cumplida
2.2 Información de la incidencia y distribución de patógenos y parásitos predominantes procesada y analizada.		Informar el 100% de los resultados estadísticos de la influencia de las alteraciones edafoclimáticas en la incidencia, severidad y distribución de un (1) patógeno y un (1) parásito en la zona de estudio. (1 meses)	Inicios de diciembre del 2024 se habrán procesado el 100% de la base de datos y determinado el efecto de las alteraciones medioambientales en la incidencia, severidad y distribución del patógeno y parásito.	Informes de resultados	Disponibilidad de paquetes estadísticos para los análisis e interpretación de la base de datos al 100 %



2.6. SOSTENIBILIDAD

Este proyecto presenta una investigación novedosa que profundiza en las perturbaciones bióticas y las preferencias sociales por las medidas de mitigación de plagas y enfermedades. No existen estudios relacionados que aborden las preferencias sociales para reducir las perturbaciones causadas por agentes bióticos en la región de Orellana.

Las grandes transformaciones que caracterizan al mundo actual responden, en gran medida, al avance experimentado por el desarrollo de nuevos conocimientos científicos y tecnológicos, a su rápida aplicación en muy diversos ámbitos de la sociedad, y a las posibilidades de difusión e interacción que nos dan las tecnologías de información y comunicación, especialmente la Internet.

Desde una visión estratégica de desarrollo nacional, incorporar la ciencia, la tecnología y la innovación como su eje central, en un marco de solidaridad y racionalidad ambiental, nos permitirá contribuir a la solución de diversos problemas nacionales y regionales, a mejorar las condiciones de los ecosistemas protegidos con un valor agregado, a tener un mejor conocimiento de nuestro entorno, a garantizar la sostenibilidad ambiental y a reforzar nuestra identidad cultural

En esta investigación se vincula el Trabajo Científico Estudiantil el cual es una herramienta imprescindible que, por su grado de generalización (planificación, ejecución, valoración y comunicación de los resultados), le permite en su formación desplegar su potencial de desarrollo científico vinculado a las tareas generales de la profesión u oficio.

Se propicia un conocimiento que le permita a todos nuestros profesionales del área desde su propia actividad y experiencia laboral, ser utilizados con efectividad y creatividad en la implementación de procesos investigativos a través de la investigación científica, así se contribuye a un pensamiento flexible, alternativo y científico que además puede ser aplicable a la docencia y a los problemas cotidianos, como un método de trabajo por la vía científica para que sean capaces de solucionar los problemas, dificultades y carencias de la vida cotidiana, su desempeño laboral y su formación integral.

El apoyo en el trabajo científico desde una perspectiva curricular permite encontrar diferentes alternativas de solución a los problemas docentes y de la vida en los que continuamente se ve inmerso, y es el método ideal para potenciar su desarrollo científico vinculado a la profesión como parte de su formación general e integral o de amplio espectro, como lo establece la Educación Superior contemporánea

2.7. METODOLOGÍA

2.7.1 PRIMERA ETAPA

OBJETIVO ESPECÍFICO 1:

Se gestionarán los permisos en el Ministerio del Ambiente para la recolección de recursos genéticos y se obtendrán la certificación bioética de la ESPOCH.

2.7.1.1 DISEÑO EXPERIMENTAL

Para el estudio se seleccionarán dos áreas de la zona, estas se basarán en el tipo de ambiente: un área con cambios medioambientales y otra sin cambios.

En cada área de estudio se seleccionarán 2 sub-áreas de muestreo de una hectárea de superficie cada una (100 x 100 m). Las sub-áreas se seleccionarán intentando que cada una represente la mayor diversidad de micro-hábitat posible dentro del área mayor y que los diferentes estratos florales de dichos ambientes estén representados según la guía de campo propuesta por Büttler et al. (2020).

Los muestreos se realizarán en cada sitio durante los meses de abril, mayo, Junio (época de máxima precipitación) y agosto, septiembre, octubre, (época de mínima precipitación) del primer año (2023) de la investigación. La movilización del personal encargado de los muestreos será aportada



por Sede Orellana y dos investigadores de la Universidad de Las Tunas especialistas en Fitopatología y Veterinaria.

2.7.1.2 Georreferenciación de las áreas con las alteraciones medioambientales que afectan flora y fauna.

Se realizarán recorridos en las áreas protegidas con las alteraciones medioambientales para observar y localizar problemas de salud en los árboles y arbustos, así como la presencia de animales muertos, enfermos o accidentados. Luego se dividirán las áreas por zonas y sectores. Según los datos tomados se definirán los mapas y croquis de las áreas a estudiar.

2.7.1.3 Muestreos para coleccionar plantas con signos y síntomas de patógenos.

Se realizarán muestreos por las zonas de estudio que se dividirán en áreas y subáreas por los diferentes períodos y, en las especies de árboles y arbustos se examinarán troncos, ramas y hojas con signos y síntomas para observar la presencia de enfermedades específicas y su grado de afectación.

Las muestras de sintomatologías observadas se les tomarán imágenes en condiciones naturales y luego una porción de tejido se coleccionará en bolsas de nailon para su posterior procesamiento en el laboratorio. También se coleccionarán las partes de las plantas adecuadas y se conservarán en un herbario para su posterior identificación taxonómica (Biólogos y Botánicos-ESPOCH).

2.7.1.4 Muestreos para la toma y recolección de muestra de animales.

En los muestreos en el campo se colocarán trampas en veredas, entradas de madrigueras, echaderos, en dependencia de los objetivos del estudio. Los tipos de trampas para la captura de especies de fauna silvestre que se utilizarán en el presente trabajo serán Trampa tipo "Gancho" para la captura de felinos; trampa tipo "Jaula" para la captura de primates, trampa tipo "Cajón" para la captura de majas; trampa "Chaqui tuclla" para la captura de aves en general; trampa tipo "Jaula", también para la captura de aves; trampa tipo "Corral A" (trampa de una entrada) para la captura de reptiles; trampa tipo "Corral B" (Trampa de dos entradas); y trampa tipo "Corral C". Para la construcción de las trampas se emplearon materiales de la zona como caña brava, horcones, tabla, varillas, bejuco, bolsa y tucos de madera; mientras que como cebo y carnada se emplearán pedazos de carne, plátano maduro, frutas y semillas de la zona, granos de maíz y pescado (Alva, 2006). Además, se colocaran trampas tipo Sherman y Ballestas.

Las trampas se revisarán después de 24 horas para la toma de muestras de sangre, heces, raspado cutáneo, recolección de fluidos y exudados; así como ectoparásitos de acuerdo a lo descrito en el manual por Muñoz-García et al. (2016). Seguido de la toma de muestras los animales serán devueltos al ecosistema.

2.7.1.5 Aislamiento, conservación de muestras y extracción de ADN total de plantas y animal.

Aislamiento, conservación y extracción ADN de hongos:

Inicialmente se observará en el estereoscopio muestras de troncos, ramas y hojas con signos y síntomas para aislar los micelios fúngicos presentes y se realizará el repique de estos en medios de cultivo PDA, AN y MCH hasta lograr cultivos asépticos; la temperatura de incubación será a 28°C y se revisará los platos a las 48 y 96 horas después de la siembra. Posteriormente del crecimiento que se evidencie en los medios de cultivo, se realizará tinción con azul de lactofenol, y se observarán estructuras en el microscopio en los objetivos de 4X y 10X.

A continuación, de acuerdo con la observación microscópica realizada en los diferentes montajes en el microscopio, se identificará el género de los hongos mediante herramientas bibliográficas, para obtener una aproximación taxonómica de los hongos sembrados. Finalmente, se revisará en la literatura las principales enfermedades causadas por dichos hongos encontrados y los principales síntomas.



La conservación de los hongos será utilizando agua o aceite. Para esto el micelio o conidios obtenidos a partir de cultivos puros, se crecen en tubos con medio cultivo y una vez que se alcanza la esporulación del microorganismo se introducen aceite mineral, en el caso de conservación en agua esta técnica es ampliamente utilizada en hongos en la que secciones de micelio son conservados en tubos de 2ml con agua. Para ambos métodos los tubos se almacenan en cuartos fríos o a temperatura ambiente (de Capriles 1989).

El ADN de tejidos infectados y de cultivos puros será extraído de acuerdo al protocolo planteado por Lin et al. (2009). La calidad y cantidad de ADN será determinada por espectrofotometría. El ADN se conservará a -20°C hasta su empleo análisis moleculares.

Aislamiento, conservación y extracción ADN de bacterias:

Inicialmente se observará en el estereoscopio muestras de troncos, ramas y hojas con signos y síntomas para aislar los exudados bacterianos presentes y se realizará la siembra en medios de cultivo PDA. La criopreservación para bacterias se aplicará generalmente utilizando agentes crioprotectores como glicerol (Singh y Baghela, 2017).

El ADN de tejidos infectados y de cultivos puros bacterianos será extraído de acuerdo al protocolo descrito por Doyle y Doyle, (1990).

Extracción directa de ADN totales de plantas:

Se realizará extracción de ADN totales de tejidos de plantas con patologías posibles asociadas a patógenos virales y otras bacterias restringidas al floema. Se empleará el método de CTAB descrito por Doyle y Doyle, (1990). La calidad y cantidad de ADN será determinada por espectrofotometría y se conservará a -20°C hasta su empleo análisis moleculares.

Extracción ADN de heces fecales: La extracción de ADN de heces se realizará de acuerdo con el protocolo basado en el método GuSCN/sílice (Hoss y Paabo 1993, Frantz *et al.* 2003).

Extracción de ADN de sangre: La sangre se almacenará en tubos estériles con 50-200 µL de etanol absoluto o EDTA y para la extracción de ADN se procederá según lo descrito en el protocolo de Green y Sambrook (2012). El ADN será almacenado a -20°C hasta su empleo en los análisis moleculares.

Liofilización de muestras:

En todas las muestras obtenidas anteriormente (aislados de hongos, bacterias, tejidos frescos, ADN totales de plantas, suero de sangre, entre otros), que sean posibles, se colocarán en viales de vidrio de 2 ml con una tapa de goma y serán sometidas a proceso de liofilización, posteriormente los viales se sellarán con una tapa metálica para evitar la entrada de aire al material biológico contenido dentro del vial, lo cual se realizará con un alicate llamado crimpador manual de viales.

2.7.1.6 Identificación de patógenos en plantas por métodos moleculares.

Los ADN de hongos, bacterias, así como ADN totales de tejidos de plantas con síntomas serán sometidos a Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR, por siglas en inglés) y RCA con cebadores o iniciadores genéricos para cada grupo de patógenos según la sintomatología observada y comparada en la literatura.

La amplificación del ADN se llevará a cabo con diferentes marcadores moleculares, para hongos y oomicetos se utilizará la región del ITS del ADN ribosomal (ITS4: 3'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-5', ITS5:3'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-5') (White et al., 1990) y el EF-1α (EF1: 3'-ATGGGTAAGGA(A/G)GACAAGAC-5', EF2:3'-GGA(G/A)GTACCAGT(G/C)ATCATGTT-5') (Nitschke et al., 2009), en el caso de *Colletotrichum* spp. se utilizará el ITS, el gliceraldehido 3-fosfato deshidrogenasa (GAPDH) (GDF: 3'-GCCGTCAACGACCCCTTCATTGA-5', GDR: 3'GGGTGGAGTCGACTTGAGCATGT) y el Apn2-Mat1-2 espaciador intergénico parcial (ApMat) (AMF: 3'-TCATTCTACG TATGTGCCC, AMR: 3'-CCAGAAATACACCGAACTTGC-5') (Ruiz Campos, 2016). *Phytophthora* spp. (I2: 3'-GATATCAGGTCCAATTGAGATGC-5', A2:3'-TTCACC



TACGGAACGTATATGTGCATGTGA-5') (Drenth et al., 2006). La reacción de amplificación y el perfil térmico se utilizarán de forma regular para amplificar ADN proveniente de cualquier tipo de microorganismo (Blanco Meneses & Ristaino, 2011).

Para detectar bacterias: La metodología que se utilizará para la secuenciación parcial es la descrita en Arahall et al. (2008). El ADN se amplificará mediante PCR en un termociclador utilizando cebadores universales, 616V: 5'-AGA GTT TGA TYM TGG CTC AG -3', 699R: 5'-RGG GTT GCG CTC GTT -3'. Los productos de PCR se comprobarán mediante electroforesis en gel de agarosa 1% (p/v) en tampón tris-borato EDTA a 135 V durante 25 minutos.

La metodología utilizada para la secuenciación completa será la descrita en Arahall et al. (2008) y Lucena et al. (2010). El ADN se amplificará mediante PCR, utilizando cebadores universales 616V: 5'-AGA GTT TGA TYM TGG CTC AG -3' y 699R: 5'-GGG TYK CGC TCG TTR -3', para el extremo 5' del gen, y los cebadores P609D: 5' - GGTTAGATACCCBDGTA -3' y P1525R: 5' - WAGGAGGTRATCCADCC -3', para el extremo 3'. Los productos de PCR se comprobarán mediante electroforesis en gel de agarosa 1% (p/v) en tampón tris-borato EDTA a 135 V durante 25 minutos.

El análisis de la secuencia del gen 16S rRNA se realizará utilizando las plataformas EzTaxon (Kim et al., 2012) y BLAST (Altschul et al., 1997). El resultado obtenido se presentará al recoger la extensión del fragmento solapado, el porcentaje de semejanza y el número de acceso de la secuencia de la cepa tipo de la especie que presenta el mayor grado de identidad.

Para detectar los fitoplasmas: se realizará mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa anidada (nPCR) para la amplificación genérica de la región ADNr 16S empleando los iniciadores R16mF2/R16mR1 y R16F2n/R16R2 seguido de una digestión con la endonucleasa de restricción *HaeIII* (Arocha et al., 2005).

Para detectar geminivirus: se realizará extracción de ADN (Doyle y Doyle, 1990), seguido de PCR para la amplificación genérica de la región del gen *Rep* se seguirá la metodología propuesta por Rojas *et al.* (1993), empleando los iniciadores PAL1v1978/ PARc496 y PBL1v2040/ PCRc1, que amplifican un fragmento de 1100 pb del componente ADN-A, y un fragmento de 600 pb del componente ADN-B, respectivamente.

Para estimar la variabilidad genética de geminivirus, el ADN amplificado por RCA a partir de ADN total extraído de las plantas hospedantes y de insectos serán linearizados con las enzimas de restricción *EcoRI*, *KpnI*, *HindIII*, *SacI*, entre otras; y ligados en el vector plasmidial pBluescript II SK+ previamente digerido con las mismas enzimas y seguido clonado en células competentes de *Escherichia coli* (DH5alpha).

Los productos de amplificación se separarán en un gel de agarosa al 0,8 % con GelRed (Biotium) a 0,5 µg mL⁻¹ para la tinción y buffer TBE, y se compararán con un marcador de peso molecular de 100 bp (ThermoScientific). La presencia de bandas se visualizará con luz ultravioleta.

Los productos de la PCR con bandas nítidas, únicas y con el peso molecular correcto, se purificarán con la Exonucleasa I (ThermoScientific). La secuenciación se realizará en la empresa MacroGen Inc. (Korea del Sur) a partir del producto de PCR a una concentración de 50 ng µL⁻¹ por medio de secuenciación de Sanger (Sanger et al., 1977). Las secuencias se alinearán y editarán manualmente con el BioEdit Sequence Alignment Editor versión 7.0.5.3 (Hall, 1999) y programa informático Mega versión 7. La hebra consenso se utilizará para verificar la similitud en buscadores como Nucleotide Blast del Gen Bank, EPPQ-Q-bank, NCBI, Fusarium ID y MycoBank, con el empleo de la colección de nucleótidos y la opción de material tipo de ser posible (Federhen, 2015). Se utilizarán similitudes mayores al 96 % y para valores menores se seleccionaron marcadores más específicos.

2.7.1.7 Identificación de parásitos en animales por métodos biológicos, bioquímicos y moleculares.

Análisis coprológico:

Se recogerán 100 muestras fecales frescas de mamíferos (n = 6 especies) del borde de la ubicación de las trampas en los pastizales, en viales de vidrio de 50 ml y se conservarán en formalina al 10 %.



El tipo fecal se identificará como perteneciente a un taxón particular capturado, por la textura, el tamaño y la forma de los gránulos fecales y sus constituyentes: frutas, insectos, hierbas, huesos, con base en Chame (2003) y observaciones previas en el sitio de estudio. La frescura de las muestras fecales estará asegurada por la presencia de una capa mucosa que cubre los gránulos fecales, la humedad del estiércol y la no perturbación por insectos (Cox et al., 2005). Se recogerá una muestra del centro de la pila de estiércol, se colocará en un vial de vidrio con el nombre del animal huésped, se transportará en hielo al laboratorio y se almacenará a 4 °C. En el laboratorio, se utilizarán para el análisis frotis fecales finos y flotación fecal con solución saturada de cloruro de sodio (Fernando y Udagama-Randeniya 2009; OMS 1994).

Los óvulos, quistes y larvas de los parásitos se identificarán utilizando el atlas de helmintología médica y protozoología (Jeffrey y Leach, 1966), Soulsby (1982) y las ayudas de banco para el diagnóstico de parásitos intestinales (OMS, 1994). Los datos cuantitativos se determinarán mediante el método de formol-éter (WHO. 1994).

Una muestra de 2 g de heces se tratará con 12 ml de una solución de formalina al 10%. Los residuos grumosos se eliminarán por filtración. El filtrado de la suspensión fecal se mezclará completamente con 3 ml de éter. A continuación, se agitará vigorosamente el tubo de centrífuga y se dejará que libere la presión del interior, seguido de centrifugación a 3000 rpm durante 5 min. Después de la centrifugación, se aflojará el tapón grueso con un aplicador de madera y se verterá el sobrenadante invirtiendo rápidamente el tubo. El sedimento resultante se mezclará completamente con un volumen conocido de solución salina. Se observarán tres frotis separados, cada uno de 20 µl de volumen de la suspensión fecal concentrada bajo microscopía óptica; el número de óvulos/quistes se contará examinando el portaobjetos en forma de zigzag, comenzando desde la esquina superior izquierda del portaobjetos y cubriendo toda el área de extensión del frotis de 20 µl. El valor promedio de los tres conteos será usado para estimar el número de óvulos/quistes en el volumen inicial de solución salina utilizada y luego por el número de óvulos/quistes por gramo de materia fecal (Ramalingam et al. 1983).

Los índices calculados con respecto a los parásitos GI incluirán prevalencia (% de muestras infectadas del número total examinado por taxón), riqueza (número de tipos registrados por taxón), diversidad (Índice de diversidad de Shannon-Wiener (H') = $-\sum(P_i \ln P_i)$ donde P_i es la abundancia proporcional de parásitos) y carga parasitaria (número de parásitos por unidad de muestreo) (Gannong y Willing, 1995).

Detección molecular de patógenos en sangre y en ectoparásitos: se realizarán por PCR convencional para la detección de rickettsia (Bermúdez et al., 2012) y nemátodos (Sobotyk et al., 2022) en ectoparásitos y sangre respectivamente; entre otros ensayos informados en la literatura científica.

2.7.2 SEGUNDA ETAPA

OBJETIVO ESPECÍFICO 2:

Se realizará una evaluación del efecto del estado de alteración de los cambios medioambientales en la incidencia, severidad y distribución de una enfermedad y un parásito predominante en el área protegida estudiada como un modelo para el estudio otras epidemias y que constituya una urgencia para establecer estrategias de manejo que permitan mitigar sus riesgos e impactos.

2.7.2.1 DISEÑO EXPERIMENTAL

Para el estudio se seleccionarán dos áreas de la zona, estas se basarán en el tipo de ambiente: áreas con cambios medioambientales y áreas sin cambios en medioambiente. En cada área de estudio se seleccionarán 2 sub-áreas de muestreo de 1 hectárea de superficie cada una (100 x 100 m).

Los muestreos se realizarán en cada sitio durante los meses de Abril, Mayo, Junio (época de máxima precipitación) y Agosto, Septiembre, Octubre, (época de mínima precipitación) del segundo año (2024) de la investigación.



Se organizarán prospecciones quincenales para evaluar la incidencia, severidad, densidad y distribución de una enfermedad o parásito emergente o reemergente como modelo de estudio. La movilización del personal encargado de los muestreos será aportada por la Sede Orellana.

2.7.2.2 Elaboración de una base de datos con incidencia y distribución de una especie predominante de patógeno y un parásito por ambientes estudiados.

Se elaborará una base de datos en el paquete de Microsoft Office Excel con los datos tomados anteriormente de una enfermedad emergente de impacto en las áreas protegidas, además se introducirán datos de variables climáticas, edáficas, nivel de cobertura, entre otros.

2.7.2.3 Procesamiento y análisis de la incidencia y distribución del patógeno y parásito predominante.

La base de datos confeccionada se llevará a software estadístico para realizar comparaciones entre las áreas estudiadas y análisis de tendencia en los periodos evaluados, además correlación de variables como severidad, incidencia con las variables edáficas y climáticas. Se propone el empleo de STATGRAPHICS Centurion, la cual es una potente herramienta de análisis de datos que combina una amplia gama de procedimientos analíticos con extraordinarios gráficos interactivos para proporcionar un entorno integrado de análisis que puede ser aplicado en cada una de las fases de un proyecto, desde los protocolos de gestión Six Sigma hasta los procesos de control de calidad.

Se realizarán los análisis críticos de las tablas y gráficas estadísticas obtenidas para la elaboración de los informes y publicaciones científicas en revistas de alto impacto.

2.8. RESULTADOS ESPERADOS

Componente 1: Establecimiento de un muestrario de tejidos, cultivos puros, ADN de especies de plantas y de sangre, heces y ectoparásitos de animales; se elaborará un Catálogo Digital con la descripción de las principales sintomatologías observadas en las áreas de estudio y se identifican por secuenciación de ADN cuatro principales patógenos como agentes causales de epifitias en la flora y los dos parásitos que pueden constituir epidemias en las poblaciones de la fauna que habitan los ecosistemas forestales.

Componente 2: Contribución a un modelo pronóstico de una enfermedad con el estudio de la correlación de variables de incidencia, severidad y distribución con los factores edafoclimáticos cambiantes en las zonas de estudio.

2.9. TRANSFERENCIA DE RESULTADOS

El equipamiento que se adquiere por el proyecto y tecnología empleada para el desarrollo de los experimentos sirven para consolidar el trabajo experimental que deben realizar varias materias del ciclo básico en carreras de la institución, de forma que se fortalece la estructura académica en su componente experimental con la incorporación de ensayos que permiten determinar desde el punto de vista cuantitativo la concentración de analitos y por otro lado una conservación adecuada del material biológico.

Es posible que se puedan incorporar estudiantes de las carreras que están involucradas en la ejecución del proyecto en la realización de prácticas preprofesionales, y trabajos de titulación, vinculados al algoritmo de trabajo propuesto. Los resultados que se alcanzaran son novedosos pues no existen estudios en la región en este sentido el material biológico obtenido, sirve no solo para caracterizar la región de estudio sino para incrementar el potencial de conocimientos en las comunidades aledañas a la región para que desarrollen estrategias que permitan minimizar las alteraciones que como enfermedades emergentes-reemergente se detecten en la región. Por otra parte, a la par con el desarrollo del campo científico internacional en la Biología Molecular, es posible con la conservación de estas muestras establecer su secuenciación genómica con la creación de otros proyectos con otras universidades que realizan este tipo de actividad.

Esta investigación en áreas protegidas como patrimonio de la humanidad resulta interesante para el trabajo que pueda desarrollar el ministerio de medio ambiente de la provincia de Orellana,



porque una forma de proteger es saber que el ecosistema que conforma la región mantiene su equilibrio y no sufre alteraciones que conlleven a un deterioro del área que se protege.

Se realizará socialización a través de artículos publicados en revistas indexadas, por la magnitud del trabajo y la importancia del tema será propuesto para una primera publicación en una revista de impacto regional e indexada a SCOPUS, se darán conferencias y charlas sobre el tema y resultados obtenidos, así como la presentación de resultados en eventos de carácter social y científicos en el país y en la región. Por la novedad del tema se confeccionará un libro vinculado al análisis de los metabolitos secundarios en plantas endémicas del Ecuador.

2.10. BENEFICIARIOS DIRECTOS E INDIRECTOS

Beneficiarios directos: 20 estudiantes de la Carrera de Ingeniería Ambiental y Zootecnia que participarán en el proyecto que contribuirá a su formación en horas de prácticas preprofesionales y trabajos de titulación, así como 10 docentes de la SEDE ORELLANA, ESPOCH y; el Ministerio del Medio Ambiente de Orellana y el gobierno autónomo descentralizado Municipal Francisco de Orellana que dispondrán de resultados de investigación valiosos para la toma de estrategias de trabajo en la región.

Los dos docentes investigadores de la institución externa internacional participante en este proyecto tendrán la posibilidad de ejercer sus experiencias profesionales de conjunto con la ESPOCH y podrán participar como autores en las obras literarias que se pretende elaborar, así como los artículos de alto impacto, toda vez que sea firmado en convenio de colaboración con su universidad.

Beneficiarios indirectos: Se favorecerán alrededor de 1000 personas entre agricultores, ganaderos, productores, comunidades rurales que se beneficiarán de las estrategias trazadas por instituciones gubernamentales para la prevención de epidemias en especies de plantas y animales silvestres y de importancia económica que constituyen su fuente de recursos naturales.

2.11. IMPACTOS

- 1) Impacto Social: ya que uno de los fines que se pretende es el empoderamiento del conocimiento de como se muestra las regiones protegidas en cuanto a incidencia de enfermedades emergentes-reemergente lo que dotará de información a los miembros de las comunidades rurales, productores agrícolas y ganaderos que viven aledañas a la región de estudio.
- 2) Impacto Científico: El conocimiento científico es imprescindible para identificar los problemas ambientales y los riesgos asociados, pero también para diseñar y poner en práctica medidas que contribuyan a resolver el problema de estudio. El proyecto aportará los primeros informes a la comunidad científica internacional de los principales patógenos presentes en la flora y parásitos en animales en la zona de estudio.
- 3) Impacto Económico: se pretende con la propuesta, se pretende disminuir la posibilidad de aparición de plagas y enfermedades en las regiones de estudio y su posible impacto en otros cultivos de importancia económica colindantes.
- 4) Impacto Político: con los resultados se podrán perfeccionar las políticas ambientales desde un análisis científico y económico que en la mayoría de los casos conlleve a una sumatoria de intereses orientada a sobrepasar las perspectivas particulares insertándolas en los intereses generales.
- 5) Impacto Ambiental: se especifica la información necesaria para evaluar los posibles efectos significativos del proyecto sobre el medio ambiente. Su principal objetivo no es otro que adoptar las decisiones más adecuadas para prevenir y minimizar dichos efectos de enfermedades emergentes. Se contribuye a frenar las pérdidas de biodiversidad causadas por enfermedades y parásitos al suministrar datos que permiten identificar su relación con los cambios del medioambiente.



2.12. ASPECTOS BIOÉTICOS Y SOCIALES

Las áreas protegidas constituyen un espacio geográfico claramente definido, reconocido, dedicado y gestionado, mediante medios legales u otros tipos de medios eficaces para conseguir la conservación a largo plazo de la naturaleza y de sus servicios ecosistémicos y sus valores culturales asociados. Se hace factible la aplicación de instrumentos y procedimientos legales para resolver las situaciones que vulneran o ponen en peligro a las áreas protegidas.

Consideraciones genéticas y de conservación de especies

Proteger el más amplio rango de variaciones globales y nacionales de biomas y comunidades de especies, trae consigo la delimitación de divisiones biogeográficas y la selección de los ejemplos más importantes disponibles en cada una. La selección favorecerá los ejemplos que estén menos aislados de otras áreas naturales, de los cuales se espera que sean más ricos en términos de especies y más estables en términos de retener a las especies que contengan; la selección también tenderá a favorecer áreas de alto endemismo y con especies características de la región.

Las especies no viven aisladas, viven dentro de comunidades y en ecosistemas. Ha llegado a ser ampliamente aceptado que la protección del hábitat es fundamental para salvaguardar especies, por lo tanto, las reservas deben ser escogidas con base en la cobertura representativa de los tipos de hábitat; si esto se hace perfectamente, la mayoría de las necesidades de las especies estarán cubiertas, pero, de hecho, la diferencia que hay entre las clasificaciones de hábitats, son inconsistentes o no siempre adecuadas. A menudo es más práctico seleccionar áreas protegidas con base en las especies clave que amparan; de cualquier manera, este método es una verificación independiente útil en el enfoque biogeográfico. La selección de reservas con base en el criterio de la presencia de especies es útil por las siguientes razones: Se identifican áreas que requieren protección urgente (Donde especies conspicuas están desapareciendo rápidamente). El uso de criterios referentes a las especies confirma y complementa la cobertura del área lograda mediante la utilización del enfoque biogeográfico.

Concentrándose en las especies clave (Sobrevivencia de especies "raras"), se tiene un buen indicador de la efectividad de selección de un área.

El desarrollo del presente proyecto implica la recolección y análisis de muestras de plantas y animales afectados, para lo cual se realizarán los trámites necesarios con el Comité de Bioética Institucional y el Ministerio de Ambiente, para obtener los permisos para la recolección de las muestras en la región de estudio perteneciente a la Provincia de Orellana, así como los permisos para el trabajo de investigación en áreas protegidas.

2.13. OTROS PRODUCTOS DE LA INVESTIGACIÓN

1. Solicitud de derechos de autor

- a. Registro de obras literarias

3. PRESUPUESTO DEL PROYECTO

3.1. PRESUPUESTO GENERAL POR AÑOS DEL PROYECTO

MONTO	ESPOCH	ULT	Total
AÑO 1	42 552,69	15 568,00	\$ 58 120,69
AÑO 2	6 950,00	14 432,00	\$ 21 382,00
TOTAL DEL PROYECTO	49 502,69	30 000,00	\$ 79 502,69



3.2. RECURSOS HUMANOS


AÑO 1		
NOMBRES	HORAS / SEMANA	COSTO MENSUAL*
INVESTIGADOR RESPONSABLE ASTERIO BARBARU	8 h/m- 18.02	133.50
INVESTIGADOR1/DOCENTE CARLOS MESTANZA	8 h/m-14.06	117.25
INVESTIGADOR2/DOCENTE SANDRA SUARES	8 h/m- 13,22	105.75
INVESTIGADOR3/DOCENTE RAUL GONZALEZ	8 h/m- 13.22	105,75
TOTAL		462,25


AÑO 2		
NOMBRES	HORAS / SEMANA	COSTO MENSUAL*
INVESTIGADOR RESPONSABLE ASTERIO BARBARU	8 h/m- 18.02	133.50
INVESTIGADOR1/DOCENTE CARLOS MESTANZA	8 h/m-14.06	117.25
INVESTIGADOR2/DOCENTE SANDRA SUARES	8 h/m- 13,22	105.75
INVESTIGADOR3/DOCENTE RAUL GONZALEZ	8 h/m- 13.22	105,75
TOTAL		462,25





3.3. DETALLE DE LOS REQUERIMIENTOS Y SERVICIOS UTILIZADOS POR EL PROYECTO


COMPONENTES	ACTIVIDAD	REQUERIMIENTO	TIPO COMPRA (Bien, obra, servicio o consultoría)	CANTIDAD ANUAL	UNIDAD (metros, litros etc.)	COSTO UNITARIO SIN IVA	PRESUPUESTO TOTAL SIN IVA	PRESUPUESTO TOTAL CON IVA	Año 2023		
									CUATRIMESTRE 1 %	CUATRIMESTRE 2 %	CUATRIMESTRE 3 %
COMPONENTE 1 Diversidad de los principales patógenos y parásitos causantes de las sintomatologías observadas en plantas y animales con el empleo de herramientas biológicas, bioquímicas y moleculares	Actividad 1 Georeferenciación de las áreas con las alteraciones medioambientales que afectan flora y fauna.	Requerimiento 1 GPS	Bien	1	Unidad	800	800		100	-	-
		Requerimiento 2 Computadora Especializada para procesamiento mapas georeferenciados	Bien	1	Unidad	1 839	1 839		100	-	-
		Requerimiento 3 Lupas	Bien	3	Unidad	107,6	322,8		100	-	-
		Requerimiento 4 Compra de pasaje aéreo (ida-vuelta) para dos especialistas extranjeros	Servicio	2	Unidad	600	1 200		100	-	-
		Hospedaje y alimentación para dos especialistas extranjeros	Servicio	2	Unidad	2 840	5 680		25	75	-

 <p>COMPONENTE 1</p> <p>Diversidad de los principales patógenos y parásitos causantes de las sintomatologías observadas en plantas y animales con el empleo de herramientas biológicas, bioquímicas y moleculares</p>	<p>Escuela Superior Politécnica de Chimborazo 50 AÑOS</p> <p>Actividad 2 Prospección de plantas con signos y síntomas de patógenos en los ecosistemas.</p>	<p>Requerimiento 1 Caja enfridora de transporte veterinario</p>	Bien	2	Unidad	70	140		100	-	-	
		<p>Requerimiento 2 Bolsas de muestreo estériles (paquete 500)</p>	Bien	1	Unidad	189,44	189,44		100	-	-	
		<p>Actividad 3 Recolección y envío de muestra de heces, raspado cutáneo, recolección con hisopo de algodón en animales.</p>	<p>Requerimiento 1 Heparina de litio 15 ml - Caja 10 unidades</p>	Bien	2	Caja	96	192		100	-	-
			<p>Requerimiento 2 EDTA - ácido etilendiaminote traacético</p>	Bien	1	Kg	35,17	35,17		100	-	-
			<p>Requerimiento 3 Tirillas de papel filtro, 100/paquete</p>	Bien	3	Paquetes	31,50	94,50		100	-	-
			<p>Requerimiento 4 Dicromato de Potasio 250 G.</p>	Bien	2	Frasco	80	160		100	-	-
			<p>Requerimiento 5 Formaldehido (Formol) en solución 40.0%</p>	Bien	10	Litros	17,72	177,2		100	-	-
			<p>Requerimiento 6 Colorantes para microbiología y patología</p>	Bien	1	Unidad	985	985		100	-	-

 <p>Escuela Superior Politécnica de Chimborazo 50 AÑOS</p>	<p>Actividad 3 Continuación....</p>	Requerimiento 7 Alicate manual de acero inoxidable para sellado de botellas 20mm	Bien	1	Unidad	60	60		100	-	-
		Requerimiento 8 Peines metálicos	Bien	3	Unidad	5	15		100	-	-
		Requerimiento 9 Etanol absoluto	Bien	5	Litros	24,69	123,45		50	25	25
		Requerimiento 10 Aceite mineral de grado laboratorio, luz, 500 ml	Bien	1	Litros	52	104		100	-	-
		Requerimiento 11 Citrato de sodio	Bien	1	Kg	22	22		100	-	-
		Requerimiento 12 Hisopos para toma de muestras 100/caja	Bien	5	Caja	39,18	195,9		100	-	-
		Requerimiento 13 Trampas Sherman	Bien	20	Unidad	72,00	1 440		100	-	-
		Requerimiento 14 Ballesta para capturar rapaces 82x92 cm	Bien	5	Unidad	205	1 025		100	-	-
		Requerimiento 15 Contenedor de Nitrógeno Líquido para transporte muestras	Bien	1	Unidad	750	750		100	-	-
		Requerimiento 16 Nitrógeno Líquido	Bien	100	Kg	3,20	320		50	50	-


 <p>Escuela Superior Politécnica de Chimborazo 50 AÑOS</p> <p>Actividad 4 Aislamiento y conservación de muestras de patógenos en tejidos de plantas y parásitos en tejidos de animales, así como extracción de ADN totales de ambos.</p>	Requerimiento 1 Sistema de Liofilización	Bien	1	Unidad	7518	7 518		-	100	-
	Requerimiento 2 Baño de maría con circulación agua	Bien	1	Unidad	800	800		100	-	-
	Requerimiento 3 Congelador Vertical de laboratorio de -45°C	Bien	1	Unidad	3 200	3 200		100	-	-
	Requerimiento 4 Microespectrómetro	Bien	1	Unidad	11 114	11 114		-	-	100
	Requerimiento 5 Centrífuga Micro-refrigerada (Labomersa)	Bien	1	Unidad	3 585	3 585		-	100	-
	Requerimiento 6 2-Propanol	Bien	5	Litros	25,75	25,75		-	100	-
	Requerimiento 7 Cloroformo	Bien	2,5	Litros	16,77	41,91		-	100	-
	Requerimiento 8 Alcohol isoamílico AGR según Gerber	Bien	2	Litros	24,15	48,30		-	100	-
	Requerimiento 9 Frasco de vidrio con tapón de aluminio 125/caja	Bien	2	Caja	71,61	143,22		-	100	-
	Requerimiento 10 Tubos con faldón para	Bien	2	Caja	12,27	24,54		-	100	-


	Escuela Superior Politécnica de Chimborazo 50 AÑOS	transporte de muestras de 10 ml-100/caja									
		Requerimiento 11 Tapones liofilización y cápsulas para viales con boca capsulable de 20 mm	Bien	3	Cajas	19,04	57,24		-	100	-
		Requerimiento 12 Vial para muestras transparente con boca capsulable- 10 ml-192/caja	Bien	1	Cajas	31,21	31,21		-	100	-
	Actividad 4 Continuación....	Requerimiento 13 Vial para muestras transparente con boca capsulable- 30 ml-92/caja	Bien	2	Cajas	20,25	40,50		-	100	-
		Requerimiento 14 Vial para muestras ámbar con boca capsulable-20 ml- 120/caja	Bien	2	Cajas	23,78	47,56		-	100	-

	Escuela Superior Politécnica de Chimborazo 50 AÑOS	Requerimiento 15 Abridor de cápsulas con pestaña de desgarre para cápsulas de Ø20 mm	Bien	1	Unidad	5	5		-	100	-
TOTAL							\$42 522,69				



COMPONENTES	ACTIVIDAD	REQUERIMIENTO	TIPO COMPRA (Bien, obra, servicio o consultoría)	CANTIDAD ANUAL	UNIDAD (metros, litros etc.)	COSTO UNITARIO SIN IVA	PRESUPUESTO TOTAL SIN IVA	PRESUPUESTO TOTAL CON IVA	Año 2024		
									CUATRIMESTRE 1 %	CUATRIMESTRE 2 %	CUATRIMESTRE 3 %
COMPONENTE 1 Diversidad de los principales patógenos y parásitos causantes de las patologías observadas en plantas y animales con el empleo de herramientas	Actividad 5 Identificación de patógenos por sintomatología y posible grupo que pertenezcan por métodos moleculares.	Requerimiento 1 Taq PCR Master Mix (2X, tinte rojo) 1ML	Bien	20	mL	115	2 300		100	-	-
		Requerimiento 2 Síntesis de Cebadores (BioMol Ecuador CIA LTDA)	Bien	40	Unidad	17	680		100	-	-
		Requerimiento 3 Agua Grado Biología Molecular Tipo 1	Bien	2	Litros	50	100		100	-	-

 <p>biológicas, bioquímicas y moleculares</p>	<p>Actividad 6 Escuela Politécnica Superior de Chimborazo identificados en las heces fecales, raspado cutáneo y otros fluidos por métodos biológicos, bioquímicos y moleculares.</p>	<p>Requerimiento 1 Secuenciación ADN (BioMol Ecuador CIA LTDA)</p>	<p>Servicio</p>	<p>100</p>	<p>Unidad</p>	<p>7,5</p>	<p>750</p>		<p>50</p>	<p>50</p>	<p>-</p>
<p>COMPONENTE 2</p> <p>Efecto de los cambios medioambiental es en la distribución de las enfermedades y parásitos presentes en las áreas estudiadas.</p>	<p>Actividad 1 Elaboración y procesamiento Base de datos con incidencia y distribución de una especie predominante de patógeno y un parásito por ambientes estudiados.</p>	<p>Requerimiento 1 Adquisición de datos estadísticos variables meteorológica e hidrológica de la zona en estudio.</p>	<p>Servicio</p>	<p>1</p>	<p>Unidad</p>	<p>100</p>	<p>100</p>		<p>-</p>	<p>-</p>	<p>100</p>
		<p>Requerimiento 2 Análisis químicos y físicos de los suelos</p>	<p>Servicio</p>	<p>1</p>	<p>Unidad</p>	<p>500</p>	<p>500</p>		<p>-</p>	<p>100</p>	<p>-</p>
		<p>Requerimiento 3 Compra de pasaje aéreo (ida-vuelta) para un especialista extranjero</p>	<p>Servicio</p>	<p>1</p>	<p>Personal</p>	<p>600</p>	<p>600</p>		<p>100</p>	<p>-</p>	<p>-</p>
		<p>Requerimiento 4 Hospedaje y alimentación para un especialista extranjero</p>	<p>Servicio</p>	<p>1</p>	<p>Personal</p>	<p>1420</p>	<p>1420</p>		<p>50</p>	<p>50</p>	<p>-</p>

	<p>Actividad 2 Escuela Superior Politécnica de Chimborazo Publicación de la incidencia y distribución de patógenos y parásitos predominantes procesada y analizada.</p>	<p>Requerimiento 1 Impresión y reproducción de libro y catálogo con los resultados del proyecto.</p>	<p>Servicio</p>	<p>10</p>	<p>Unidad</p>	<p>50</p>	<p>500</p>		<p>-</p>	<p>-</p>	<p>100</p>
<p>TOTAL</p>							<p>\$ 6 950,00</p>				



3.4 PRESUPUESTO GENERAL

ACTIVIDAD	AÑO	AÑO
	I	II
Equipos	32 533,80	-
Materiales suministros	3 138,89	3 080,00
Subcontratos y servicios, etc.	6 880,00	3 870,00
Total	42 552,69	6 950,00

4. CRONOGRAMA

Actividades	Año 2023												Año 2024											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
COMPONENTE 1 Diversidad de los principales patógenos y parásitos causantes de las sintomatologías observadas en plantas y animales con el empleo de herramientas biológicas, bioquímicas y moleculares.																								
Actividad 1.1 Permisos gestionados en el Ministerio de Ambiente para la recolección de recursos genéticos y certificación bioética de la ESPOCH obtenida.		X	X																					
Actividad 1.2 Georeferenciación de las áreas con las alteraciones medioambientales que afectan flora y fauna.				X																				
Actividad 1.3 Muestreos para coleccionar plantas con signos y síntomas de patógenos en los ecosistemas.				X	X	X		X	X	X														
Actividad 1.4 Muestreos para la toma, recolección y envío de muestra de heces, raspado cutáneo, recolección con hisopo de algodón en animales enfermos o atropellados.				X	X	X		X	X	X														
Actividad 1.5 Aislamiento y conservación de muestras de patógenos en tejidos de plantas y parásitos en tejidos de animales, así como extracción de ADN totales de ambos.				X	X	X		X	X	X														
Actividad 1.6 Patógenos identificados de acuerdo a la sintomatología y posible grupo que pertenezcan por métodos biológicos, bioquímicos y moleculares.							X				X	X	X	X	X									
Actividad 1.7 Parásitos identificados en las heces fecales, raspado cutáneo y otros fluidos por métodos biológicos, bioquímicos y moleculares.							X				X	X	X	X	X									
COMPONENTE 2 Efecto de los cambios medioambientales en la distribución de las enfermedades y parásitos presentes en las áreas estudiadas.																								
Actividad 2.1 Base de datos elaborada y procesada con																X	X	X		X	X	X		

incidencia, severidad y distribución de una especie predominante de patógeno y un parásito por ambientes estudiados.																					
Actividad 2.2 Información de la incidencia y distribución de patógenos y parásitos predominantes procesada y analizada.																X				X	X



5. BIBLIOGRAFÍA Y PRODUCCIONES CIENTÍFICAS CITADAS

- Altschul SF, Madden TL, Schäffer AA, Zhang J, Zhang Z, Miller W, Lipman DJ. (1997). "Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs", *Nucleic Acids Res.* 25, 3389-3402.
- Anderson PK, Cunningham AA, Patel NG, Morales FJ, Epstein PR, Daszak P. (2004). Emerging infectious diseases of plants: pathogen pollution, climate change and agrotechnology drivers. *Trends Ecol Evol.* 19: 535-44.
- Arahal DR, Sánchez E, Macián MC, Garay E. (2008). Value of recN sequences for species identification and as a phylogenetic marker within the family "Leuconostocaceae". *Int. Microbiol.* 11: 33-39.
- Arocha Y, Piñol B, Picornell B, Almeida R, Jones, P. (2007). Broad bean and sweet pepper: two new hosts associated with Candidatus *Phytoplasma asteris* (16SrI phytoplasma group) in Cuba. *Plant Pathology* 56, 345.
- Bermúdez S, Miranda R, Zaldívar Y, González P, Berguido G, Trejos D, Pascale JM, Labruna M. (2012). Detección de *Rickettsia* spp. en ectoparásitos de animales domésticos y silvestres de la Reserva Natural Privada Cerro Chucantí y comunidades aledañas, Panamá, 2007-2010. *Biomédica* 32:189-95.
- Blanco-Meneses M, Ristaino JB. (2011). Detection and quantification of *Peronospora tabacina* using a Real-time Polymerase Chain Reaction assay. *Plant Disease*, 95(6): 673-682. <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-10-0333>
- Bonnamour A, Gippet JMW, Bertelsmeier C. (2021). Insect and plant invasions follow two waves of globalisation. *Ecol Lett.* <https://doi.org/10.1111/ele.13863>.
- Brasier CM, Buck KW. (2001). Rapid evolutionary changes in a globally invading fungal pathogen (Dutch elm disease). *Biol Invasions.* 3:223-33.
- Burdon JJ, Thrall PH. (2009). Coevolution of plants and their pathogens in natural habitats. *Science.* 324: 755-6.
- Burgess TI, Wingfield MJ. (2002). Impact of fungi in natural forest ecosystems; a focus on *Eucalyptus*. In: Sivasithamparam K, Dixon KW, Barrett RL, editors. *Microorganisms in plant conservation and biodiversity*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers; p. 285-306.
- Burgess TI, Wingfield MJ. (2017). Pathogens on the move: a 100 year global experiment with planted eucalypts. *Bioscience.* 67: 14-25.
- Bütler R; Lachat T, Krumm F, Kraus, D, Larrieu L. (2020). Dendro-Microhábitats. Guia de campo. Descripción, identificación y clasificación para su inventario. Birmensdorf, Instituto Federal Suizo de Investigación en el ámbito Forestal, de la Nieve y del Paisaje (WSL). 59 p.
- Chame M. (2003). Terrestrial mammal feces: a morphometric summary and description. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 98 (1): 71-94.
- Cox P, Griffith M, Angles M, Deere D, Ferguson C. (2005). Concentrations of pathogens and indicators in animal feces in the Sydney watershed. *Appl. Environ. Microbiol.* 71 (10): 5929-5934.
- de Capriles CH, Mata S, Middelveen M. (1989). Preservation of fungi in water (Castellani): 20 years. *Mycopathologia*, 106 (2):73-79. Doi:10.1007/BF00437084
- Desprez-Loustau M-L, Aguayo J, Dutech C, Hayden KJ, Husson C, Jakushkin B, et al. (2016). An evolutionary ecology perspective to address forest pathology challenges of today and tomorrow. *Ann For. Sci.* 73: 45-67.



- Desprez-Loustau M-L, Marcais B, Nageleisen LM, Piou D, Vannini A. (2006). Interactive effects of drought and pathogens in forest trees. *Ann For Sci.*, 63:597-612.
- Doyle J, Doyle J. (1990). Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*. 12 (1): 13-5.
- Drenth A, Wagels G, Smith B, Sendall B, O'Dwyer C, Irvine G, Irwin J. (2006). Development of a DNA-based method for detection and identification of *Phytophthora* species. *Australasian Plant Pathology*, 35: 147-159. <https://doi.org/10.1071/AP06018>
- Fernando S, Udagama-Randeniya P. (2009). Parasites of selected reptiles of the national zoological garden, Sri Lanka. *J. Zoo Wildl. Med.*, 40 (2), 272-275.
- Frantz AC, Pope LC, Carpenter PJ, Roper TJ, Wilson GJ, Delahay RJ, *et al.* (2003). Reliable microsatellite genotyping of the Eurasian badger (*Meles meles*) using faecal DNA. *Molecular Ecology*, 12: 1649-1661.
- GADP Orellana. (2015). GADPO Plan de Desarrollo. Recuperado el 11 de Julio de 2017, de Plan de Desarrollo y Ordenamiento Territorial de la Provincia de Orellana 2015-2025: <http://www.gporellana.gob.ec/plande-desarrollo/>
- Gannong MR, Willing MR. (1995). Ecology of ectoparasites from tropical bats. *Environ. Entomol.* 24 (6): 1495-1503.
- Ghelardini L, Pepori AL, Luchi N, Capretti P, Santini A. (2016). Drivers of emerging fungal diseases of forest trees. *For Ecol Manag.* 381:235-46.
- Hennon PE, Frankel SJ, Woods AJ, Worrall JJ, Norlander D, Zambino PJ, *et al.* (2020). A framework to evaluate climate effects on forest tree diseases. *For Pathol.* 50:e12649.
- Hepting GH. (1963). Climate and forest diseases. *Annu Rev Phytopathol.* 1:31-50.
- Holdenrieder O, Pautasso M, Weiberg PJ, Lonsdale D. (2004). Tree diseases and landscape processes: the challenge of landscape pathology. *Trends Ecol Evol.* 19: 446-52.
- Hoss M, Paabo S. (1993). DNA extraction from pleistocene bones by a silica-based purification method. *Nucleic Acids Research* 21: 3913-3914.
- Jeffrey HC, Leach R.M. (1966). *Atlas of Medical Helminthology and Protozoology*, second ed. Livingstone, London.
- Kim OS, Cho YJ, Lee K, Yoon SH, Kim M, Na H, Park SC, Jeon YS, Lee JH, Yi H, Won S, Chun J. (2012). Introducing EzTaxon: a prokaryotic 16S rRNA Gene sequence database with phylotypes that represent uncultured species. *Int J Syst Evol Microbiol.* 62, 716-721.
- Lin YH, Chang JY, Liu ET, Chao CP, Huang JW, and Chang P FL. (2009). Development of a molecular marker for specific detection of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* race 4. *Eur. J. Plant Pathol.* 123: 353-365. doi: 10.1007/s10658-008-9372-4
- Lucena T, Pascual J, Garay E, Arahal DR, Macián MC, Pujalte MJ. (2010). *Haliea mediterranea* sp. nov., a new marine gammaproteobacterium. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 50: 1844-1848.
- Manion PD. (1991). *Tree disease concepts*. Englewood Cliffs: Prentice Hall.
- Nitschke E, Nihlgard M, Varrelmann M. (2009). Differentiation of eleven *Fusarium* spp. isolated from sugar beet, applying restriction fragment analysis of polymerase chain reaction-amplified translation elongation factor 1 α gene fragment. *Phytopathology*, 99(8): 921-929. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-99-8-0921>
- Paap T, Wingfield MJ, Burgess TI, Wilson JRU, Richardson DM, Santini A. (2022). Invasion frameworks: a forest pathogen perspective. *Curr For Rep.* 8:74-89
- Pautasso M, Aas G, Queloz V, Holdenrieder O. (2013). European ash (*Fraxinus excelsior*) dieback—a conservation biology challenge. *Biol Cons.* 158: 37-49.



- Quezada AS, Sevilla JD, Avilés EC. (2022). Estimación de la tasa de deforestación en Pastaza y Orellana- Ecuador mediante el análisis multitemporal de imágenes satelitales durante el período 2000-2020. *Revista de Investigación en Ciencias Agronómicas y Veterinarias*, 6, (17): 282 – 299. <https://doi.org/10.33996/revistaalfa.v6i17.168>
- Ramalingam S, Sinniah B, Krishnan U. (1983). Albendazole, an effective single dose, broad spectrum anthelmintic drug. *Am J Trop Med*, 32 (5): 984–989.
- Ramsfield TD, Bentz BJ, Faccoli M, Jactel H, Brockerhoff EG. (2016). Forest health in a changing world: effects of globalization and climate change on forest insect and pathogen impacts. *Forestry*, 89:245–52.
- Rigling D, Prospero S. (2018). *Cryphonectria parasitica*, the causal agent of chestnut blight: invasion history, population biology and disease control. *Mol Plant Pathol*. 19: 7–20.
- Rizzo DM, Garbelotto M. (2003). Sudden oak death: endangering California and Oregon forest ecosystems. *Front Ecol Environ*, 1: 197–204.
- Rojas MR, Gilbertson RL, Ruseel DR, Maxwell DP. (1993). Use of generate oligonucleotides in the polymerase chain reaction to detect whitefly-transmitted geminivirus. *Plant Disease*, 77: 340-347.
- Ruíz Campos CC. (2016). Distribución y frecuencia de *Colletotrichum* spp. en la fruta de papaya (*Carica papaya* L.) híbrido “Pococi” en las zonas productoras de Parrita, Guácimo y San Carlos [Tesis de Licenciatura, Universidad de Costa Rica]. Repositorio de la Universidad de Costa Rica. <https://bit.ly/3jpZRoV>
- Shearer BL, Crane CE, Barrett S, Cochrane A. (2007). *Phytophthora cinnamomi* invasion, a major threatening process to conservation of flora diversity in the South-west Botanical Province of Western Australia. *Aust J Bot.*, 55:225–38.
- Sinclair WA. (1965). Comparisons of recent declines of white ash, oaks, and sugar maple in northeastern woodlands. *Cornell Plantations*, 20:62–7.
- Singh SK, Baghela A. (2017). Cryopreservation of Microorganisms. *Mod Tools Tech to Understand Microbes*, 321-333.
- Sobotyk C, Nguyen N, Negron V, Amanda Varner A, Saleh MN, Clayton Hilton C, Tomecek JM, Esteve-Gasent MD, Verocai GG. (2022). Detection of *Dirofilaria immitis* via integrated serological and molecular analyses in coyotes from Texas, United States. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 18: 20–24.
- Soulsby E JL. (1982). *Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals*, 7th. Baillière Tindall, London.
- Stenlid J, Oliva J. (2016). Phenotypic interactions between tree hosts and invasive forest pathogens in the light of globalization and climate change. *Philos Trans R Soc B Biol Sci*. 371: 20150455.
- Valdez M, Cisneros P. (2020). Gobernanza ambiental, Buen Vivir y la evolución de la deforestación en Ecuador en las provincias de Tungurahua y Pastaza. *Revista de Derecho* [Internet]. 2020 [consultado 30 mar 2021]; Vol. (34):10-12. Disponible en: <https://revistas.uasb.edu.ec/index.php/foro/article/view/1467>.
- White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. J. Sninsky, & T. J. White (Eds.), *PCR Protocols: A guide to methods and applications* (pp. 315–322). Academic Press.
- WHO. (1994). *Bench Aids for the Diagnosis of Intestinal Parasites*. World Health Organization, France.



**Escuela
Superior Politécnica
de Chimborazo**
50 AÑOS

**Instituto de
Investigación**

Lcdo. Asterio Denis Barbarú Grajales, PhD.

Firma y Nombre del director