



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE LA PLATA



Facultad de Ciencias
Naturales y Museo

ESTUDIO DE LA CALIDAD DEL AGUA EN ARROYOS PAMPÁSICOS MEDIANTE LA TÉCNICA DE DERIVA DE EXUVIAS PUPALES DE CHIRONOMIDAE

Trabajo de tesis para optar al título de Doctor en
Ciencias Naturales (FCNyM-UNLP)

Juan Pablo ZANOTTO ARPELLINO

Directores:

Dr. Mariano DONATO (ILPLA, CONICET-FCNyM; FCNyM-UNLP)

Dra. Luciana MONTALTO (INALI, CONICET- UNL; FHUC-UNL)

Instituto de Limnología "Dr. Raúl A. Ringuelet"
CONICET – FCNyM – UNLP

2021

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero agradecer profundamente a mis directores Dra. **Luciana Montalto** y Dr. **Mariano Donato** por haberme dado la oportunidad, las herramientas y todo el apoyo para llevar adelante este trabajo. Por todo el conocimiento y experiencia adquirido durante estos años y por seguir confiando en mí. Sin duda soy un privilegiado en contar con el apoyo de dos grandes profesionales desde el punto de vista ecológico y sistemático.

A los jurados de esta tesis **Dra. Carolina Ocón, Dr. Luis Epele y Dr. Diego Añón Suárez**; por sus aportes, correcciones y sugerencias que enriquecieron este trabajo. Desde sus diferentes puntos de vista han hecho que este manuscrito resulte en una excelente contribución.

A mi familia, **Ludmila** y mi hermosa hija **Uma**, por ser la fuente de mi felicidad, por su acompañamiento, paciencia y constante apoyo. A mis padres, hermanos y familia política que desde la distancia me brindaron toda su contención, el aliento, la confianza.

A mis Tíos **Raúl** y **Susana** que nos ayudaron muchísimo con la mudanza a La Plata y a **Roxana** y su familia que sin ellos no hubiese sido nada fácil.

A la Dra. **Analía Paggi**, que me brindó todo su conocimiento en mis inicios con los quironómidos y fue mi nexo para poder iniciar mi carrera de doctorado.

A **Augusto Siri** y **Melina Mahuad** por su disposición y su ayuda permanente durante los muestreos y trabajos con la lupa, además por su buena onda.

A **Lucila Protogino, Gustavo Spinelli, Mónica Caviglia, Leandro Alcalde, Julia Cassano, Rocío Sánchez, Belén Semeniuk**, mis compañeros del Laboratorio de Sistemática, por brindarme sus conocimientos, sus charlas durante el almuerzo y por compartir tantos momentos alegres.

Agradezco a **Jorge Donadelli** por el análisis de las muestras de agua colectadas en cada muestreo para la determinación de nutrientes. A **Carolina Monti** por sus búsquedas de papers y todo lo necesario desde la biblioteca. A **Cristian Marchesich**, por su asesoramiento técnico. A **Roberto Jensen** por su ayuda en alguna que otra salida a campo. A **Gustavo Romañuk** por la fabricación de redes de muestreo. Y a toda la gente del ILPLA que de una manera u otra siempre están para lo que necesites.

A **Florencia Rojas Molina** y a **Diana Alberto** por los muestreos compartidos sobre el Paraná. Y al Laboratorio de Bentos y técnicos de **INALI** que me brindaron todo su conocimiento y apoyo durante los muestreos.

A la **Universidad Nacional de La Plata** y a la **Facultad de Ciencias Naturales y Museo** por mi formación de posgrado.

Al **Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas** por haberme otorgado una beca para la realización de este trabajo.

Al **Instituto de Limnología "Dr. Raúl A. Ringuelet"** por el espacio físico y los recursos que me facilitaron todo el trabajo de esta tesis

A todos, muchas gracias.

INDICE

RESUMEN	04
ABSTRACT	08
LISTA DE TABLAS	12
LISTA DE FIGURAS	13
CAPÍTULO 1- INTRODUCCIÓN GENERAL	
1.1. CONTAMINACIÓN	17
1.2. MACROINVERTEBRADOS COMO INDICADORES	20
1.3. CHIRONOMIDAE COMO INDICADORES	22
1.4. FACTORES QUE CONTROLAN LA FENOLOGÍA Y EL VOLTINISMO DE CHIRONOMIDAE	25
1.5. TÉCNICA DE EXUVIAS PUPALES DE CHIRONOMIDAE	27
1.6. OBJETIVOS E HIPÓTESIS	29
CAPÍTULO 2- MATERIALES Y MÉTODOS	
2.1. ÁREA DE ESTUDIO	31
2.1.1. Ecorregión Pampeana	31
Clima	31
Vegetación	31
Hidrología Superficial	33
2.2. METODOLOGÍA	35
2.2.1. Diseño muestral y selección de sitios	35
2.2.2. Técnica de Exuvias Pupales de Chironomidae	60
Recolección de muestras en campo	60
Separación de exuvias pupales en laboratorio	60
Montaje e identificación de las exuvias pupales de Chironomidae	61
2.3. ANÁLISIS DE DATOS	63
2.3.1. Atributos estructurales del ensamble	63
2.3.2. Análisis específicos	64
CAPÍTULO 3- DIVERSIDAD, FENOLOGÍA Y VOLTINISMO DE CHIRONOMIDAE.	
3.1. INTRODUCCIÓN	66
3.2. MATERIALES Y METODOS	67
3.2.1- Área de estudio y Diseño de campo	67
3.2.2. Análisis de datos	69
<i>Análisis del ensamble y su relación con las variables ambientales</i>	69

<i>Análisis fenológico y voltinismo</i>	70
3.3. RESULTADOS	71
3.3.1- Análisis del ensamble y su relación con las variables ambientales	71
3.3.2. Análisis fenológico y voltinismo	78
3.4. DISCUSIÓN	83
3.4.1- Análisis del ensamble de Chironomidae	83
3.4.2. Fenología y voltinismo de Chironomidae	84
CAPÍTULO 4- BIOINDICACIÓN	
4.1. INTRODUCCIÓN	91
4.2. MATERIALES Y MÉTODOS	93
4.2.1. Área de estudio	93
4.2.2. Muestreo de exuvias pupales	94
4.2.3. Análisis de datos	94
4.3. RESULTADOS	98
4.4. DISCUSIÓN	119
CAPÍTULO 5- CLAVE DE EXUVIAS PUPALES DE CHIRONOMIDAE DE LA REGIÓN TRIBUTARIOS DEL RÍO PARANÁ Y RÍO DE LA PLATA	
5.1. INTRODUCCION	127
5.2. ALCANCE DE LA CLAVE	127
5.3. COMO USAR ESTA CLAVE	128
5.4. MORFOLOGÍA	128
5.5. GLOSARIO	131
5.6. LISTA DE ESPECIES/MORFOTIPOS DE EXUVIAS DE CHIRONOMIDAE	134
5.7. CLAVE DE LAS SUBFAMILIAS DE CHIRONOMIDAE	136
5.7.1. Subfamilia Tanypodinae	137
5.7.2. Subfamilia Orthocladiinae	144
5.7.3. Subfamilia Chironominae	149
CAPÍTULO 6- CONCLUSIONES	161
PERSPECTIVAS FUTURAS	165
CAPÍTULO 7- BIBLIOGRAFÍA	166
ANEXO	189

RESUMEN

La familia Chironomidae (Diptera) es utilizada como indicador de calidad del agua, con géneros considerados sensibles y géneros tolerantes a la contaminación, capaces de habitar sitios contaminados y anóxicos. Una faceta importante del ciclo de vida de Chironomidae es la programación temporal de las actividades reproductivas en las cuales el voltinismo y la fenología son características muy importantes que se ven afectadas por factores ambientales, en particular el clima. Hacia la última etapa del ciclo de vida de los quironómidos, cuando el adulto emerge de la pupa, deja liberado en el agua su tegumento denominado exuvia. La presencia de aire dentro de la exuvia pupal permite que permanezca flotando en la superficie del agua, luego por acción del viento y/o de las corrientes, éstas concentran en áreas de remansos o en la vegetación ribereña. La recolección de dichas exuvias de forma sistemática se denomina "Técnica de Exuvias Pupales de Chironomidae" (Chironomid Pupal Exuviae Technique- CPET). Dicha técnica permite recolectar taxones que se han originado en una amplia gama de microhábitats, la recolección y procesamiento de muestras es más eficientes, comparado con el muestreo de larvas, y se logra una mayor resolución taxonómica hasta el nivel de especie. El objetivo general de esta tesis es conocer la variación espacial y temporal de los atributos estructurales del ensamble de Chironomidae en arroyos pampásicos mediante el empleo de la Técnica de Exuvias Pupales de Chironomidae (CPET) para definir patrones de emergencia y su valor como indicadores de la calidad ambiental. Los objetivos específicos de esta investigación son: 1) determinar la estructura del ensamble de Chironomidae en arroyos pampásicos, 2) establecer patrones de emergencia para las diferentes especies en relación con las variables ambientales, 3) definir patrones de distribución de Chironomidae y caracterizar a los ambientes con relación a los taxones dominantes y a sus características fisicoquímicas, 4) determinar los posibles ensambles de exuvias pupales de Chironomidae como indicadores de calidad de agua y 5) elaborar una clave de identificación de exuvias pupales de Chironomidae para arroyos pampásicos.

En base a los objetivos anteriormente propuestos se postulan las siguientes hipótesis: H₁: Los patrones de emergencia de las especies de Chironomidae presentan diferencias temporales con relación a las variables ambientales, H₂: la aplicación de la Técnica de Exuvias Pupales de Chironomidae constituye una herramienta eficiente para

evaluar la calidad de aguas de los arroyos pampásicos a partir de ensambles característicos y H₃: el uso de suelo urbano homogeneiza los ensambles de Chironomidae en arroyos pampásicos, generando la disminución de la diversidad y la dominancia de los taxones tolerantes. El trabajo de tesis se llevó a cabo en arroyos pertenecientes a la región Tributarios del río Paraná y Río de la Plata. Para la realización del estudio fenológico, se muestrearon mensualmente cuatro arroyos durante un año. Para el análisis de bioindicación se seleccionaron dos arroyos control y dos arroyos con uso urbano, y se realizó un muestreo estacional durante dos años. Si bien los ríos y arroyos de la provincia de Buenos Aires presentan un alto grado de modificación debido al uso de la tierra, los arroyos elegidos como control presentan una mínima perturbación. En cada sitio de muestreo, se recolectó todo el material suspendido en las orillas del arroyo mediante una red D de 25 cm de diámetro y 250 µm de abertura de malla. En cada sitio se tomaron tres muestras a lo largo de un transecto de 30 m². El material recolectado se conservó con etanol al 70%. En todos los sitios de muestreo se relevaron los parámetros fisicoquímicos e hidráulicos. En laboratorio se realizó la separación, montaje e identificación de las exuvias al menor nivel taxonómico posible, mediante el uso de claves correspondientes. A partir de los datos obtenidos se calcularon atributos estructurales del ensamble como la densidad, riqueza, diversidad y equitatividad. Para el análisis de diversidad, fenología y voltinismo, se realizaron análisis de la varianza y correlación de Spearman entre los atributos biológicos de las especies y las variables ambientales. Además, se utilizaron gráficos XY-plot y la densidad de kernel para determinar los picos de emergencia y el voltinismo de las especies. Como resultados más relevantes, se registraron un total de 36 géneros y 62 especies pertenecientes a las subfamilias Chironominae, Orthoclaadiinae y Tanypodinae. Los taxones dominantes fueron *Parachironomus* sp.2, *Polypedilum* sp.A y *Rheotanytarsus* sp.1, los cuales representaron el 53% del total de exuvias recolectadas. Las variables precipitación, fotoperíodo y temperatura del agua y del aire, se correlacionaron positivamente con las distintas métricas ecológicas de Chironominae y Tanypodinae, en tanto que Orthoclaadiinae se correlacionó negativamente con la temperatura del aire. El análisis fenológico reveló que durante marzo y abril se registró la mayor riqueza y densidad de especies emergentes de Orthoclaadiinae y Tanypodinae. Por otro lado, durante octubre, Chironominae presentó la mayor densidad de emergencia, pero con menor número de especies. A partir del análisis de los ciclos de vida, se observó que

la mayoría de las especies son univoltinas y en menor proporción bivoltinas y multivoltinas. Dentro de las especies univoltinas se identificaron 10 con bivoltinismo facultativo. Dentro de las especies bivoltinas, una resultó multivoltina facultativa. Las variables ambientales que estructuran la emergencia de Chironomidae en la región de estudio son principalmente las precipitaciones, el fotoperiodo y la temperatura del agua y aire, determinando la fenología y el voltinismo de las especies en el periodo analizado. Aunque aún se requieren más estudios, el CPET puede ser una valiosa herramienta para registrar las variaciones en los ciclos de vida de las especies como consecuencia de cambios en el ambiente, ya que, por ejemplo, un aumento en la temperatura favorecería el desarrollo de especies multivoltinas. En el estudio sobre bioindicación, se realizaron análisis de la varianza de los sitios y de las variables ambientales. Para la determinación de taxones indicadores se realizó un análisis IndVal y el análisis de curvas ROC para hallar valores de corte que permitieran identificar la respuesta a la perturbación. Además, para conocer la autoecología de las especies, se realizó el cálculo del óptimo y el rango de tolerancia para las variables ambientales. Como principales resultados, se contabilizó un total de 31 géneros y 54 especies pertenecientes a las subfamilias Chironominae, Orthocladiinae y Tanyptodinae. La riqueza total de especies osciló entre 1 y 19. La densidad en los arroyos menos impactados varió entre 0 y 156,51 exuvias.m⁻², con una dominancia de *Cricotopus* sp.2, *Parachironomus* sp.2 y *Rheotanytarsus* sp.1. En los arroyos urbanos la abundancia osciló entre 0 y 203,5 exuvias.m⁻², las especies predominantes fueron *Chironomus calligraphus* y *Cricotopus* sp.1, las cuales representan el 92% de la densidad. Para los arroyos con uso del suelo urbano, el arroyo Carnaval presentó los menores valores en cuanto a las variables fisicoquímicas, siendo similares a los arroyos de referencia. En cambio, el arroyo Rodríguez presentó los valores más altos de conductividad, pH, nutrientes, DBO₅ y DQO y se caracterizó por la presencia de *C. calligraphus*, *Cricotopus* sp.1 y *Dicrotendipes embalsensis*. El análisis IndVal identificó a *C. calligraphus* y *Cricotopus* sp.1 con un alto valor indicador $\geq 50\%$, y a *D. embalsensis* con un valor $\geq 25\%$. El arroyo Rodríguez está fuertemente impactado por el entorno urbano que lo rodea, lo que se refleja en su baja calidad del agua y como resultado tanto del aumento de iones en los efluentes como de la descomposición de la materia orgánica del área urbana. El IndVal nos muestra a *C. calligraphus*, *Cricotopus* sp.1 como especies indicadoras y a *D. embalsensis* como especie detectora de cambio del ensamble debido al uso del suelo urbano. Las larvas de

Chironomus presentan adaptaciones fisiológicas y morfológicas que les permiten habitar sitios con alto enriquecimiento orgánico causado por actividades humanas. De las tres especies de *Cricotopus* registradas, solo una especie estuvo presente en los sitios contaminados (*Cricotopus* sp.1). Este es uno de los géneros con mayor número de especies dentro de la subfamilia Orthoclaadiinae y se encuentra en hábitats con diferentes estados tróficos y niveles de impacto. Los resultados del presente trabajo de tesis doctoral permitieron ampliar la riqueza taxonómica para la región, y extender la distribución de géneros y especies. A partir de esta información se generó una clave de identificación de exuvias para el área. Por otra parte, las especies registradas fueron mayormente univoltinas y en menor proporción bi y multivoltinas; teniendo como factores determinantes a las precipitaciones, el fotoperiodo y la temperatura del agua y aire. El análisis fenológico y del voltinismo permitió conocer cómo varían los ciclos de vida de las especies la región Tributarios del Paraná y Río de la Plata, información que es fundamental para la interpretación de los resultados del análisis de bioindicación ya que muchas especies indicadoras emergen en diferentes estaciones del año. La aplicación de la CPET proporciona información acerca de cuáles serían los ensambles indicadores adecuados para evaluar la calidad de aguas en arroyos urbanos, permitiendo diferenciar los efectos de este uso sobre los sistemas acuáticos de la región Tributarios del río Paraná y Río de La Plata. Un mejor conocimiento autoecológico de las especies y una mejor resolución taxonómica reduce los problemas asociados a sacar conclusiones de resultados que incluyen taxones con tolerancias e historias de vida potencialmente diferentes. La calidad del agua es un factor importante que estructura a las comunidades de Chironomidae en los arroyos pampeanos. El conocimiento de los umbrales ecológicos y el alcance de los impactos humanos en los ambientes de agua dulce permitirá mejorar la aplicación de iniciativas de conservación adecuadas para la protección de la biodiversidad acuática neotropical. La aplicación de la CPET en arroyos de la región Tributarios del Paraná y Río de la Plata constituye una novedad y una herramienta potencial para ser utilizada en diferentes ambientes acuáticos de nuestro país. Es un primer aporte al conocimiento de base para futuras aplicaciones en biomonitoreo mediante el reconocimiento de asociaciones de especies de Chironomidae indicadoras de diferentes condiciones ambientales. Asimismo, los estudios realizados contribuyen al conocimiento taxonómico y ecológico de esta familia.

ABSTRACT

The family Chironomidae (Diptera) is used as an indicator of water quality, with genera considered sensitive and tolerant to pollution, capable of inhabiting contaminated and anoxic sites. An important aspect of the Chironomidae life cycle is the temporal scheduling of reproductive activities in which voltinism and phenology are very important features that are affected by environmental factors, particularly climate. Towards the last stage of the chironomid life cycle, when the adult emerges from the pupa, it releases its integument called exuvia into the water. The presence of air inside the pupal exuvia allows it to remain floating on the surface of the water, then due to the action of the wind and/or currents, they concentrate in backwater areas or in riparian vegetation. The systematic collection of these exuviae is called the Chironomidae Pupal Exuviae Technique (CPET). This technique allows the collection of taxa that have originated in a wide range of microhabitats, the collection and processing of samples is more efficient, compared to the sampling of larvae, and a higher taxonomic resolution is achieved down to the species level. The general objective of this thesis is to know the spatial and temporal variation of the structural attributes of the Chironomidae assemblage in Pampean streams using the Chironomidae Pupal Exuviae Technique (CPET) to define patterns of emergence and their value as indicators of environmental quality. The specific objectives of this research are: 1) to determine the structure of the Chironomidae assemblage in Pampean streams, 2) to establish emergence patterns for the different species in relation to environmental variables, 3) to define distribution patterns of Chironomidae and characterize the environments in relation to the dominant taxa and their physicochemical characteristics, 4) to determine the possible assemblages of pupal exuviae of Chironomidae as indicators of water quality and 5) to elaborate an identification key of pupal exuviae of Chironomidae for Pampean streams. Based on the previously proposed objectives, the following hypotheses are postulated: H1: The emergence patterns of the Chironomidae species present temporary differences in relation to the environmental variables, H2: the application of the Chironomidae Pupal Exuviae Technique constitutes an efficient tool to evaluate the water quality of Pampean streams from characteristic assemblages and H3: the urban land use homogenizes the assemblages of Chironomidae in Pampean streams, generating a decrease in the diversity and dominance of tolerant taxa. The thesis work was

carried out in streams belonging to the region Tributaries of Paraná and Río de la Plata rivers. To carry out the phenological study, four streams were sampled monthly for a year. For the bioindication analysis, two control streams and two streams with urban use were selected, and a seasonal sampling was carried out for two years. Although the rivers and streams of Buenos Aires province present a high degree of modification due to land use, the streams chosen as control present a minimum disturbance. At each sampling site, all suspended material on the banks of the stream was collected using a D-net with a diameter of 25 cm and a mesh size of 250 μm . At each site three samples were taken along a 30 m^2 transect. The collected material was preserved in 70% ethanol. Physicochemical and hydraulic parameters were surveyed at all sampling sites. In the laboratory, the separation, mounting and identification of the exuviae were carried out at the lowest possible taxonomic level, using corresponding keys. From the data obtained, structural attributes of the ensemble were calculated such as density, richness, diversity and evenness. For the analysis of diversity, phenology and voltinism, analyzes of variance and Spearman's correlation were performed between the biological attributes of the species and the environmental variables. In addition, XY-plot graphs and Kernel density were used to determine the emergence peaks and voltinism of the species. As most relevant results, a total of 36 genera and 62 species belonging to the Chironominae, Orthocladiinae and Tanypodinae subfamilies were recorded. The dominant taxa were *Parachironomus* sp.2, *Polypedilum* sp.A and *Rheotanytarsus* sp.1, which represented 53% of the total exuviae collected. The variables precipitation, photoperiod and water and air temperature were positively correlated with the different ecological metrics of Chironominae and Tanypodinae, while Orthocladiinae was negatively correlated with air temperature. The phenological analysis revealed that the highest richness and density of emerging species of Orthocladiinae and Tanypodinae were recorded during March and April. On the other hand, during October, Chironominae presented the highest emergence density, but with the lowest number of species. From the analysis of the life cycles, it was observed that most of the species are univoltine and to a lesser extent bivoltine and multivoltine. Within the univoltine species, 10 of them with facultative bivoltinism were identified. Within the bivoltine species, one was facultative multivoltine. The environmental variables that structure the emergence of Chironomidae in the study region are mainly rainfall, photoperiod, and water and air temperature, determining the phenology and voltinism of

the species in the analyzed period. Although more studies are still required, the CPET can be a valuable tool to record variations in the life cycles of species because of changes in the environment, since, for example, an increase in temperature would favor the development of species multivoltines. In the study of bioindication, analyzes of variance of the sites and environmental variables were carried out. For the determination of indicator taxa, an IndVal analysis and ROC curve analysis were performed to find cut-off values that would allow identifying the response to disturbance. In addition, to know the autoecology of the species, the calculation of the optimum and the tolerance range for the environmental variables was carried out. As main results, a total of 31 genera and 54 species belonging to the Chironominae, Orthoclaadiinae and Tanypodinae subfamilies were recorded. The total species richness ranged between 1 and 19. The density in the less impacted streams varied between 0 and 156.51 exuvias.m⁻², with a dominance of *Cricotopus* sp.2, *Parachironomus* sp.2 and *Rheotanytarsus* sp.1. In urban streams, the abundance ranged between 0 and 203.5 exuvias.m⁻², the predominant species were *Chironomus calligraphus* and *Cricotopus* sp.1, which represent 92% of the density. For the streams with urban land use, the Carnaval stream presented the lowest values in terms of physicochemical variables, being like the reference streams. On the other hand, the Rodríguez stream presented the highest values of conductivity, pH, nutrients, BOD5 and COD and was characterized by the presence of *C. calligraphus*, *Cricotopus* sp.1 and *Dicrotendipes embalsensis*. IndVal analysis identified *C. calligraphus* and *Cricotopus* sp.1 with a high indicator value of $\geq 50\%$, and *D. embalsensis* with a value of $\geq 25\%$. The Rodríguez stream is strongly impacted by the urban environment that surrounds it, which is reflected in its low water quality and as a result of both the increase in ions in the effluents and the decomposition of organic matter in the urban area. The IndVal shows *C. calligraphus* and *Cricotopus* sp.1 as indicator species, and *D. embalsensis* as a species that detects changes in the ensemble due to urban land use. *Chironomus* larvae present physiological and morphological adaptations that allow them to inhabit sites with high organic enrichment caused by human activities. Of the three *Cricotopus* species recorded, only one species was present in the contaminated sites (*Cricotopus* sp.1). This is one of the genera with the largest number of species within the Orthoclaadiinae subfamily and is found in habitats with different trophic states and impact levels. The results of this doctoral thesis allowed to expand the taxonomic richness for the region and extend the distribution

of genera and species. From this information, an exuvia identification key was generated for the area. On the other hand, the recorded species were mostly univoltine and to a lesser extent bi and multivoltine; having as determining factors the precipitations, the photoperiod and the temperature of the water and air. The phenological and voltinism analysis allowed to know how the life cycles of the species vary in the region Tributaries of Paraná and Río de la Plata rivers, information that is fundamental for the interpretation of the results of the bioindication analysis since many indicator species emerge in different seasons of the year. The application of the CPET provides information about which would be the appropriate indicator assemblies to evaluate the quality of water in urban streams, allowing to differentiate the effects of this use on the aquatic systems of the region Tributaries of Paraná r and Rio de La Plata rivers. Better autoecological knowledge of species and better taxonomic resolution reduce the problems associated with drawing conclusions from results that include taxa with potentially different tolerances and life histories. Water quality is an important factor that structures Chironomidae communities in Pampean streams. Knowledge of ecological thresholds and the extent of human impacts on freshwater environments will improve the application of appropriate conservation initiatives for the protection of Neotropical aquatic biodiversity. The application of the CPET in streams of the region Tributaries of Paraná and Rio de la Plata rivers constitutes a novelty and a potential tool to be used in different aquatic environments of our country. It is a first contribution to the knowledge for future applications in biomonitoring through the recognition of associations of Chironomidae species that are indicators of different environmental conditions. Likewise, the studies carried out contribute to the taxonomic and ecological knowledge of this family.

LISTA DE TABLAS

Tabla 3.1. Valores medios (mín.-máx.) de los parámetros físicos y químicos registrados en los sitios muestreados.	74
Tabla 3.2. Resultados de ANOVA simple sobre las variables fisicoquímicas e hidráulicas de los arroyos en estudio. Se presentan en negrita los valores de p significativos ($p \leq 0.05$)	75
Tabla 3.3. Resultados del análisis de Kruskal-Wallis sobre las variables fisicoquímicas e hidráulicas de los arroyos en estudio. Se presentan en negrita los valores de p significativos ($p \leq 0,05$).	75
Tabla 3.4. Valores de R y valor p (entre paréntesis) de las comparaciones pareadas por ANOSIM entre los distintos arroyos mediante el índice de Bray-Curtis.	76
Tabla 3.5. Correlación de Spearman estadísticamente significativa ($p \leq 0,05$) entre subfamilias de quironómidos y variables ambientales	77
Tabla 3.6. Voltinismo de las especies de Chironomidae (Diptera) recolectados en arroyos pampeanos de la región Tributarios del río Paraná y del Río de La Plata.	81
Tabla 4.1. Lista sistemática de Chironomidae recolectados en arroyos pampeanos, ubicados al NE de la provincia de Buenos Aires, estacionalmente durante el periodo 2016-2018. Los valores corresponden a la densidad media de exuvias (N° exuvias.m ⁻²) recolectadas en cada tramo de los arroyos. Se incluyen abreviaturas utilizadas en las tablas y figuras.	99
Tabla 4.2. Resultados del análisis de Kruskal-Wallis sobre los atributos estructurales de las especies de Chironomidae registradas en los arroyos en estudio. H : estadístico de la prueba de Kruskal-Wallis. gl : grados de libertad. Se presentan en color rojo los valores de p significativos ($p \leq 0,05$).	102
Tabla 4.3. Valores medios (máx.-mín.) de los parámetros fisicoquímicos e hidráulicos registrados en los sitios de estudios muestreados estacionalmente durante el periodo 2016-2018 en los arroyos en estudio.	103
Tabla 4.4. Resultados del análisis de Kruskal-Wallis sobre las variables fisicoquímicas e hidráulicas de los arroyos en estudio durante el periodo 2016-2018. H : estadístico de la prueba de Kruskal-Wallis. gl : grados de libertad. Se presentan en color rojo los valores de p significativos ($p \leq 0,05$).	104
Tabla 4.5. Análisis de especies indicadoras de Chironomidae de los arroyos de referencia (G1) vs arroyos con uso urbano (G2) de la región Tributarios de los ríos Paraná y Río de la Plata. Los acrónimos de las especies se encuentran en la tabla 5.1	108

Tabla 4.6. Resultados de los análisis ROC a nivel de familia, subfamilia y especie de Chironomidae de la región Tributarios de los ríos Paraná y Río de la Plata. 108

Anexo 1. Análisis de voltinismo de las especies de Chironomidae la región Tributarios de los ríos Paraná y Río de la Plata. Ejemplos de los criterios utilizados para clasificar el tipo de voltinismo, utilizando los gráficos XY.plot (izquierda) y de estimación de densidad de Kernel (derecha). 189

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1. Ciclo de vida de Chironomidae 23

Figura 2.1. Ríos de la provincia de Buenos Aires: **1.** Sistema del río Salado y sus afluentes; **2.** Sistema del arroyo Vallimanca; **3.** Tributarios del río Paraná y Río de la Plata; **4.** Tributarios directos del océano Atlántico (Tomado de FRENGUELLI, 1956) 33

Figura 2.2. Resumen del diseño de muestreo realizado en campo durante el período de estudio. 35

Figura 2.3. Localización del área de estudio en la región Pampeana. Arroyos estudiados y sus sitios de muestreo. Mapa de la Provincia de Buenos Aires indicando las áreas de los sistemas fluviales propuestos por FRENGUELLI, 1956: **3.** Tributarios del río Paraná y Río de la Plata: **C:** A° Carnaval, **R:** A° Rodríguez, **P:** A° El Pescado, **CJ:** A° Cajaravilla, **TB:** A° Tubichamini, **BÑ:** A° Buñirigo, **JB:** A° Juan Blanco. 37

Figura 2.4. Arroyo Rodríguez (R1). Vistas río arriba (A) y río abajo (B) del tramo de muestreo. Agosto de 2017 40

Figura 2.5. Arroyo Rodríguez 2 (R2). Vistas río arriba (A) y río abajo (B) del tramo de muestreo. Agosto de 2017 41

Figura 2.6. Arroyo Rodríguez 3 (R3). Vistas río arriba (A) y río abajo (B) del tramo de muestreo. Agosto de 2017 42

Figura 2.7. Arroyo Carnaval 1 (C1). Vistas río arriba (A) y río abajo (B) del tramo de muestreo. Agosto de 2017. 44

Figura 2.8. Arroyo Carnaval 2 (C2). Vistas río arriba (A) y río abajo (B) del tramo de muestreo. Agosto de 2017. 45

Figura 2.9. Arroyo Carnaval 3 (C3). Vistas río arriba (A) y río abajo (B) del tramo de muestreo. Agosto de 2017. 46

Figura 2.10. Arroyo Pescado 1 (P1). Vistas río arriba (A) y río abajo (B) del tramo de muestreo. Agosto de 2017.	48
Figura 2.11. Arroyo El Pescado 2 (P2). Vistas río arriba (A) y río abajo (B) del tramo de muestreo. Agosto de 2017.	49
Figura 2.12. Arroyo Cajaravilla. Vistas río arriba (A) y río abajo (B) del tramo de muestreo. Agosto de 2017.	51
Figura 2.13. Arroyo Tubichamini. Vistas río arriba (A) y río abajo (B) del tramo de muestreo. Agosto de 2017.	53
Figura 2.14. Arroyo Buñirigo. Vistas río arriba (A) y río abajo (B) del tramo de muestreo. Agosto de 2017.	55
Figura 2.15. Arroyo Juan Blanco 1 (JB1). Vistas río arriba (A) y río abajo (B) del tramo de muestreo. Agosto de 2017.	57
Figura 2.16. Arroyo Juan Blanco 2 (JB2). Vistas río arriba (A) y río abajo (B) del tramo de muestreo. Agosto de 2017.	58
Figura 2.17. Arroyo Juan Blanco 3 (JB3). Vistas río arriba (A) y río abajo (B) del tramo de muestreo. Agosto de 2017.	59
Figura 2.18. Secuencia de pasos para el montaje de la exuvia pupal disectada. (A) Cefalotórax y abdomen de exuvia pupal en vista dorsal. (B) Exuvia pupal diseccionada (cefalotórax y abdomen en vista dorsal). (C) Exuvia pupal diseccionada y orientada (cefalotórax: vista ventral; abdomen: vista dorsal).	62
Figura 3.1. Mapa de la provincia de Buenos Aires indicando los puntos de muestreos. P: A° El Pescado, CJ: A° Cajaravilla, TB: A° Tubichamini, BÑ: A° Buñirigo, JB: A° Juan Blanco.	68
Figura 3.2. Diagrama de burbujas de la densidad de las especies de Chironominae, Orthocladiinae y Tanypodinae recolectadas en los sitios de muestreo. Cada burbuja representa la densidad absoluta de exuvias pupales para el total de los sitios por fecha. Se incluyen abreviaturas utilizadas en las tablas y figuras.	73
Figura 3.3. Scatter plot 2D del Análisis nMDS para los cinco arroyos del NE pampeano. Cada punto representa a una réplica por fecha de muestreo. Se incluyeron las envolturas convexas (polígono mínimo que incluye un conjunto de puntos) para cada grupo con el fin de mejorar la apreciación de los grupos. Valor de <i>Stress</i> : 0.1976.	76
Figura 3.4. Variación mensual de la densidad y riqueza específica acumulada del ensamble de Chironomidae en los arroyos en estudio	79

Figura 3.5. Variación mensual de la densidad y riqueza específica acumulada de las subfamilias de Chironomidae. A: Chironominae, B: Orthoclaadiinae y C: Tanypodinae.	80
Figura 4.1. Mapa de la provincia de Buenos Aires indicando los puntos de muestreos. Arroyos de referencia (verde): P: A° El Pescado, CJ: A° Cajaravilla (tributario de A° El Pescado), JB: A° Juan Blanco.. Arroyos con uso Urbano (rojo): C: A° Carnaval, R: A° Rodríguez.	94
Figura 4.2. Biplot mostrando la distribución de los sitios (A) y de las especies (B) con respecto a las variables fisicoquímicas e hidráulicas. Los puntos corresponden a una réplica, para una mejor lectura del gráfico se resumieron las etiquetas a nivel del tramo del arroyo. Los acrónimos de las especies y variables se encuentran en la tabla 5.1 y 5.3 respectivamente.	106
Figura 4.3. Análisis de conglomerados jerárquicos utilizando el método de Ward para las diferentes especies de Chironomidae. Se distinguen tres grupos: G1, G2 y G3. Los acrónimos de las especies se encuentran en la tabla 5.1.	107
Figura 4.4. Curvas ROC para riqueza a nivel de familia (A) y subfamilia: B: Chironominae; C: Orthoclaadiinae; D: Tanypodinae (curva no informativa). El valor indicado en cada gráfico se refiere al punto de corte de riqueza para separar los sitios contaminados de los no contaminados. Entre paréntesis se dan los intervalos de confianza de la curva.	109
Figura 4.5. Curvas ROC para los siguientes géneros y especies (datos de densidad expresado como N° exuvias.m ⁻²). A: <i>Chironomus calligraphus</i> ; B: género <i>Dicrotendipes</i> ; C: <i>Dicrotendipes embalsensis</i> ; D: género <i>Cricotopus</i> ; E: <i>Cricotopus</i> sp.1.	110
Figura 4.6. Valores óptimos (circulo verde) y rangos de tolerancia (min-max; círculos rojos) de las especies de Chironomidae con respecto a las variables físicas y químicas de los arroyos de la región Tributarios de los ríos Paraná y Río de la Plata.	113
Figura 5.1. Morfología del cefalotórax de la exuvia pupal de Chironomidae.	129
Figura 5.2. Morfología del cuerno torácico de la exuvia pupal de Chironomidae, y tipos de cuernos torácicos.	130
Figura 5.3. Morfología del abdomen de la exuvia pupal de Chironomidae- vista dorsal	130

CAPÍTULO 1:



1.1. CONTAMINACIÓN

La humanidad ha estado desde siempre íntimamente ligada a los ríos a partir de que numerosas poblaciones, ciudades, e incluso regiones se han organizado a lo largo de los cursos fluviales. A menudo, para su propio beneficio, el ser humano ha provocado cambios accidentales o intencionales en los ríos y arroyos. Los usos sobre el río incluyen el abastecimiento de agua para consumo o para regadío, la navegación, la pesca y la obtención de energía hidroeléctrica (ELOSEGI & SABATER, 2009). Los sistemas fluviales han sido desde el inicio de la civilización receptores finales de contaminantes antropogénicos, en una época en que los avances tecnológicos parecían mucho más importantes que los daños ambientales que pudieran producirse (CAZENAVE *et al.*, 2000). La mayor capacidad tecnológica ha magnificado los cambios que ha producido la humanidad, originando nuevas formas de contaminación como plaguicidas sintéticos, disruptores endocrinos y productos farmacéuticos (ELOSEGI & SABATER, 2009).

Debido a su organización longitudinal, los sistemas fluviales tienen una gran interacción con los ecosistemas terrestres vecinos, de manera que son afectados por diversas fuentes de contaminación en relación con el uso de la tierra en sus cuencas (MARGALEF, 1983). Las modificaciones realizadas en cualquier punto de estos cursos de agua tienen implicancias en lo que ocurre río abajo y pueden comprometer la funcionalidad de los ecosistemas (NORRIS *et al.*, 2007). Como resultado de las actividades antrópicas, la calidad del agua de estos cursos se ha degradado. Por ello, estas actividades a escala de paisaje son una de las amenazas más importantes a la integridad ecológica de los ecosistemas fluviales, impactando en el hábitat, la calidad del agua y la biota a través de diferentes vías (STRAYER *et al.*, 2003; TOWNSEND *et al.*, 2003).

Las principales fuentes de contaminación acuática se encuentran generalmente agrupadas en dos categorías basadas en su origen. Por un lado, la contaminación puntual ocurre cuando sustancias nocivas se emiten directamente a un cuerpo de agua. Por otro lado, la contaminación difusa, que es el efecto acumulado de pequeños aportes del contaminante provenientes de un área de drenado grande. La contribución de cada uno de estos tipos de contaminación puede variar en cada cuenca, dependiendo de la densidad poblacional y del uso de la tierra (RAND, 1995; CARPENTER *et al.*, 1998).

Los cambios en el uso de la tierra se manifiestan a escalas temporales cortas y a niveles locales o regionales, y se relacionan directamente con un origen antropogénico (WATSON *et al.*, 2000). Existen numerosos estudios que documentan el impacto de los distintos usos del suelo sobre la integridad biótica de sistemas acuáticos (ALLAN, 2004; CLAPCOTT *et al.*, 2012). Entre los usos del suelo más extendidos se encuentran el agrícola, el ganadero, el urbano, el industrial, el forestal, el extractivo (minería) y el recreativo, muchos de los cuales generalmente toman lugar en las proximidades de un cuerpo de agua (HURTADO *et al.*, 2006).

La agricultura afecta a los ensamblajes acuáticos, lo que resulta en la desaparición o disminución de la abundancia de taxones sensibles (SOLIS *et al.*, 2019; ARIAS *et al.*, 2020). Se ha encontrado que el uso de la tierra agrícola aumenta las concentraciones de nutrientes (MUGNI *et al.*, 2013) y la eutrofización de los cursos de agua afectados por la horticultura (FRIBERG-JENSEN *et al.*, 2003; RELYEA, 2004). Además, aquellos arroyos que atraviesan zonas con uso intensivo del suelo sin franja de atenuación incorporan pesticidas por escorrentía acentuando el impacto agrícola (SOLIS *et al.*, 2018).

En todo el mundo, se usan productos farmacéuticos veterinarios en grandes cantidades para tratar ganado vacuno (TOLLS, 2001). Los residuos en las heces del ganado después de la inoculación muestran actividad insecticida, con efectos sobre la supervivencia, reproducción y desarrollo de artrópodos terrestres no objetivo (STEEL & WARDHAUGH, 2002). La excreción directa del ganado tratado en cuerpos de agua o en tierras que posteriormente se inundan representan las rutas más importantes de entrada de estas sustancias al agua dulce (KÖVECSÉS & MARCOGLIESE, 2005). MESA *et al.* (2017, 2018) estudiaron la toxicidad de fármacos veterinarios en estiércol fresco sobre invertebrados representativos del sistema de planicie aluvial del río Paraná. Los resultados de estos trabajos mostraron que los fármacos en el estiércol son tóxicos para los invertebrados acuáticos y, asimismo, se acumulan y persisten en sedimentos y macrófitas acuáticas. La acumulación de estas sustancias en macroinvertebrados acuáticos es preocupante porque estos organismos cumplen un papel clave en las redes alimentarias, posicionadas entre comunidades microbianas y los niveles tróficos más altos, con consecuencias para diferentes funciones del ecosistema (MESA *et al.*, 2020).

En ríos y arroyos urbanos, los contaminantes que ingresan son muy variados en naturaleza y origen. Entre los más frecuentes se hallan altas concentraciones de nutrientes, la presencia de metales pesados, hidrocarburos y otros compuestos derivados de la actividad industrial llevada a cabo en áreas urbanas (TAEBI & DROSTRE, 2004). Asimismo, las aguas servidas y efluentes cloacales aportan grandes cantidades de materia orgánica y bacterias a las aguas superficiales e incluso pueden contener contaminantes derivados de productos farmacéuticos y de cuidado personal (BESSE & GARRIC, 2009; SODRÉ *et al.*, 2010). Los aportes de contaminantes urbanos hacia flujos de aguas naturales provienen tanto de fuentes difusas, mediante la escorrentía superficial de las aguas pluviales, como de fuentes puntuales mediante desagües cloacales y efluentes industriales (BEASLEY & KNEALE, 2002; BLAKELY & HARDING, 2005; PAVÉ & MARCHESE, 2005; VOELZ *et al.*, 2005). Ello incorpora al ambiente una alta carga de nutrientes, desechos orgánicos y compuestos químicos, cuya degradación es crítica para la calidad del agua de los ambientes dulceacuícolas (PAVÉ & MARCHESE, 2005).

El constante crecimiento demográfico ha conducido a una expansión del uso urbano del suelo en detrimento de áreas naturales, lo cual trae aparejadas diferentes consecuencias sobre los cuerpos de agua dulce superficiales (COTTINGHAM *et al.*, 2004). El “*síndrome de arroyo urbano*”, es definido como el conjunto de cambios detectados en distintos niveles (hidrológico, geomorfológico, químico y biológico) y sus consecuencias sobre los componentes bióticos. El mismo enumera cambios como el aumento en el escurrimiento superficial y flujo erosivo, aumento de la concentración de nutrientes y de sustancias tóxicas, cambios en el ancho y profundidad del canal y aumento de taxones tolerantes en detrimento de los taxones sensibles (WALSH *et al.*, 2005).

La llanura pampeana representa un 87% del total de la provincia de Buenos Aires (GÓMEZ & LICURSI, 2001), esta provincia contiene la mayor densidad demográfica del país y como resultado de la intensa actividad humana, sus ambientes acuáticos se encuentran en su mayoría fuertemente impactados (RODRIGUES CAPÍTULO *et al.*, 2002).

En los arroyos pampeanos tanto el biofilm como las macrófitas acuáticas poseen un importante desarrollo y constituyen recursos importantes para las comunidades acuáticas de macroinvertebrados (RODRIGUES CAPÍTULO *et al.*, 2002; LICURSI & GÓMEZ, 2003; GÓMEZ *et*

al., 2011). Estos recursos también proporcionan energía acumulada en forma de materia orgánica (ALLAN, 1995). Además, estos arroyos presentan niveles más altos de nutrientes en comparación con los niveles registrados para arroyos con bosques de ribera (BINKLEY *et al.*, 2004). Según FEIJOÓ & LOMBARDO (2007) estos niveles estarían relacionados, en el caso del fósforo, con el origen sedimentario de la región y en cuanto al nitrógeno con la agricultura intensiva.

El deterioro de los ecosistemas acuáticos se refleja en el empobrecimiento de la fauna y en cambios en las propiedades físicas y químicas del agua. Con el aumento de las poblaciones y actividades humanas crece el grado de alteración de los ecosistemas y se ve amenazada su sustentabilidad (ZURLINI & GIRARDIN, 2008). La evaluación de calidad fisicoquímica del agua no siempre refleja el estado del recurso hídrico ya que indica las condiciones en un momento puntual. En este contexto, el biomonitoreo constituye una herramienta fundamental que complementa los estudios fisicoquímicos tradicionales, permitiendo analizar tendencias a través del tiempo y del espacio, y detectar toxicidad acumulativa o crónica. Asimismo, contar con análisis a mayores niveles de organización biológica, tales como la medición de atributos poblacionales y comunitarios pueden permitir la evaluación de efectos crónicos (MARKERT *et al.*, 2003). Los análisis que involucran cambios a nivel comunitario permiten reconocer asimismo las diferencias estructurales e inferir los consecuentes cambios en el funcionamiento de los ecosistemas.

La estructura y función de las comunidades bióticas están controladas por varios factores que incluyen: el régimen de caudal, la energía del recurso, la calidad del agua, las interacciones bióticas y la estructura del hábitat. Teniendo en cuenta estas características y su estrecha relación, la biota resulta un excelente indicador ambiental en tiempo y espacio de un ecosistema. Por lo tanto, permite conocer el pasado y presente de la calidad ecológica de un río y posibilita a partir de modelos predecir estados futuros (RODRIGUES CAPÍTULO, 1999).

1.2. MACROINVERTEBRADOS COMO INDICADORES

Entre los diferentes grupos de organismos que se han utilizado en el biomonitoreo, los macroinvertebrados bentónicos constituyen una de las comunidades más sensibles a las

alteraciones ambientales. Estos son muy utilizados debido a que, en primer lugar, son muy ubicuos y en consecuencia se ven afectados por perturbaciones en muchos tipos diferentes de hábitats acuáticos. En segundo lugar, hay una gran cantidad de especies que exhiben una variedad de respuestas al estrés ambiental. Aquellas formas no tolerantes o de tolerancia intermedia, en general mueren cuando las condiciones del medio se tornan limitantes. Tercero, su naturaleza sedentaria (o la salida repentina de la misma) tiende a ilustrar la extensión espacial de un problema. Finalmente, sus ciclos de vida relativamente largos, permite examinar en el tiempo su presencia y abundancia como respuestas naturales a la calidad de agua (ROSENBERG *et al.*, 2008).

Parámetros como la riqueza y diversidad de los macroinvertebrados bentónicos han sido utilizados de manera creciente en el estudio de la degradación de la integridad ecológica, mediante la adaptación de índices bióticos para monitorear cambios físicos y químicos en la calidad del agua (BARBOUR *et al.*, 1999; CORIGLIANO, 1999; MISERENDINO, 2001; RODRIGUES CAPÍTULO *et al.*, 2001, 2002; OCÓN & RODRIGUES CAPÍTULO, 2004; GÓMEZ *et al.*, 2008). No obstante, cuando sólo se tienen en cuenta este tipo de parámetros, no se logra un entendimiento global del ecosistema. En la actualidad y de modo cada vez más frecuente se están realizando estudios en los cuales se incorporan parámetros funcionales, como la diversidad y riqueza funcional, que proporcionarían una visión integral del efecto de las actividades humanas sobre los sistemas acuáticos (PASCOE *et al.*, 2000; GRAÇA *et al.*, 2002; FELLOWS *et al.*, 2003, DE LANGE *et al.*, 2004).

La presencia continua de insectos acuáticos en un hábitat determinado depende de su capacidad para sobrevivir a la calidad del agua y las condiciones del hábitat del ambiente acuático presente allí. Las perturbaciones en el ambiente acuático pueden estar dadas tanto por deficiencias de determinados parámetros (tales como la concentración de oxígeno) como por exceso en la concentración de ciertas sustancias, sean naturales (ej: materia orgánica) o no (ej: pesticidas, concentración de nutrientes, entre otros) como consecuencia de la acción humana. Sin embargo, aunque la mayoría de las especies de insectos acuáticos reaccionan negativamente a la mayor parte de los contaminantes, hay algunas especies que pueden sobrevivir. Como resultado, la respuesta característica a la contaminación es que las especies intolerantes disminuyen, las especies tolerantes

aumentan con el tiempo, y la distribución de las especies y la composición de la comunidad cambian (RESH & ROSENBERG, 2008).

Es importante mencionar que, si las condiciones de calidad del agua no se ven afectadas por el agregado de contaminantes, pero la calidad del hábitat se modifica (por ejemplo, se elimina la vegetación ribereña), la composición de los insectos acuáticos cambiará. Por supuesto, el hábitat y la calidad del agua están relacionados; un cambio en la estabilidad de la ribera dará como resultado un aumento de la sedimentación y los consiguientes cambios en la calidad del agua causados por los sedimentos suspendidos (RESH & ROSENBERG, 2008).

1.3. CHIRONOMIDAE COMO INDICADORES

La familia Chironomidae (Diptera), comúnmente conocidos como mosquitos que no pican, son insectos holometábolos cuyos estados inmaduros son acuáticos. Es uno de los taxones más importantes de macroinvertebrados debido a su gran abundancia, diversidad y distribución en la mayoría de los ecosistemas de agua dulce (CRANSTON, 1995), constituyendo así un componente fundamental del ambiente fluvial (MARZIALI *et al.*, 2006). Las larvas, pupas y adultos de quironómidos forman una parte integral de las redes tróficas, constituyendo la dieta de otros invertebrados, peces, anfibios y aves (EPLER, 2001).

El ciclo vital de los quironómidos comprende cuatro estados de duración desigual (Fig. 1.1): huevo, larva, pupa y adulto (o imago). El ciclo comienza con la puesta de huevos en el agua o en la vegetación sumergida. Una vez que eclosiona la larva, en este estado se suelen distinguir cuatro estadios, el primero es planctónico, en él tiene lugar la dispersión en el agua y es a menudo difícil de muestrear. Los estadios posteriores son por lo general bentónicos. Las larvas bentónicas viven en sedimentos finos o en rocas y materiales intersticiales del fondo de los ambientes acuáticos. Hacia el final del cuarto estadio, la larva se adhiere con secreciones de seda a los sustratos circundantes y la región torácica comienza a expandirse, lo que indica el comienzo del estado de pupa. Una vez formada, la pupa suele permanecer oculta en el sustrato hasta que completa su desarrollo y cuando recibe los estímulos adecuados, nada hacia la superficie del agua, donde luego emerge el

adulto. En la etapa adulta tienen lugar las funciones de reproducción y dispersión aérea (COFFMAN & FERRINGTON, 1996; CASADELLA, 2007). Cuando el adulto en desarrollo madura y emerge, se libera el tegumento de la pupa o exuvia pupal. La exuvia se llena de aire y en virtud de una capa cerosa externa de la cutícula (con propiedades no humectables) permanece flotando en la superficie del agua hasta que las bacterias comienzan a descomponer esta capa de cera. Las exuvias flotantes en deriva se concentran por las corrientes en áreas de remolinos o puntos donde la vegetación ribereña o árboles caídos entran en contacto con la superficie del agua.

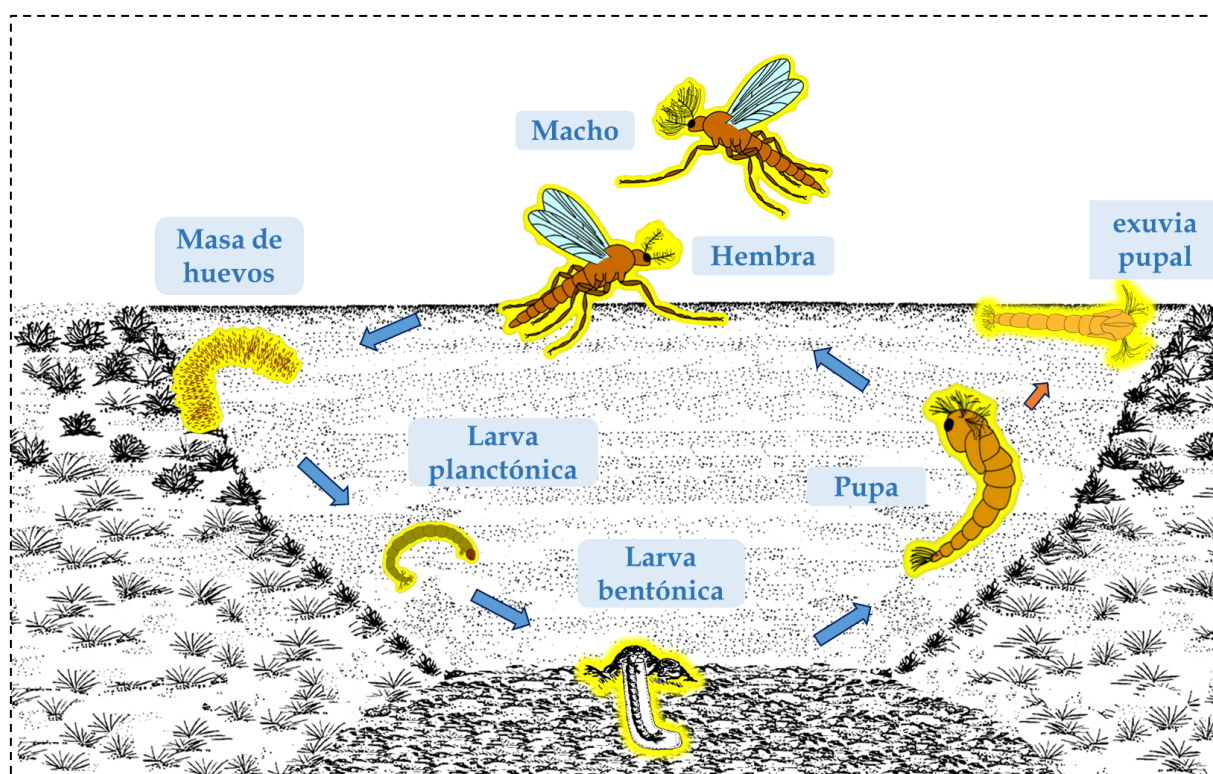


Figura 1.1. Ciclo de vida de Chironomidae

Esta familia es muy diversa, con aproximadamente 5000 especies descritas en todo el mundo; sin embargo, se estima que existen hasta 20000 especies (FERRINGTON, 2008). En este sentido, los quironómidos representan por lo general, aproximadamente el 50% de la composición de macroinvertebrados en los ambientes fluviales (COFFMAN & FERRINGTON, 1996; ARMITAGE *et al.*, 1995; FERRINGTON *et al.*, 2008). A pesar de la importancia del grupo y del considerable número de estudios que se han realizado en las últimas décadas en el campo de la Limnología en América de Sur y particularmente en Argentina (AÑÓN SUÁREZ, 2002; BOCOLINI *et al.*, 2005; MONTALTO & PAGGI, 2006; GARCÍA & AÑÓN SUÁREZ, 2007; TEJERINA

& MOLINERI, 2007; MEDINA *et al.*, 2008; MONTALTO, 2008; PRÍNCIPE *et al.*, 2008; SCHEIBLER *et al.*, 2008; ZILLI *et al.*, 2008; 2009; MONTALTO *et al.*, 2012; ZILLI & PAGGI, 2013; ZANOTTO ARPELLINO *et al.*, 2015; MAUAD *et al.*, 2017) aun resulta insuficiente la información acerca de su ecología y específicamente sobre aspectos de la autoecología de las especies de Chironomidae (REISS, 1977; PAGGI, 1998; MARCHESE Y PAGGI, 2004).

Los quironómidos albergan un gran número de especies sensibles indicadoras de ambientes bien conservados (HOSE *et al.*, 2007; SIMIÃO-FERREIRA *et al.*, 2009; OLIVEIRA *et al.*, 2010; MEZGEBU *et al.*, 2019). Por otro lado, poseen una amplia gama de tolerancia a diversas perturbaciones como el enriquecimiento de nutrientes orgánicos (HELSON *et al.*, 2006; TANG *et al.*, 2009; ROQUE *et al.*, 2010; MEZGEBU *et al.*, 2019), la presencia de metales pesados (DIGGINS, 2000), drenaje de minas ácidas (HEINO *et al.*, 2003) y compuestos orgánicos tóxicos (WRIGHT *et al.*, 1996). Además, son esenciales en la tipificación de los hábitats acuáticos (BOCCOLINI *et al.*, 2005; CALLE-MARTÍNEZ & CASAS, 2006; MARZIALI *et al.*, 2006; FERRINGTON *et al.*, 2008; MARZIALI *et al.*, 2009; CORTELEZZI *et al.*, 2011; LENCIONI *et al.*, 2012; NICACIO & JUE, 2015; CORTESE *et al.*, 2019; CORTELEZZI *et al.*, 2020). La robustez de las respuestas de quironómidos a los cambios en el ambiente acuático permiten su uso para el monitoreo de los mismos (ROSENBERG, 1992; PAGGI, 1999; RAUNIO & MOUTKA, 2005).

Diferentes autores describen cambios en las comunidades de quironómidos causados por polución orgánica (WILSON, 1987; FERRINGTON & CRISP, 1989; KOWNACKI, 1989 y RAE, 1989). En este sentido, FERRINGTON & CRISP (1989) registraron que los sitios más impactados por enriquecimiento orgánico están dominados por Chironomini. Las zonas de recuperación también están dominadas por Chironomini, pero incluyen varias especies de Tanypodinae. Orthoclaadiinae y Tanytarsini predominan en los sitios con las mejores condiciones de calidad del agua. Además, concluyen que la composición porcentual es un mejor predictor de la calidad del agua que la riqueza específica. Por otro lado, RAE (1989) demostró que los organismos pertenecientes a un género de quironómido pueden estar asociados con un conjunto particular de condiciones de química del agua, tal es el caso de *Dicrotendipes* que se asocia con altas concentraciones de nitrato y turbidez y *Cricotopus* que domina en aguas con enriquecimiento orgánico.

A pesar de la amplia gama de respuestas a los gradientes ambientales y de ser una fracción importante de los macrozoobentos en la mayoría de los sistemas de agua dulce, las bioevaluaciones de los sistemas limnológicos utilizan una resolución taxonómica a nivel de familia o subfamilia para representar los ensamblajes de quironómidos debido principalmente a desafíos taxonómicos (ROSENBERG, 1992; COFFMAN, 1995; HAWKINS & NORRIS, 2000).

1.4. FACTORES QUE CONTROLAN LA FENOLOGÍA Y EL VOLTINISMO DE CHIRONOMIDAE

Como se mencionó anteriormente, debido a la falta de identificación a nivel de especie se cuenta con escasa información sobre la autoecología de las especies de quironómidos o una comprensión integral de los factores que influyen en su distribución, fenología y dinámica comunitaria.

Entre los insectos acuáticos, el momento de la emergencia está determinado en gran medida por señales exógenas y endógenas y limitaciones ambientales que operan sobre la larva y la pupa (BJØRNSTAD & GRENFELL, 2001). Los factores que contribuyen a esta variabilidad operan a diferentes escalas, que van desde factores a nivel regional como el clima y la geología (LYTLE, 2001) hasta factores del nivel del hábitat que actúan sobre taxones individuales (ARMITAGE *et al.*, 1995; PECKARSKY *et al.*, 2001). En general, se considera que el desarrollo de los quironómidos está determinado en gran medida por la temperatura y la nutrición (BERG & HELLENTHAL 1992, TOKESHI, 1995). Sin embargo, hay muchos otros factores (fotoperíodo, contaminación) que pueden influir potencialmente en las tasas y el tiempo de desarrollo, aunque generalmente no se evalúan porque se considera que tienen un impacto mínimo en las poblaciones naturales. Como resultado, la mayoría de las investigaciones sobre las historias de vida de los quironómidos no han abordado estos factores.

La fenología es el estudio de la relación entre la variación temporal de los fenómenos biológicos y los factores ambientales, en particular el clima (SCOTT & EPSTEIN, 1987). Por otro, es fundamental para comprender la dinámica de la comunidad (STILES, 1977; WILLIAMS *et al.*, 1999). Además, en el contexto del cambio climático global, los estudios

fenológicos han recibido mayor atención, ya que existe evidencia de que las fluctuaciones climáticas afectan los procesos ecológicos y poblacionales (STENSETH *et al.*, 2002).

Varios taxones de insectos acuáticos muestran patrones de emergencia claramente impulsados por condiciones ambientales específicas (RESH & ROSENBERG, 1984). CORBET (1964) postuló que la latitud, o su variable más relacionada, la temperatura, tiene una influencia restrictiva sobre el período de emergencia. El fotoperíodo es importante porque los insectos responden a pequeños cambios en los niveles de luz y se ha considerado una señal informativa para las especies en arroyos en los cuales la temperatura no varía según la estación (SAUNDERS, 1976; RESH & ROSENBERG, 1984). La lluvia es otra variable que se considera importante, ya que puede aumentar el flujo de agua durante la estación húmeda, lo que a menudo resulta en una variación temporal en las comunidades de invertebrados (TOWNSEND *et al.*, 1987).

Otros factores importantes que pueden influir en la tasa de desarrollo incluyen el oxígeno disuelto, las características del sustrato, la intermitencia del hábitat, la contaminación y las interacciones bióticas. Todos estos factores influyen en las tasas de desarrollo al afectar los procesos enzimáticos, hormonales o moleculares, que a su vez afectan la tasa de asimilación de energía y la duración que se requiere para obtener la energía suficiente para producir un adulto capaz de reproducirse. El desarrollo de los insectos acuáticos y, por lo tanto, el tiempo de emergencia, está limitado por una combinación de la tasa de asimilación de energía y los costos metabólicos (JOHANNSSON, 1980). Por lo tanto, el aumento de los tiempos de desarrollo está relacionado con una reducción de las condiciones óptimas o factores que reducen la asimilación de energía o aumentan los costos metabólicos. En condiciones severas, generalmente cuando las temperaturas superan los umbrales fisiológicos, el desarrollo se detendrá y la latencia ocurrirá hasta que las condiciones mejoren o se produzca la muerte del insecto.

Aunque la temperatura, la nutrición y muchos otros factores parecen afectar la emergencia de todos los taxones de quironómidos, la influencia de estos factores impacta de manera diferente a las especies y poblaciones. Todas estas variables interactúan como resultado de los diferentes requisitos y óptimos que son una función de las diferentes fisiologías y comportamientos observados en las muchas especies de la familia

Chironomidae. Por lo tanto, resulta necesaria una comprensión integral de las características de las especies de quironómidos, que incluya la forma en que las variables ambientales afectan las historias de vida de estos insectos, para comprender la ecología de los hábitats acuáticos y utilizar estas especies en las evaluaciones biológicas.

1.5. TÉCNICA DE EXUVIAS PUPALES DE CHIRONOMIDAE

La Técnica de Exuvias Pupales de Chironomidae (*Chironomid Pupal Exuviae Technique*, CPET), se viene aplicando desde hace mucho tiempo para recopilar información sobre distintos aspectos de las comunidades de quironómidos. El uso de CPET fue sugerido por primera vez por THIENEMANN (1910), y desde entonces una gran variedad de estudios utilizan a las exuvias para investigar la composición de la comunidad de Chironomidae (BRUNDIN, 1966; COFFMAN, 1973; KAVANAUGH & FERRINGTON, 1986; HARDWICK *et al.*, 1995; COFFMAN & DE LA ROSA, 1998; ANDERSON, 2007; GARCIA & AÑON SUAREZ, 2007; RAUNIO *et al.*, 2007a,b; BOUCHARD & FERRINGTON, 2009; ANDERSON & FERRINGTON, 2012; ANDERSON *et al.*, 2014; MESTRE *et al.*, 2018; entre otros) y para monitoreo de la calidad del agua superficial (MCGILL *et al.*, 1979; WILSON & MCGILL, 1979; WILSON & WILSON, 1984; WILSON, 1987; RAE, 1989; RAUNIO *et al.*, 2007b; RUSE, 2011). Además, la metodología se ha utilizado con éxito en estudios de fenología (COFFMAN, 1973, 1974; WARTINBEE & COFFMAN, 1976; WARTINBEE, 1979). De todos los trabajos que se han mencionado en los cuales se utilizó la CPET, sólo algunos de ellos se han desarrollado en el Neotrópico (COFFMAN *et al.*, 1992; COFFMAN & DE LA ROSA, 1998; GARCIA & AÑON SUAREZ, 2007; SIQUEIRA *et al.*, 2008; MESTRE *et al.*, 2018; SAULINO *et al.*, 2021).

En cuanto a la eficiencia de la técnica, algunos estudios han abordado diferentes aspectos del diseño de la muestra, el tamaño de la muestra y la cantidad de muestreos requeridos para lograr varios niveles de detección de especies o géneros (COFFMAN, 1973; WILSON & BRIGHT, 1973; WILSON, 1980; RUFER & FERRINGTON, 2008; ANDERSON & FERRINGTON, 2011; BOUCHARD & FERRINGTON, 2011). Estos autores han enumerado las ventajas de utilizar la CPET sobre las técnicas tradicionales, como el muestreo de larvas, que se resumen a continuación: **(1)** se produce una alteración mínima del hábitat en el área de muestreo; **(2)** la recolección y procesamiento de muestras son más eficientes y económicos; **(3)** la

identificación a nivel de género e incluso especie, suele ser relativamente sencilla utilizando las claves y descripciones apropiadas; **(4)** las exuvias acumuladas representan taxones que habitan en una amplia gama de microhábitats; **(5)** las colecciones de ejemplares de exuvias pupales permiten el registro de especímenes de Chironomidae que son todos de la misma clase de edad, evitando la posibilidad de definir incorrectamente las especies debido al polimorfismo relacionado con la edad; **(6)** finalmente, el método es aplicable en casi todos los ambientes acuáticos mediante la misma técnica, incluidos arroyos y ríos, estuarios, lagos y estanques, e independientemente del tipo de sustrato que habiten.

Algunas posibles limitaciones del método son: **(A)** la falta de claves específicas de la fauna regional lo que dificulta la identificación; **(B)** debido a que las exuvias pupales se desplazan aguas abajo por la acción de la velocidad de corriente, se debe tener en cuenta la distancia entre puntos de muestreos para poder identificar los efectos a analizar. La distancia va a depender en mayor o menor medida de la velocidad de corriente, el porcentaje de vegetación acuática y ribereña u otros impedimentos como troncos de árboles que hacen que sea poco probable que las exuvias viajen mucha distancia río abajo. También hay que analizar la disponibilidad de hábitat los cuales van a actuar como zonas de retención. **(C)** Otro punto a tener en cuenta es la temporalidad de los muestreos debido a que la permanencia de la exuvia en la superficie del agua depende de la acción bacteriana y fúngica que degrada la exuvia o su fragmentación debido a la turbulencia del agua (KAVANAUGH *et al.*, 2014). Por otro lado, es importante considerar la variación de la tasa de hundimiento en las respuestas a nivel de género o especie. COFFMAN (1973) observó que la descomposición fue más rápida en las exuvias con un menor grado de quitinización. Por el contrario, las exuvias de *Chironomus*, tardaron una semana en descomponerse. Las estimaciones de los tiempos de flotación varían de 0,5 a 2 horas en corrientes de montaña muy turbulentas, a 48 horas para exuvias de un arroyo de bosque caducifolio durante los meses de verano (BOUCHARD, 2007). En invierno, las exuvias pueden flotar por períodos más largos, tal vez hasta 7 días, pero probablemente estén fragmentadas debido a la abrasión física antes de que la descomposición bacteriana y fúngica tenga lugar.

1.6. OBJETIVOS E HIPÓTESIS

Para el desarrollo de este trabajo de tesis se plantearon los siguientes objetivos:

OBJETIVO GENERAL

Conocer la variación espacial y temporal de los atributos estructurales del ensamble de Chironomidae en arroyos pampásicos mediante el empleo de la Técnica de Exuvias Pupales de Chironomidae (CPET) para definir patrones de emergencia y su valor como indicadores de la calidad ambiental.

Objetivos específicos:

1. Determinar la estructura de los ensambles de Chironomidae en arroyos pampásicos.
2. Establecer patrones de emergencia para las diferentes especies en relación con las variables ambientales
3. Definir patrones de distribución de Chironomidae y caracterizar a los ambientes con relación a los taxones dominantes y a sus características fisicoquímicas.
4. Determinar los posibles ensambles de exuvias pupales de Chironomidae como indicadores de calidad de agua.
5. Elaborar una clave de identificación de exuvias pupales de Chironomidae para arroyos pampásicos.

En base a la temática expuesta y a los objetivos propuestos se postulan las siguientes **hipótesis:**

- **H₁:** Los patrones de emergencia de las especies de Chironomidae presentan diferencias temporales con relación a las variables ambientales.
- **H₂:** La aplicación de la Técnica de Exuvias Pupales de Chironomidae constituye una herramienta eficiente para evaluar la calidad de aguas de los arroyos pampásicos a partir de ensambles característicos.
- **H₃:** El uso de suelo urbano homogeneiza los ensambles de Chironomidae en arroyos pampásicos, generando la disminución de la diversidad y la dominancia de los taxones tolerantes.

CAPÍTULO 2:



2.1. ÁREA DE ESTUDIO

2.1.1. Ecorregión Pampeana.

La ecorregión Pampeana es una extensa llanura que abarca el este de Argentina, Uruguay y el sur de Brasil. Posee una superficie de 398.966 m² y ocupa las provincias de Entre Ríos, sudeste de Córdoba, sur de Santa Fe, nordeste de La Pampa y casi toda la provincia de Buenos Aires (MATTEUCCI, 2012). Posee pendiente reducida con solo una pequeña parte ocupada por sierras que escasamente superan los 500 m s.n.m. en el sistema serrano de Tandilia y los 1200 m s.n.m. en el sistema serrano de Ventania.

Clima

La provincia de Buenos Aires presenta un clima templado-húmedo. En todas las estaciones la humedad se mantiene en niveles altos alcanzando los mayores valores durante el invierno como consecuencia de las bajas temperaturas y los mínimos en los meses estivales (AABA, 2013). En la región las precipitaciones oscilan entre 700 y 1200 mm anuales. La distribución estacional de las lluvias es bastante regular, aunque se produce una disminución apreciable en invierno. Si bien no existe una estación húmeda, la mayor parte de las lluvias ocurren en primavera y verano. De acuerdo con los balances hídricos disponibles, el área no presenta déficit de agua en ningún momento del año (ANDRADE, 1986). La temperatura media anual es de 16,2 °C, siendo enero el mes más cálido, con una temperatura media de 22,8 °C y julio el mes más frío con una temperatura media de 9,9 °C. Predominan los vientos del E y secundariamente los del NE y NO (HURTADO *et al.*, 2006). Los eventos climáticos extremos se dan durante el periodo de El Niño, en el que ocurren lluvias torrenciales, y durante La Niña, en el que hay sequía.

Vegetación

La vegetación dominante es la estepa o pseudoestepa de gramíneas cespitosas anuales (pastizal pampeano) que forman matas de hasta 60 cm de altura, entre las cuales crecen numerosas especies herbáceas y algunos sufrútices y arbustos. Hay también numerosas comunidades edáficas, estepas halófilas, bosques marginales en las orillas de los ríos, formados por especies procedentes de la provincia Paranaense y bosques xerófilos

sobre las barrancas y bancos de conchilla. También hay numerosas comunidades hidrófilas (CABRERA, 1971; CABRERA & WILLINK, 1980). Las especies naturales de plantas perennes arbóreas están ausentes excepto por dos especies, *Celtis tala* Gillies ex Planch (Tala), y *Salix humboldtiana* Willd (Sauce), que se desarrollan en áreas con condiciones particulares, aunque también existen pequeñas áreas forestadas compuestas por especies introducidas (FEIJOÓ & LOMBARDO, 2007).

En los ambientes acuáticos, la presencia de densas y diversas matas de macrófitas sumergidas, flotantes y emergentes es variable (GIORGI *et al.*, 2005). Su cobertura es heterogénea y depende, entre otros factores, de la estación del año y de la ocurrencia de lluvias intensas.

En las márgenes de los arroyos se pueden encontrar plantas palustres como *Schoenoplectus californicus* (C.A.Mey.) Soják (junco), *Sagittaria montevidensis* Cham. & Schtdl., *Typha angustifolia* L. (tatora), *T. latifolia* L. (tatora), *Alternanthera philoxeroides* (Mart.) Griseb. (lagunilla), *Hydrocotyle bonariensis* Comm. ex Lam. o *H. ranunculoides* L.f. (redondita de agua). Entre la vegetación sumergida se registran caráceas, *Egeria densa* Planch (elodea), *Ceratophyllum demersum* L. (cola de zorro), *Myriophyllum* spp. y *Potamogeton* spp. En zonas de corriente muy lenta se pueden desarrollar temporariamente plantas flotantes como *Ricciocarpus natans* (L.) Corda (riciocarpo), *Azolla filiculoides* Lam. (helechito de agua), *Pistia stratiotes* L. (repollito de agua) y lemnáceas (lentejas de agua) pertenecientes a los géneros *Lemna* L., *Spirodella* Schl., *Wolffia* Horkel y *Wolffiella* Hegelm. Relacionadas a las márgenes de los arroyos o a sitios poco profundos se pueden encontrar macrófitas arraigadas como *Hydrocleys nymphoides* (Humb. & Bonpl. ex Willd.) Buchenau (amapola de agua), *Bacopa monnieri* (L.) Wettst. (bacopa) y *Ludwigia* spp. (cruz de Malta); las dos últimas tienen rizomas rastreros, pero durante épocas de aguas bajas se las puede hallar como flotantes no arraigadas (TUR, 1995). El desarrollo de distintos tipos de macrófitas promueve la generación de microhábitats que favorecen al establecimiento de comunidades de macroinvertebrados, brindándoles alimento y refugio (WÜRDIG *et al.*, 2007; GIORGI *et al.*, 2005).

Hidrología superficial

La provincia política de Buenos Aires ocupa el sector austral de los pastizales pampeanos, y sus ambientes lóticos fueron clasificados por FRENGUELLI (1956) según las características geológicas y morfológicas (Fig. 2.1). RINGUELET (1962) tipificó los arroyos de la provincia de Buenos Aires como una red hidrográfica en su estado elemental, con procesos de captación aún muy escasos y multiplicación de líneas de drenaje sin captadores de primer orden. Además, Ringuelet (*op. cit.*) incluyó en el esquema de FRENGUELLI (1956) las áreas endorreicas y los ríos alóctonos. Posteriormente, FEIJÓO & LOMBARDO (2007) caracterizaron esa regionalización con base en las características físicas y químicas del agua y determinaron que los sistemas propuestos por FRENGUELLI (1956) correspondían a ecorregiones.

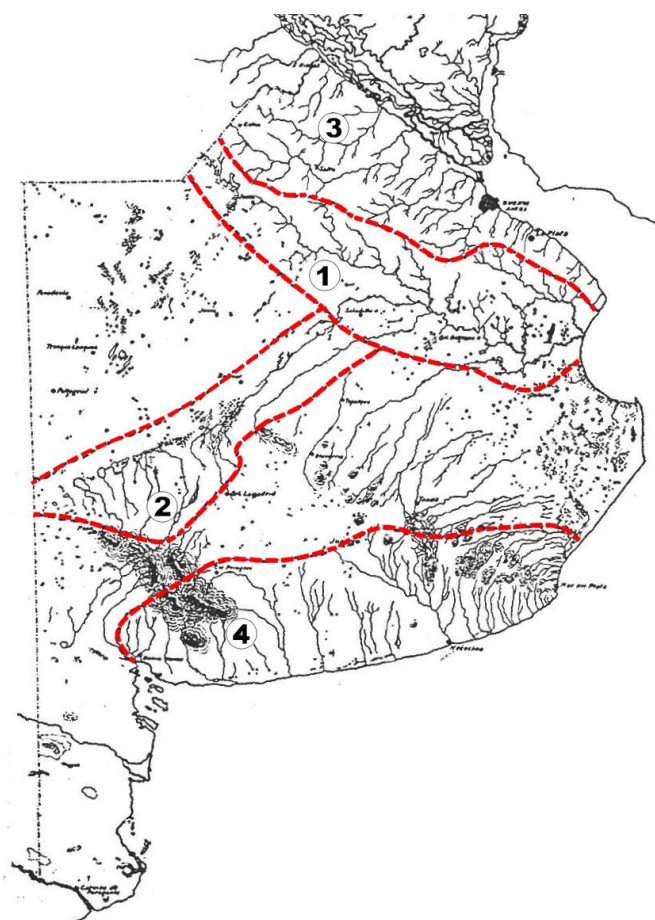


Figura 2.1. Ríos de la provincia de Buenos Aires: 1. Sistema del río Salado y sus afluentes; 2. Sistema del arroyo Vallimanca; 3. Tributarios del río Paraná y Río de la Plata; 4. Tributarios directos del océano Atlántico (Tomado de FRENGUELLI, 1956)

La red hidrográfica de la zona noreste es de diseño dendrítico y son auténticos arroyos de llanura, pues nacen y se desarrollan en ella. Las pendientes medias son del orden de 1 metro por kilómetro, provocando que la velocidad de corriente sea baja en toda la zona. En algunos tramos de los arroyos, la velocidad de corriente no se puede medir por ser imperceptible. La mayoría de los arroyos son de tipo perenne o permanente en los tramos inferiores de sus cuencas, por el aporte subterráneo, mientras que en algunos arroyos es sus tramos medios y altos se transforman en intermitentes en el período de menor concentración de precipitaciones, debido a que los cauces se ubican por encima de la superficie freática.

Se caracterizan por sus aguas con elevada conductividad (1000-6000 $\mu\text{S}/\text{cm}$), pH levemente alcalino y baja profundidad. Sin embargo, la mayoría de las variables físicas y químicas presentan un amplio rango de variación debido a la ocurrencia de inundaciones y cambios estacionales en el caudal. Por otra parte, se han registrado altos niveles de nutrientes en estos arroyos, aún en sitios con bajo o moderado uso para ganadería y agricultura (FEIJOÓ & LOMBARDO, 2007). Asimismo, se debe considerar que las zonas con erosión hídrica aportan concentraciones de nutrientes y sedimentos adicionales que también modifican la calidad del agua. Los altos niveles de nutrientes favorecen el desarrollo de densas comunidades de macrófitas, que pueden proveer fuentes de materia orgánica para los heterótrofos microbianos (GIORGI, 1998; ALLAN & CASTILLO, 2007). Las cubiertas de macrófitas y las altas concentraciones de sólidos en suspensión, provocan que en la mayoría de los arroyos la luz no alcance al sedimento. La concentración de los sólidos en suspensión suele incrementarse particularmente después de las lluvias.

Dentro de la región Pampeana se incluye gran parte de la provincia de Buenos Aires, que soporta una gran densidad demográfica (16 millones, representando el 39% de la población total del país) y concentra las mayores actividades industriales, agrícolas y ganaderas, junto con las utilidades más intensas de agroquímicos (INDEC, 2010). Es por ello que la mayor parte de los ríos y arroyos de la llanura son impactados por fuentes puntuales de contaminación provenientes de efluentes domésticos e industriales, como así también por fuentes difusas que se deben principalmente a la actividad agropecuaria (SALA

et al., 1998; GÓMEZ & RODRIGUES CAPÍTULO, 2001). Las poblaciones humanas y las industrias producen desechos que incorporan materia orgánica y diversas sustancias químicas a los sistemas fluviales. Las actividades agropecuarias aportan una carga de nutrientes y materia orgánica a los cursos de agua dependiendo de su intensidad.

2.2. METODOLOGÍA

2.2.1. Diseño muestral y selección de sitios

Previo a la toma de muestras se recopiló información de los ambientes y se realizó un muestreo preliminar para establecer el tiempo de muestreo y la longitud del tramo del arroyo a ser muestreada. En relación con los datos obtenidos se realizó el siguiente diseño para la toma de muestras:

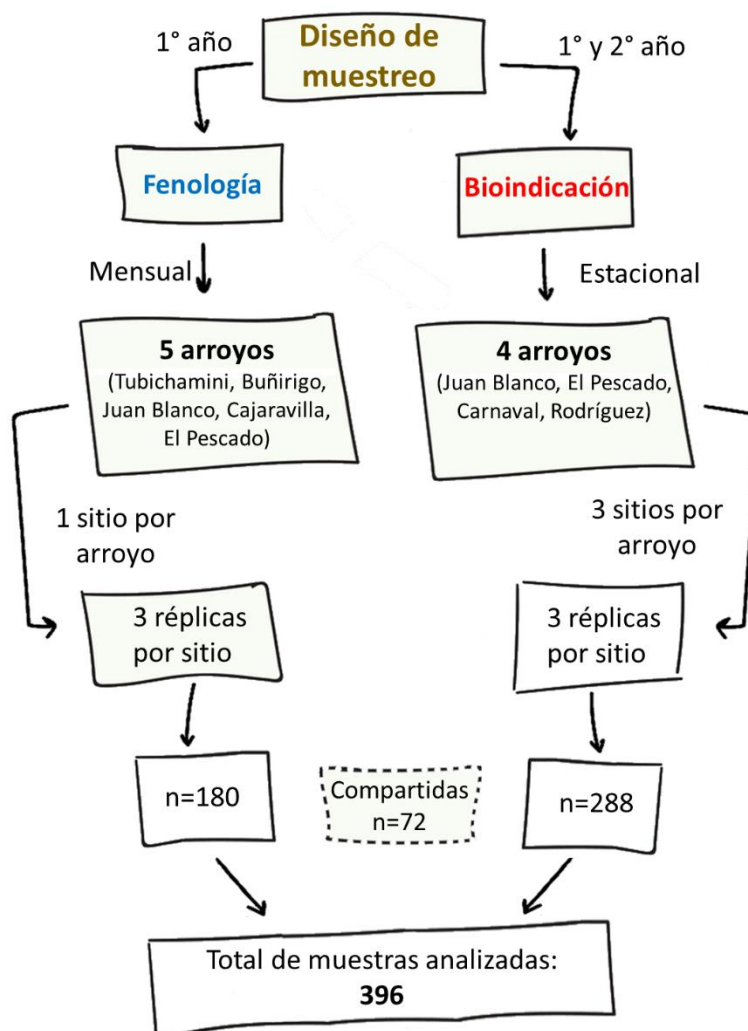


Figura 2.2. Resumen del diseño de muestreo realizado en campo durante el período de estudio.

Debido al alto grado de alteración de los ríos y arroyos de la provincia de Buenos Aires como consecuencia del uso de la tierra, no es posible encontrar sitios sin algún grado de impacto. Por tal motivo, se seleccionaron como control arroyos relativamente poco perturbados, siguiendo el criterio de HUGHES *et al.* (1986). Esto significa que los arroyos seleccionados no son prístinos (lo que implica la ausencia de impacto antrópico en el ecosistema), sino que muestran bajos niveles de perturbación y por lo tanto poseen variaciones en las características morfológicas, físicas y químicas.

Para el análisis fenológico presentado en el capítulo 3 se seleccionaron los siguientes arroyos: Juan Blanco, El pescado, Cajaravilla, Buñirigo y Tubichamini. Estos arroyos presentan un uso del suelo agrícola-ganadero moderado (una mínima intervención agrícola y baja carga de ganado vacuno) con predominio de pasturas naturales. Para el análisis de bioindicación, presentado en el capítulo 4, se seleccionaron como sitios de referencia los arroyos Juan Blanco y El Pescado debido a su bajo nivel de perturbación y los sitios seleccionados con un uso de suelo urbano fueron los arroyos Rodríguez y Carnaval.

Siguiendo los esquemas propuestos por FRENGUELLI (1956), los arroyos seleccionados en este estudio se ubican en la región Tributarios del río Paraná y Río de la Plata (Fig. 2.2)

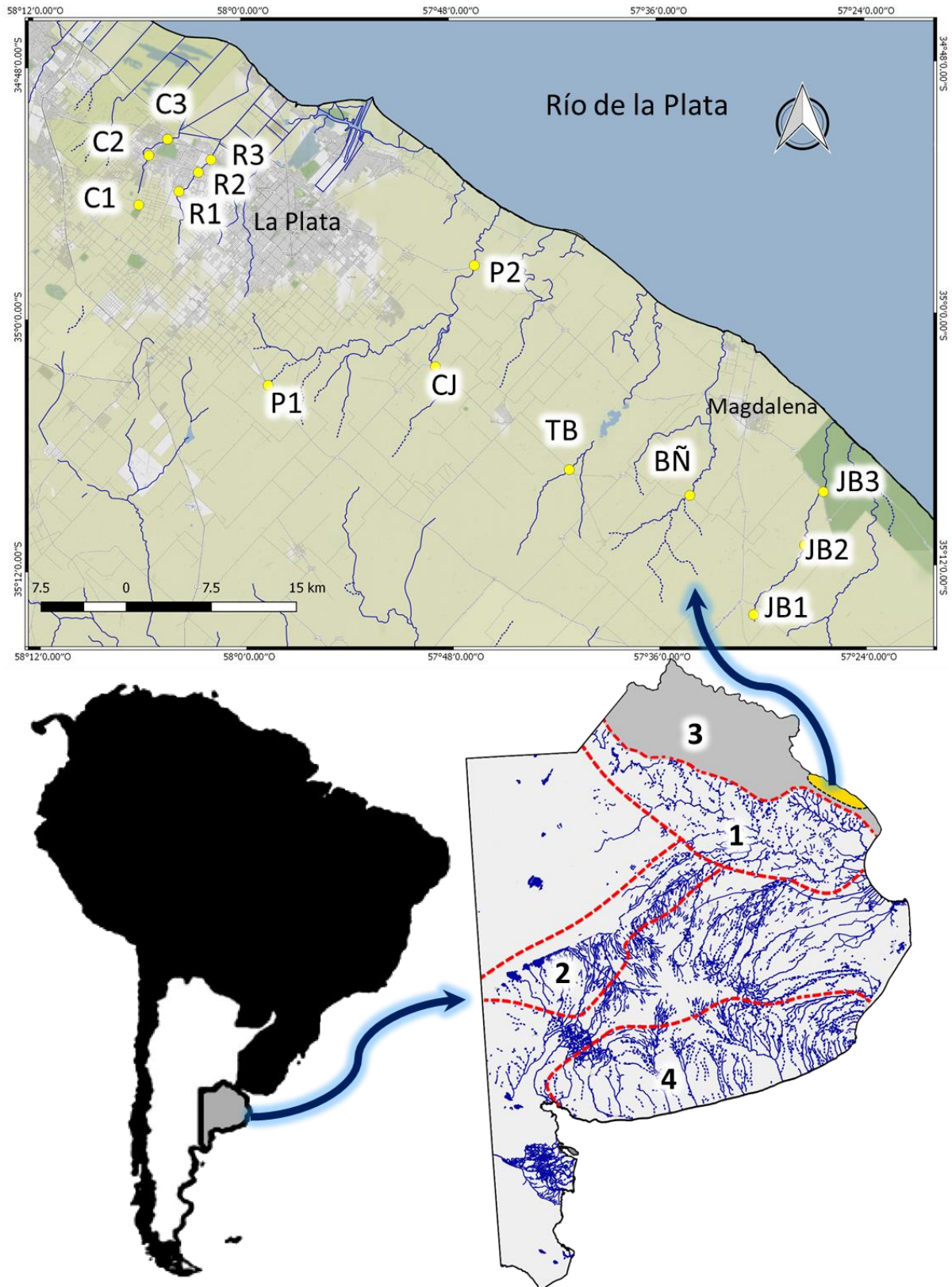


Figura 2.3. Localización del área de estudio en la región Pampeana. Arroyos estudiados y sus sitios de muestreo. Mapa de la Provincia de Buenos Aires indicando las áreas de los sistemas fluviales propuestos por FRENGUELLI, 1956: **3.** Tributarios del río Paraná y Río de la Plata: **C:** A° Carnaval, **R:** A° Rodríguez, **P:** A° El Pescado, **CJ:** A° Cajaravilla, **TB:** A° Tubichamini, **BÑ:** A° Buñirigo, **JB:** A° Juan Blanco.

Arroyo Rodríguez (R): la cuenca del arroyo Rodríguez se ubica entre los paralelos 34° 48 ' 58" y 34° 58 ' 39" latitud Sur y los meridianos 57° 58 26" y 58° 42 ' 41" de longitud Oeste. Su cabecera y su tramo medio se encuentran en la denominada llanura alta que atraviesa en su recorrido las localidades Melchor Romero, Colonia Urquiza, Gorina, Manuel B. Gonnet, City Bell y Villa Elisa y desembocando en el Río de la Plata a través del canal Villa Elisa (REMES LENICOV *et al.*, 2005). Según las cartas del Instituto Geográfico Nacional (I.G.N.), su cuenca tiene una superficie aproximada de 54 km² con un diseño alargado. Es un sistema lótico de 2º orden, con una longitud total de recorrido de 22 km (Hurtado *et al.*, 2006). Presenta un lecho limo-arenoso desde las cabeceras hasta su tramo medio-bajo en la localidad de City Bell. En esa zona el sedimento cambia, predominando el fango sapropélico (SAMPONS, 1989). Este curso de agua fue caracterizado por FERNÁNDEZ & SCHNACK (1977) como un ambiente de elevada turbidez, de escasa profundidad y corriente, y su caudal es modificado por las precipitaciones.

En las nacientes el arroyo atraviesa por zonas residenciales, cordón frutihortícola, además descargan sus efluentes líquidos en él barrios privados y una industria frigorífica. En el tramo medio e inferior atraviesa el centro urbano de la localidad de City Bell y Gonnet recibiendo numerosos efluentes domiciliarios.

Los sitios seleccionados en este arroyo son los siguientes:

- **R1** (34°53'57.9"S,58°03'39.9"O) (Fig. 2.3): presenta un ancho de 4 m aproximadamente y una profundidad media de 32 cm (17-55 cm), la velocidad de corriente en este tramo es de 0,5 cm.seg⁻¹. No presenta vegetación acuática flotante o sumergida. A pocos metros aguas arriba de este punto el arroyo transcurre dentro de los límites de un barrio privado, donde ha sufrido importantes modificaciones, ya que ha sido profundizado y modificado el recorrido natural mediante la construcción de un dique de contención para el embalsado de sus aguas con el fin de establecer un lago artificial que actúa favoreciendo la retención (BAUER *et al.*, 2002, LICURSI & GÓMEZ, 2009).

- **R2** (34°53'03.9"S,58°02'31.9"O) (Fig. 2.4): presenta una profundidad media de 25 cm y un ancho de 6,7 m. La velocidad de corriente varía de 0,14-0,29 cm.seg⁻¹. En esta sección al igual que el tramo anterior no presenta vegetación acuática flotante o sumergida.
- **R3** (34°52'28.3"S,58°01'47.5"O) (Fig. 2.5): en este tramo el ancho varía de 2,5 a 13 m, al igual que la profundidad (8-66 cm). Predomina una velocidad muy baja, de aproximadamente 0,12 cm.seg⁻¹. Presenta aproximadamente un 20% de cobertura de vegetación acuática, predominantemente por especies como *Sagittaria montevidensis*, *Hydrocleys nymphoides*, *Hydrocotyle* spp. En ciertas épocas del año, en esta sección se realizan actividades de desmalezado de la vegetación riparia y de dragado, eliminando por completo la vegetación acuática del tramo.

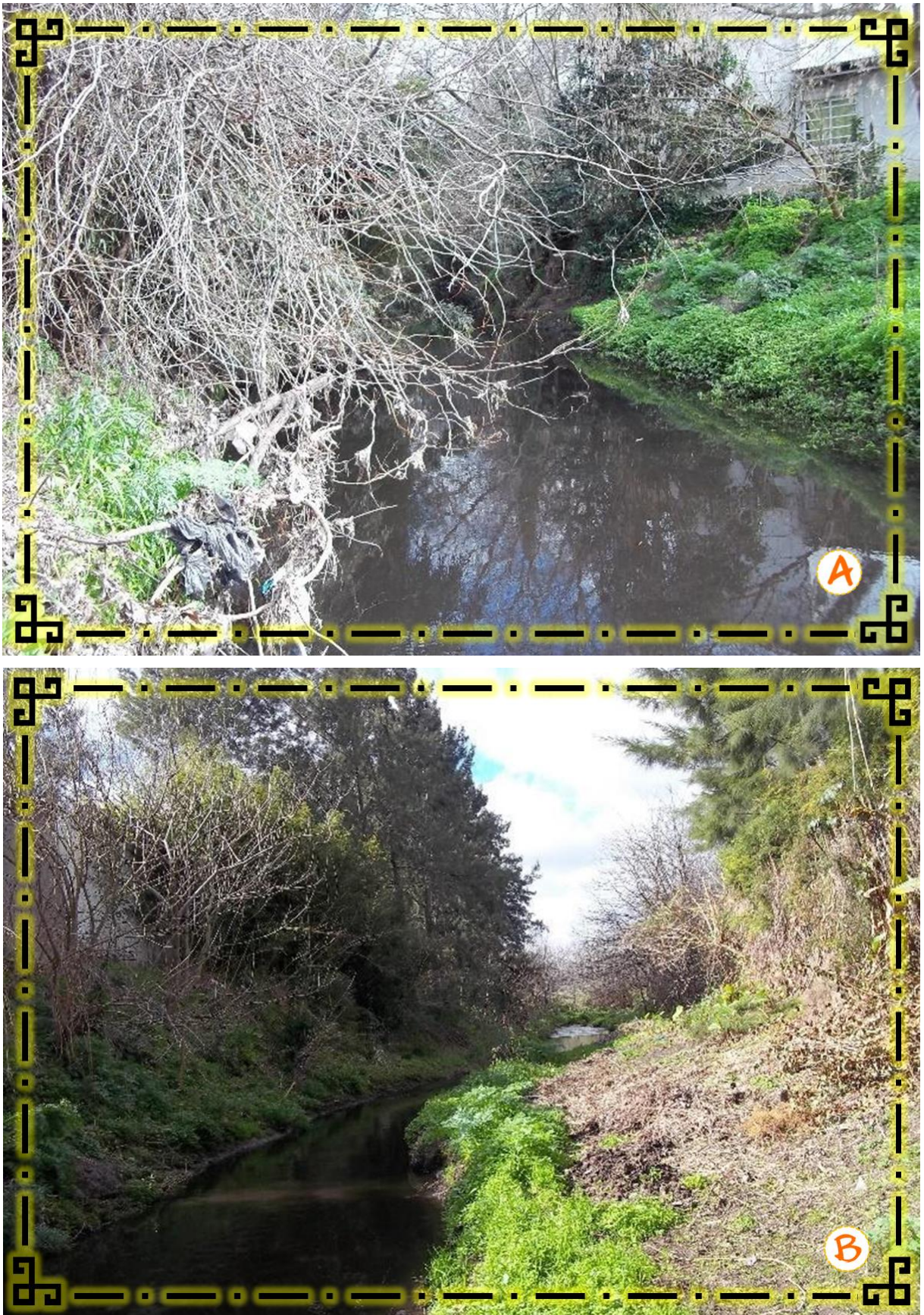


Figura 2.4. Arroyo Rodríguez (R1). Vistas río arriba (A) y río abajo (B) del tramo de muestreo. Agosto de 2017.



Figura 2.5. Arroyo Rodríguez (R2). Vistas río arriba (A) y río abajo (B) del tramo de muestreo. Agosto de 2017.

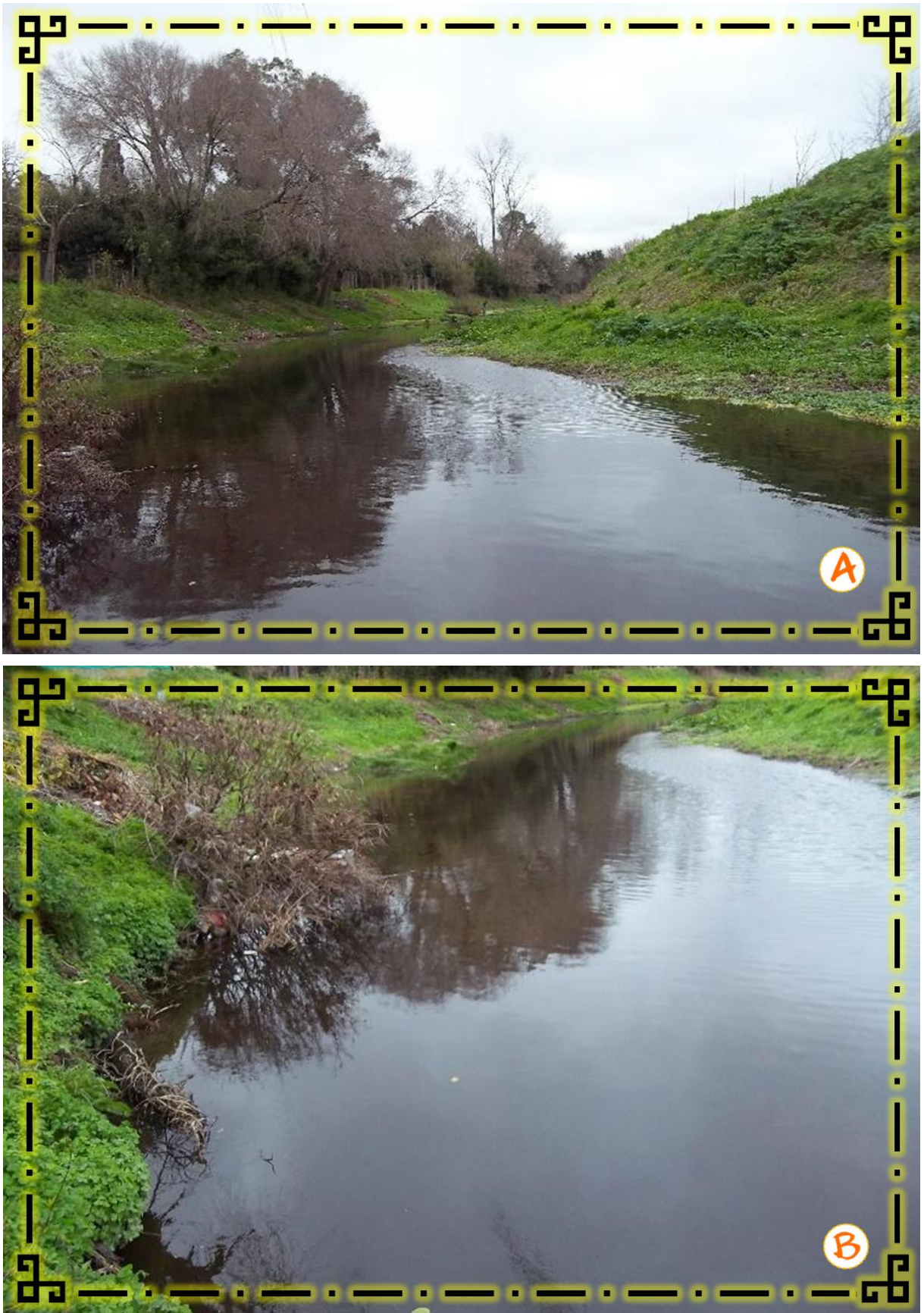


Figura 2.6. Arroyo Rodríguez (R3). Vistas río arriba (A) y río abajo (B) del tramo de muestreo. Agosto de 2017.

Arroyo Carnaval (C): la cuenca del arroyo Carnaval está delimitada naturalmente al noroeste por la divisoria de aguas con el arroyo Pereyra, al sureste por la divisoria de aguas con el arroyo Rodríguez. Posee una superficie total de 105 km² incluyendo el área ocupada por el arroyo Martín. En la parte alta y media de la cuenca la principal actividad es la agricultura (floricultura-horticultura) y la presencia de terrenos baldíos. En la cuenca baja se concentra la mayor densidad poblacional junto con algunas industrias (BANDA NORIEGA & RUIZ DE GALARRETA, 2002). Su zona de descarga, en la planicie costera, se haya canalizada a fin de que sus aguas desemboquen rápidamente hacia el Río de la Plata. Se establecieron tres puntos de muestreo y se caracterizan por:

- **C1** (34°54'35.3"S,58°06'00.0"O) (Fig. 2.6): este tramo del arroyo presenta un ancho medio de 1 m y una profundidad media de 17 cm, una velocidad media de 0,13 cm.seg⁻¹ y su porcentaje de cobertura vegetal varía de 0-60%. Las macrófitas presentes son *Stuckenia striata* (Ruiz & Pav.) Holub, *Hydrocleys nymphoides*, *Iris pseudacorus* L., *Tradescantia fluminensis* Vell., *Sagittaria montevidensis*, *Echinodorus grandiflorus* (Cham. et Schldl.) Micheli.
- **C2** (34°52'14.1"S,58°05'23.2"O) (Fig. 2.7): en esta sección el arroyo presenta un ancho de 3 m y una profundidad de 50-70 cm. La velocidad media es muy baja (0,13 cm.seg⁻¹). Las especies vegetales presentes son *Cortaderia selloana* (Schult. et Schult.f.) Asch. et Graebn., *Schoenoplectus californicus*, *Hydrocleys nymphoides*, *Stuckenia striata*, *Tradescantia fluminensis*, *Sagittaria montevidensis*, *Ludwigia peploides* (Kunth) P.H.Raven., *Hydrocotyle* spp., llegando a cubrir un 60-90% del arroyo. En este tramo, los principales causantes de impactos son la densidad poblacional y el dragado del cauce. También se observaron muchos residuos tanto en superficie como en las márgenes del cauce.
- **C3** (34°51'28.3"S,58°04'17.6"O) (Fig. 2.8): en este último tramo de muestreo, el arroyo presenta su lecho modificado por la presencia de hormigón. Presenta una profundidad de 65 cm y su velocidad media es de 0,1 cm.seg⁻¹. La vegetación del lugar cubre como máximo un 40% y está compuesta por *Tradescantia fluminensis*, *Stuckenia striata*, *Egeria densa*, *Hydrocotyle* spp.

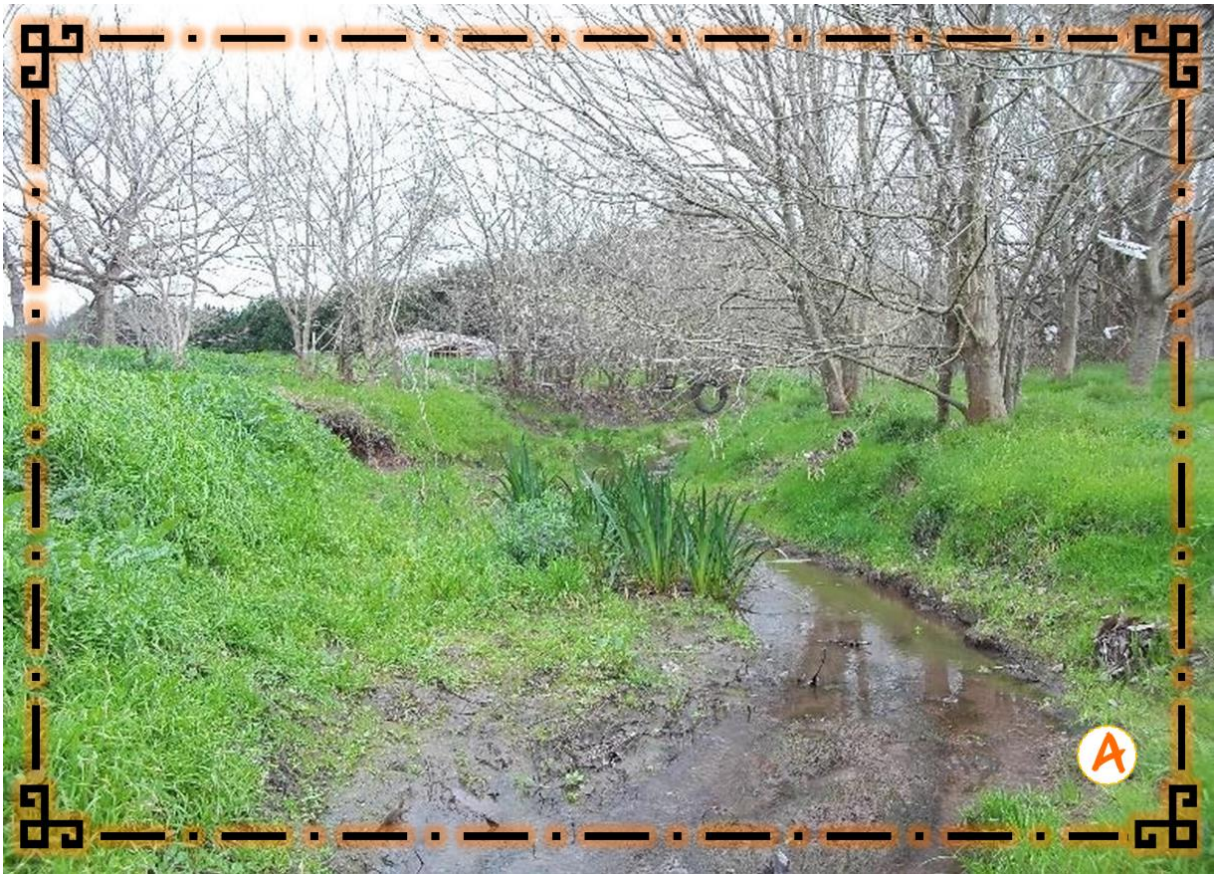


Figura 2.7. Arroyo Carnaval (C1). Vistas río arriba (A) y río abajo (B) del tramo de muestreo. Agosto de 2017.



Figura 2.8. Arroyo Carnaval (C2). Vistas río arriba (A) y río abajo (B) del tramo de muestreo. Agosto de 2017.



Figura 2.9. Arroyo Carnaval (C3). Vistas río arriba (A) y río abajo (B) del tramo de muestreo. Agosto de 2017.

Arroyo El Pescado (P): El Pescado en su nacimiento presenta un curso intermitente y sinuoso para luego convertirse en un curso de agua permanente, con una cuenca de 400 km² y una extensión de 36 km (LAURENCENA & KRUSE, 1993; MANASSERO *et al.*, 2010). En sus principales afluentes (arroyo El Sauce y arroyo sin nombre) existe un intenso desarrollo de la actividad agrícola y florihortícola en invernaderos, actividades que contaminan las aguas con nutrientes, herbicidas y pesticidas (RONCO *et al.*, 2008). El curso principal presenta afluentes secundarios, destacándose los arroyos Difuntos y **Cajaravilla**, entre otros. Este último resulta ser el principal afluente, aunque gran parte de su recorrido se ubica en el partido de Magdalena. Su lecho es limo-arcilloso, posee un ancho que varía entre los 0,4 m en zona de la cabecera hasta los 4 m o más hacia la desembocadura y la profundidad se halla entre 20 cm hasta más de 2 m. Antes de llegar a la planicie costera discurre en una amplia planicie de aproximadamente 2 km de ancho, describiendo amplias curvas. El resto del curso se desarrolla en la planicie costera dentro del partido de Berisso. El uso del suelo en la región es ganadería extensiva en pasturas naturales. Se establecieron tres puntos de muestreo, denominados como:

- **P1** (35°03'14.4"S,57°58'36.9"O) (Fig. 2.9): tiene un ancho húmedo de entre 2,7-7,66 m. Presenta una alta transparencia, una profundidad que varía de 20- 70 cm y una velocidad media de entre 0- 0,16 cm.seg⁻¹. Se pueden encontrar las siguientes especies vegetales acuáticas: *Hydrocleys nymphoides*, *Hydrocotyle bonariensis*, *Potamogeton ferrugineus* Hagstr, *Sagittaria montevidensis*, *Juncus pallescens* Lam. las cuales llegan a cubrir en promedio un 60% del tramo del arroyo.
- **P2** (34°57'36.6"S,57°46'36.6"O) (Fig. 2.10): presenta un ancho húmedo estable, de aproximadamente 7 m. La profundidad varía de 20 a 115 cm y la velocidad media es de 0,43 cm.seg⁻¹, llegando a 0,8 cm.seg⁻¹ en épocas de lluvia. La vegetación acuática registrada no supera el 10% de cobertura y consta de *Stuckenia striata*, *Azolla filiculoides*, *Sagittaria montevidensis*, *Schoenoplectus californicus*.



Figura 2.10. Arroyo El Pescado (P1). Vistas río arriba (A) y río abajo (B) del tramo de muestreo. Agosto de 2017.



Figura 2.11. Arroyo El Pescado (P2). Vistas río arriba (A) y río abajo (B) del tramo de muestreo. Agosto de 2017.

Arroyo Cajaravilla (CJ) (35°02'25.3"S,57°48'54.8"O) (Fig. 2.11): es el principal afluente del A° El Pescado, se localiza en la margen derecha del colector principal. Presenta una longitud de 17 km y presenta un ancho húmedo de 2-3 m el cual puede llegar a 27 m al desbordar en época de lluvia, formándose un bañado. La profundidad varía de 31-120 cm y la velocidad entre 0,09-1,21 cm.seg⁻¹. Presenta una cobertura vegetal media de 90% siendo la especie más predominante *Schoenoplectus californicus*, aunque en un bajo porcentaje también se puede encontrar especies como *Typha latifolia*, *Iris pseudacorus*, *Myriophyllum aquaticum* (Vell.) Verdc., *Stuckenia striata*, *Azolla filiculoides*, *Hydrocotyle* spp., *Lemna* spp.

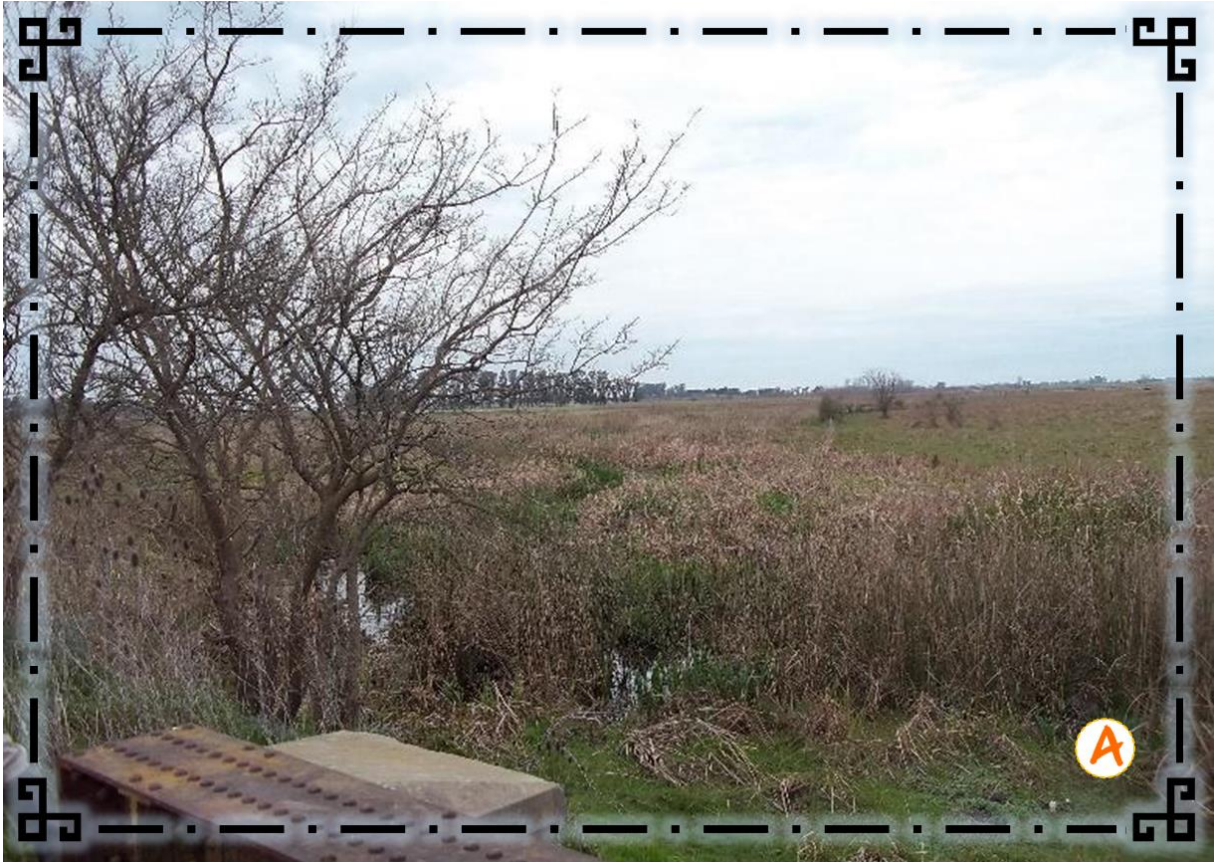


Figura 2.12. Arroyo Cajaravilla. Vistas río arriba (A) y río abajo (B) del tramo de muestreo. Agosto de 2017.

Arroyo Tubichamini (TB) (35°07'22.3"S,57°41'11.7"O) (Fig. 2.12): el arroyo presenta una longitud aproximada de 30 km. En su tramo medio se encuentra la cañada Arregui. La vegetación característica del lugar está representada por *Schoenoplectus californicus*, representando el 60% de la cobertura vegetal acuática. También registran especies como *Stuckenia striata*, *Myriophyllum aquaticum*. La velocidad de corriente del arroyo es muy baja y varía entre 0,03-0,28 cm.seg⁻¹. La transparencia media es de 18 cm, llegando en algunas estaciones del año a 32 cm y un ancho de 6,8- 7,6 m, el cual no varía con excepción de grandes lluvias.



Figura 2.13. Arroyo Tubichamini. Vistas río arriba (A) y río abajo (B) del tramo de muestreo. Agosto de 2017.

Arroyo Buñirigo (BÑ) (35°08'38.1"S,57°34'12.6"O) (Fig. 2.13): se ubica en la localidad de Magdalena. Presenta una longitud aproximada de 36 km. El uso dominante del suelo en la mayor parte de la cuenca corresponde a ganadería extensiva, debido a que es una zona muy baja donde el cauce forma grandes bañados. En el segmento medio inferior, en las proximidades de la ciudad de Magdalena, este cuerpo lótico recibe efluentes industriales (industrias curtiembre e industria de alimentos), notándose un importante deterioro de la calidad del agua a partir de este punto hasta su desembocadura en el Río de la Plata (RODRÍGUEZ CAPÍTULO *et al.*, 2001; BAUER *et al.*, 2002; GARCÍA, 2008; PARACAMPO, 2012).

La vegetación acuática predominante es *Schoenoplectus californicus*, *Myriophyllum aquaticum*, *Cortaderia selloana*, *Stuckenia striata*, *Pistia stratiotes*, *Ludwigia peploides*. El porcentaje de cobertura de estas especies varía entre 10-45%. En épocas de pocas lluvias pueden registrarse algas clorófitas. Este tramo del arroyo presenta un ancho medio de 7,3 m, una transparencia de hasta 70 cm y una escasa velocidad de corriente media de 0,95 cm.seg⁻¹.



Figura 2.14. Arroyo Buñirigo. Vistas río arriba (A) y río abajo (B) del tramo de muestreo. Agosto de 2017.

Arroyo Juan Blanco (JB): el arroyo Juan Blanco posee una cuenca de 115 km² y una extensión de 29 km, la mayor parte de la cuenca presenta ganadería extensiva con un porcentaje muy bajo de superficie cultivada (14%) (MUGNI, 2009). Su cauce natural se pierde en los humedales riparios de la planicie costera del Río de la Plata. El arroyo Juan Blanco junto con los arroyos Destino y Morales se encuentran ubicados en el Parque Costero Sur, declarado Reserva de Biosfera Natural y Cultural por la Unesco en 1984 (ATHOR, 2009). Si bien es un área protegida, en los sitios Juan Blanco, Destino y Morales se observó ocasionalmente la presencia de ganado en las márgenes. No obstante, estos sitios presentan el menor grado de impacto antrópico de la región.

Se establecieron tres puntos de muestreo, denominados como:

- **JB1** (35°15'01.5"S,57°31'12.7"O) (Fig. 2.14): este tramo de las nacientes del arroyo Juan Blanco presenta un ancho húmedo que varía de 5,7- 11,5 m, una profundidad media de 27 cm y una velocidad media de 0,01 cm.seg⁻¹. En el verano llega a secarse por completo. La vegetación acuática se caracteriza por *Juncus pallescens* y varias especies de vegetación terrestre que cubren entre un 60-100% del tramo.
- **JB2** (35°10'33.6"S,57°29'26.7"O) (Fig. 2.15): este tramo medio se caracteriza por una profundidad media de 11 cm y un ancho de 1,5 m extendiéndose a 5,72 m en época de lluvias. La velocidad media es de 0,04 cm.seg⁻¹. Esta sección del arroyo también llega a secarse en verano. Presenta especies como *Juncus pallescens* y vegetación gramínea terrestre que ocupa el 95% del tramo. En agosto de 2017 se registró una importante floración de *Oscillatoria* sp. y *Mougeottia* sp. que cubría en gran parte el tramo del arroyo.
- **JB3** (35°08'29.7"S,57°26'27.8"O) (Fig. 2.16): este punto del arroyo presenta un ancho de 35 m y una profundidad máxima de 120 cm. La velocidad de la corriente no supera los 0,06 cm.seg⁻¹ y presenta una baja transparencia. La vegetación del tramo se caracterizó por la presencia de *Potamogeton ferrugineus*, *Myriophyllum aquaticum*, *Azolla filiculoides*, *Ludwigia peploides*.



Figura 2.15. Arroyo Juan Blanco (JB1). Vistas río arriba (A) y río abajo (B) del tramo de muestreo. Agosto de 2017.



Figura 2.16. Arroyo Juan Blanco (JB2). Vistas río arriba (A) y río abajo (B) del tramo de muestreo. Agosto de 2017.



Figura 2.17. Arroyo Juan Blanco (JB3). Vistas río arriba (A) y río abajo (B) del tramo de muestreo. Agosto de 2017

2.2.2. Técnica de Exuvias Pupales De Chironomidae.

Recolección de muestras en campo

El protocolo que se describe a continuación es una adaptación de las técnicas publicadas por WILSON & MCGILL (1979) y KRANZFELDER *et al.* (2015). Mediante una red D de 25 cm de diámetro y 250 μm de abertura de malla, se recolectó todo el material suspendido en las orillas del arroyo, en particular en zonas de remansos con cúmulos de detritos orgánicos, acumulaciones de espuma, vegetación emergente, escombros, etc. El muestreo fue de tipo activo, debido a la escasa velocidad de corriente de los arroyos. Las muestras se recolectaron comenzando aguas abajo del tramo y avanzando hacia arriba del mismo. En el caso de los arroyos que al momento del muestreo estaban muy influenciados por el viento, se comenzó el muestreo en la costa de sotavento. Cada muestra se tomó a lo largo de un transecto de 30 m² por la margen del arroyo (30 m x 1 m) como unidad de esfuerzo de muestreo. Se recolectaron tres muestras por sitio de muestreo y en cada visita.

El material recolectado se concentró en el fondo de la red y usando una piseta con agua del ambiente previamente filtrada (para no incorporar nuevas exuvias), se transfirió cuidadosamente la muestra a un recipiente rotulado (50-100 ml) con etanol al 70%.

En todos los sitios de muestreo, se relevaron los siguientes parámetros fisicoquímicos: velocidad de corriente (calculada como el promedio de tres tiradas de un flotador) (GORDON *et al.*, 1994), temperatura y oxígeno disuelto (OD) (dissolved oxygen meter Lutron YK-22DO), pH (Universal pH Test Paper Strips), conductividad (AD204 Standard conductivity pocket tester) y transparencia (Disco de Secchi). Se extrajeron muestras de agua para la determinación en laboratorio de nitrato (N-NO₃), nitrito (N-NO₂), amonio (N-NH₄), fósforo total (P-PO₄), demanda biológica de oxígeno (DBO₅) y demanda química de oxígeno (DQO), siguiendo métodos estándar (APHA, 1998). En cada muestreo se estimó el porcentaje de cobertura de macrófitas presentes mediante la técnica de Mapeo (FEIJOÓ & MENÉNDEZ, 2009).

Separación de exuvias pupales en laboratorio

En laboratorio se realizó la separación de las exuvias filtrándolas a través de dos tamices, 420 μm y 250 μm de abertura de malla respectivamente. Para ello, se colocaron los tamices de mayor a menor tamaño de abertura de malla, realizándose el lavado del

material sobre el tamiz mayor con abundante agua. Se tamizó todo el material recolectado para que los detritos de mayor tamaño queden retenidos en el tamiz de mayor abertura de malla. Luego todo el detrito fue descartado. Finalmente, las exuvias pupales y el material orgánico retenido en el tamiz de 250 μm se transfirió a un recipiente con etanol 70% para su preservación.

Para la separación de las exuvias recolectadas se analizó la muestra bajo microscopio estereoscópico 4X. Las exuvias separadas fueron transferidas a un recipiente con etanol 70%. Cabe aclarar que se recolectaron solamente aquellas exuvias que presentaron al menos la mitad del cefalotórax y el abdomen, sin considerar fragmentos de exuvias o aquellas que se encontraron secas o colapsadas por las dificultades en la identificación del material.

Montaje e identificación de las exuvias pupales de Chironomidae.

Las exuvias separadas fueron colocadas en una caja de Petri totalmente cubiertas de etanol para impedir que el material se deteriore. Se realizó una primera selección de los diferentes grupos morfológicos analizando la muestra bajo un microscopio estereoscópico (4X). Se utilizaron las características morfológicas externas para separar las morfoespecies de quironómidos. Por ejemplo, del cefalotórax, se consideraron las diferencias en la presencia, tamaño, forma y coloración de los tubérculos cefálicos, las verrugas frontales, las setas frontales y el cuerno torácico. En el caso del abdomen, se usaron espinas, *shagreen*, setas y espínulas de los segmentos abdominales, además de los lóbulos anales para la separación de morfoespecies (Fig. 5.1-5.3). En el capítulo 5 se describe con mayor detalle la morfología de la exuvia pupal de Chironomidae.

Posteriormente a la separación de las morfoespecies, se seleccionaron de 8 a 10 exuvias por morfotipos y se las colocó sucesivamente por etanol a tres concentraciones diferentes (80%, 96% y 100%) para su deshidratación durante al menos un minuto en cada una de las concentraciones. A continuación, se colocó la exuvia sobre una gota de Bálsamo de Canadá en un portaobjetos y se separó el cefalotórax del abdomen (Figura 2.18). Para ello, se dividió el cefalotórax a lo largo de la sutura ecdisal y se abrió para que los bordes de la

sutura estén en lados opuestos (Figura 2.18 B). Se orientó el cefalotórax de modo que el lado ventral quede hacia arriba y se colocó el abdomen con su lado dorsal hacia arriba.

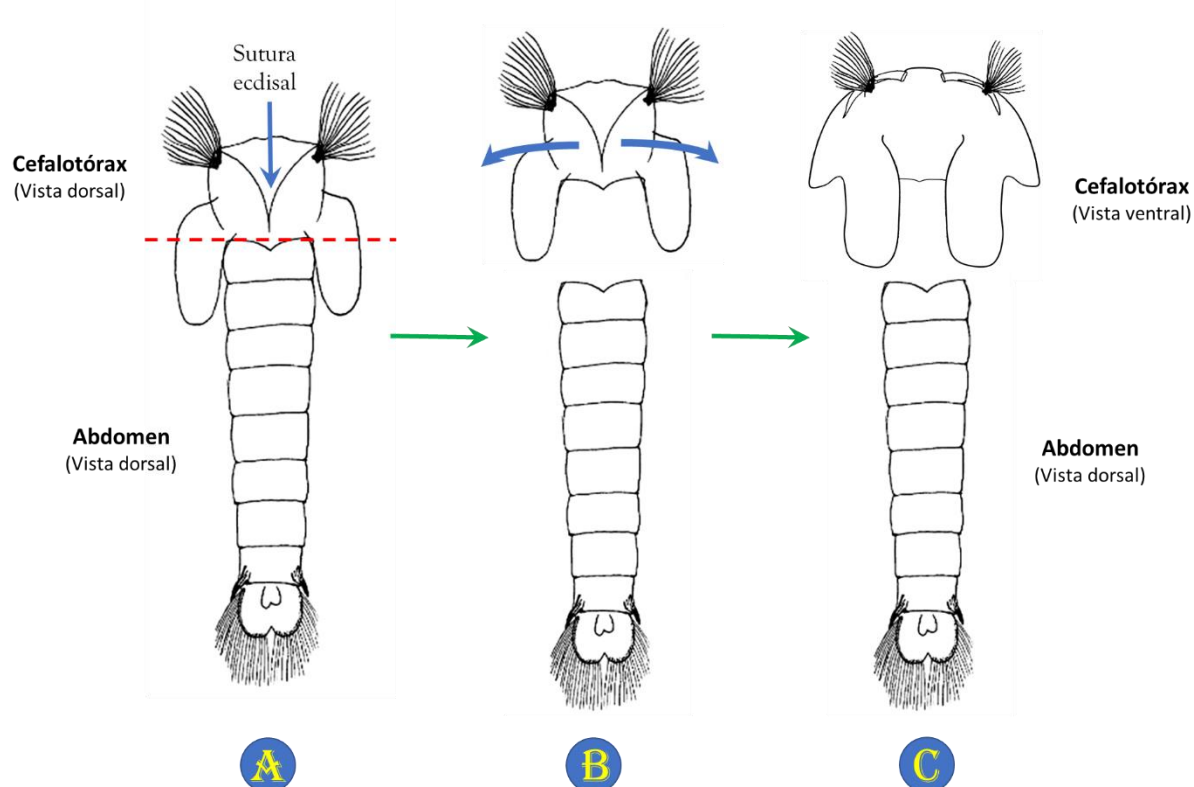


Figura 2.18. Secuencia de pasos para el montaje de la exuvia pupal disectada. **(A)** Cefalotórax y abdomen de exuvia pupal en vista dorsal. **(B)** Exuvia pupal disecada (cefalotórax y abdomen en vista dorsal). **(C)** Exuvia pupal disecada y orientada (cefalotórax: vista ventral; abdomen: vista dorsal).

Cuando el material se encontró en la ubicación adecuada, se colocó el cubreobjetos, presionando ligeramente para aplanar la muestra, siempre sin afectar la tridimensionalidad del material para facilitar la diferenciación de las estructuras ubicadas de manera dorsal y ventral.

Las identificaciones se realizaron al menor nivel taxonómico posible (especie o morfoespecie) mediante el uso de claves de WIEDERHOLM (1986), WIEDENBRUG (2000), WIEDENBRUG & OSPINA-TORRES (2005), MERRIT *et al.* (2008), PRAT *et al.*, (2014), entre otros. La mayoría de las especies y algunos de los géneros representan taxones para los cuales es desconocido el estado de pupa. Como resultado, muchos taxones fueron considerados como "morfoespecies" (por ej.: *Ablabesmyia* sp.1) o géneros desconocidos (por ej.:

Chironomini indeterminado #1). A lo largo del texto se referirá como "especies" a todos los taxones determinados como morfoespecies y géneros desconocidos de este estudio.

Posteriormente, los preparados identificados fueron llevados a estufa de secado a 45 °C- 48 °C durante tres meses. Luego de transcurrido este tiempo el material fue incorporado a las colecciones de referencia.

2.3. ANÁLISIS DE DATOS

2.3.1. Atributos estructurales del ensamble

La *densidad* de exuvias pupales de Chironomidae, se calculó como el número total de exuvias por metro cuadrado (N° exuvias.m²).

Se consideró *riqueza taxonómica* al número total de especies presentes en cada sitio de muestreo.

Se calculó la *diversidad* de especies utilizando el índice de diversidad de Shannon-Wiener (H') (MAGURRAN, 1988) mediante la siguiente fórmula:

$$H' = - \sum_{i=1}^S p_i \ln p_i$$

donde:

- S – número de especies (la riqueza de especies)
- p_i – proporción de individuos de la especie i respecto al total de individuos (es decir la abundancia relativa de la especie i): $\frac{n_i}{N}$
- n_i – número de individuos de la especie i
- N – número de todos los individuos de todas las especies

De esta forma, el índice contempla la cantidad de especies presentes en el área de estudio (riqueza de especies) y la cantidad relativa de individuos de cada una de esas especies (densidad).

Se calculó el índice de *equitatividad* de Pielou que toma valores entre 0 y 1 de forma que 1 corresponde a situaciones en las cuales todas las especies son igualmente abundantes (MAGURRAN, 1988).

$$J' = H' / H'_{\max} \text{ donde } H'_{\max} = \ln S$$

2.3.2. Análisis específicos

Se realizaron análisis específicos en cada capítulo para abordar el tratamiento de datos relacionados con cada uno de los objetivos.

CAPÍTULO 3:

A decorative blue wavy border with a gradient effect, surrounding the title text. It has a thick, rounded shape with a darker blue inner line and a lighter blue outer glow. On the right side, there are two small, overlapping circular shapes in shades of blue.

Diversidad, Fenología y Voltinismo de Chironomidae

3.1. INTRODUCCIÓN

Los estudios de las relaciones entre la variación temporal de los fenómenos biológicos y los factores ambientales, en particular el clima, son fundamentales para comprender la dinámica de las comunidades (SCOTT & EPSTEIN, 1987). La supervivencia, el desarrollo y la reproducción deben sincronizarse con las estaciones favorables y la diapausa con períodos desfavorables (TOKESHI, 1995). Una faceta importante del ciclo de vida es la programación temporal de las actividades reproductivas en las cuales el voltinismo y la fenología son factores muy importantes. El voltinismo se refiere a la cantidad de generaciones que una población pasa en un año, en este sentido se pueden encontrar especies univoltinas (una generación por año), bivoltinas (dos generaciones por año) y multivoltinas (varias generaciones por año). Por otro lado, la fenología se refiere al momento estacional real de dicha actividad (TOKESHI, 1995). En el contexto del cambio climático global, los estudios fenológicos han recibido en los últimos años mayor atención en biología de la conservación, ya que existe evidencia de que las fluctuaciones climáticas afectan los procesos ecológicos (STENSETH *et al.*, 2002; EDWARDS & RICHARDSON, 2004; DURANCE & ORMEROD, 2007; DOMISCH *et al.*, 2011; WOODWARD *et al.*, 2016). Por lo tanto, la fenología es un elemento estructurador analizado en casi todas las áreas de la ecología y evolución (FORREST & MILLER-RUSHING, 2010). En el mundo, los quironómidos como grupo muestran una amplia variación con respecto a la fenología, registrándose emergencias prácticamente durante todo el año (PINDER, 1974).

La colecta de exuvias es una forma de medir la presencia del taxón, historia de vida, tamaño de la población y productividad, debido a que marca la emergencia del adulto como punto final del ciclo de vida y una utilización exitosa del hábitat por parte de los estados inmaduros (RUSE, 1995; FERRINGTON *et al.*, 2008). La Técnica de Exuvias Pupales de Chironomidae es una herramienta sencilla, rápida y aplicable tanto a los ríos de mayor caudal y profundidad como a los arroyos pequeños y poco profundos (LINDEGAARD, 1995). Tales muestras proporcionan suficiente material para el examen de diferentes atributos ecológicos. Como fue mencionado, una de las ventajas de su utilización es su rápida y precisa identificación comparada con la de las larvas, permitiendo presentar de forma integrada al ensamble de quironómidos (WILSON & MCGILL, 1977; FERRINGTON *et al.*, 1991; HARDWICK *et al.*, 1995; RUSE, 1995; RAUNIO *et al.*, 2007a, b; KRANZFELDER *et al.*, 2015).

Según WILSON & BRIGHT (1973), es posible obtener una "huella digital" de un ambiente lótico a partir de los resultados obtenidos mediante el CPET.

En el hemisferio sur la CPET se ha aplicado para el estudio de la variación espacial y temporal en ambientes lóticos en el sur de Australia (HARDWICK *et al.*, 1995), sur de Brasil (SIQUEIRA *et al.*, 2008; SAULINO *et al.*, 2021), centro-este y sur de Argentina (GARCÍA & AÑÓN-SUÁREZ, 2007; MESTRE *et al.*, 2018).

La medición de la emergencia en insectos acuáticos se ha utilizado para estudios taxonómicos, ecológicos, de productividad y de evaluación biológica. Una mejor resolución taxonómica permite la generación de listas más completas y reduce los problemas asociados a sacar conclusiones de resultados que incluyen taxones agrupados con tolerancias e historias de vida potencialmente diferentes (WILSON, 1994; RAUNIO *et al.*, 2007a). Además, la CPET es eficiente en el análisis fenológico, ya que permite recolectar especies con períodos cortos de actividad, que de lo contrario se perderían.

El presente capítulo tiene como objetivos 1) determinar la estructura del ensamble de Chironomidae en arroyos pampásicos y 2) establecer patrones de emergencia para las diferentes especies en relación con las variables ambientales

En consecuencia, se desarrolló un diseño de campo para abordar dichos objetivos y se puso a prueba la hipótesis H1: Los patrones de emergencia de las especies de Chironomidae presentan diferencias temporales con relación a las variables ambientales.

3.2. MATERIALES Y METODOS

3.2.1. Área de estudio y Diseño de muestreo

El área de estudio, la técnica de muestreo, procesamiento e identificación de los organismos fue descrita en los puntos 2.2.2 en el apartado Materiales y Métodos. Los sitios elegidos para el estudio fueron: arroyo El Pescado 2, arroyo Cajaravilla, arroyo Tubichamini, arroyo Buñirigo y arroyo Juan Blanco 3 (Fig. 3.1). Como fue descrito en el apartado 2.2.1, estos arroyos presentan un uso del suelo agrícola-ganadero moderado, en los cuales predominan las pasturas naturales. Se eligieron estos arroyos debido al bajo impacto que presentan, para poder analizar la fenología de las especies de Chironomidae en la región Tributarios de los ríos Paraná y Río de la Plata sin la modificación de factores externos.

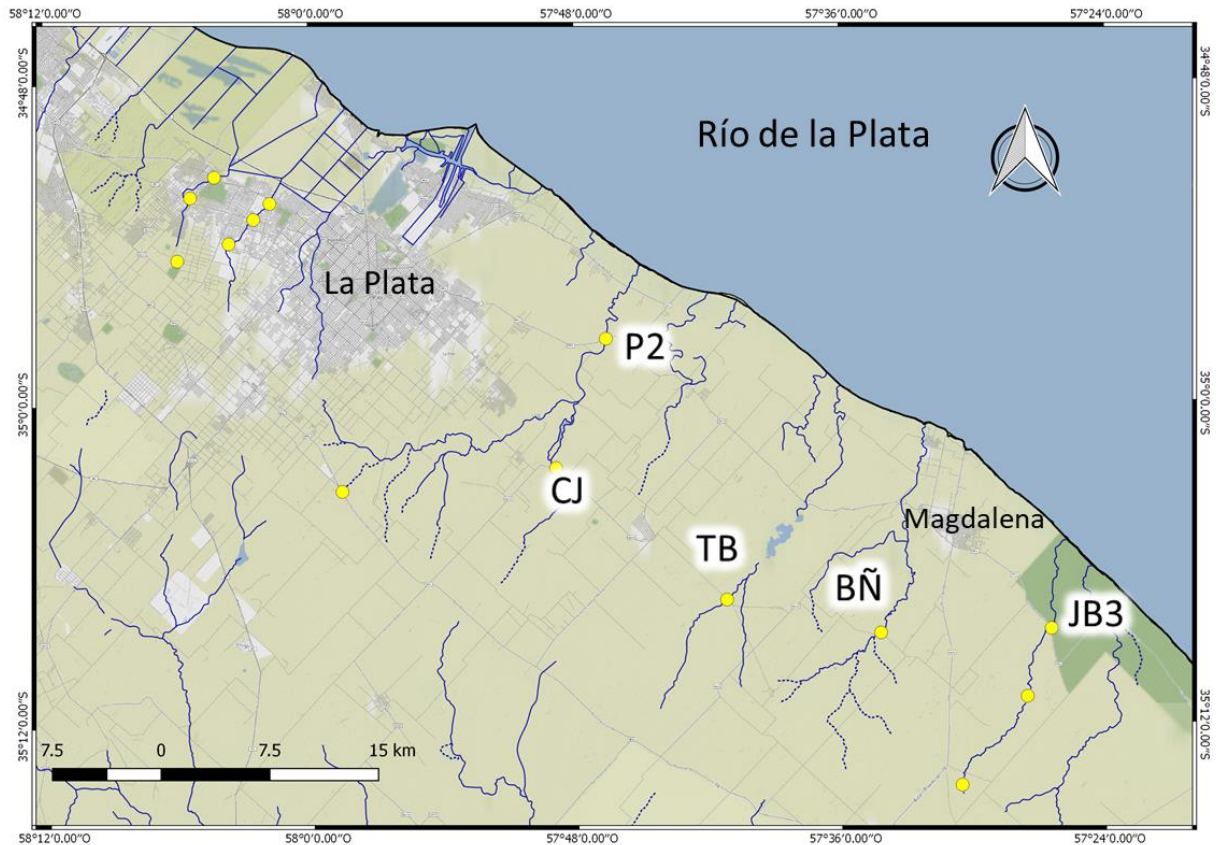


Figura 3.1. Mapa de la provincia de Buenos Aires indicando los puntos de muestreos. **P:** A° El Pescado, **CJ:** A° Cajaravilla, **TB:** A° Tubichamini, **BÑ:** A° Buñirigo, **JB:** A° Juan Blanco.

Los muestreos se realizaron durante un ciclo anual desde octubre de 2016 a septiembre de 2017 (debido a la imposibilidad de acceder a los sitios de muestreo por abundantes lluvias previas a la fecha del muestreo, no se tomaron muestras en los meses de enero y julio y se muestrearon 3 de los 5 sitios en el mes de febrero). En total, se recolectaron, procesaron y analizaron 144 muestras para el análisis fenológico (5 arroyos/9-10 meses/3 réplicas por sitio) (Fig. 2.2).

Se relevaron los parámetros fisicoquímicos siguiendo la metodología mencionada en el punto 2.2.2 (Materiales y Métodos). Además, para este análisis se incorporaron variables como precipitaciones totales (mm), temperatura media del aire (°C) y fotoperiodo (número medio de horas de luz) proporcionadas por la Estación Meteorológica La Plata Observatorio (34° 54' 24" S, 57° 55' 56" W, 15 m s.n.m.) (Facultad de Ciencias Astronómicas y Geofísicas, UNLP).

3.2.2. Análisis de datos

Análisis del ensamble y su relación con las variables ambientales

Con los datos obtenidos se calcularon las siguientes métricas del ensamble: densidad de exuvias (N° exuvias.m⁻²), riqueza taxonómica (número total de taxones, S), índice de diversidad de Shannon-Wiener (H') e índice de equitabilidad J' (H'/H_{max}^{-1}), mediante el programa estadístico PAST 3.0 (HAMMER *et al.*, 2001).

Para comparar la composición de especies entre los diferentes arroyos se analizó la densidad de exuvias transformadas en \log_{10} mediante el método de Escalamiento Multi-Dimensional No Métrico o nMDS y el análisis de similitudes o ANOSIM, ambos calculados mediante el programa estadístico PAST 3.0 (HAMMER *et al.*, 2001). El nMDS se basa en resumir en dos o tres dimensiones la configuración espacial de las entidades comparadas en un espacio matemático multidimensional. El término "No métrico" implica que las distancias no se obtienen realizando operaciones matemáticas entre medidas de valor numérico, sino que se basan en el orden de cercanía entre las entidades. Por ello, este método resulta ideal para comparar muestras a partir de una matriz calculada con índices ecológicos de similitud o distancia tradicionales que son valores ordinales. El índice empleado fue el de Bray-Curtis que usa densidades y la comparación se realizó en busca de agrupamientos. Aunque el nMDS muestra una configuración espacial que da una idea de las relaciones de similitud entre los diferentes transectos, también se realizó un análisis de similitud (ANOSIM) para obtener un valor de prueba estadístico que definiera si las diferencias entre los grupos de transectos fueron significativas. El ANOSIM se basa en los mismos principios de ordenamiento en base a una matriz de similitud que el nMDS por lo que resulta conveniente emplear estas técnicas en conjunto. El índice de Bray-Curtis fue también usado para esta prueba. Para calcular el ANOSIM, se definen grupos de muestras de las cuales se desea saber si se agrupan entre sí. Se asume que las distancias deben ser mayores entre los elementos de grupos diferentes que entre elementos que se encuentran dentro de un mismo grupo (CLARKE, 1993). Para comprobar la significancia de los datos obtenidos se empleó un método de permutaciones (999 permutaciones) en el que se van cambiando las muestras de un grupo a otro de manera aleatoria. Para ambos análisis se usó el programa estadístico PAST 3.0 (HAMMER *et al.*, 2001).

El índice de Bray-Curtis, mencionado anteriormente, es el cual es un coeficiente de distancia que mide las diferencias en abundancia de los taxones que componen las muestras e ignora los casos en los cuales el taxón está ausente en ambas muestras.

Todas las variables ambientales se sometieron a análisis para realizar comparaciones entre los sitios utilizando ANOVA y en el caso de las variables que no cumplieron con los supuestos de normalidad y homocedasticidad de la varianza se realizaron pruebas no paramétricas de Kruskal-Wallis utilizando la biblioteca de *agricolae* (DE MENDIBURU, 2019) disponible en el programa R (versión 3.6.3).

Análisis fenológico y voltinismo

Para determinar el voltinismo de las especies estudiadas se utilizó de forma complementaria XY-plot y la estimación de densidad del Kernel. Mediante el XY-plot se graficó la densidad promedio de exuvias para cada uno de los meses de muestreo. La cantidad de picos de emergencia (meses en los cuales se registró el mayor número de exuvias) indicó el tipo de voltinismo, así las especies que presentaron un solo pico anual de emergencia fueron consideradas univoltinas, las especies que presentaron dos picos de emergencias separados por dos o más meses sin registros fueron consideradas bivoltinas y, las especies que aparecen la mayor parte del año fueron consideradas multivoltinas. La estimación de la densidad de Kernel es una forma no paramétrica de estimar la función de densidad de probabilidad de una variable aleatoria, en este caso, la emergencia de exuvias pupales a lo largo del tiempo. Se usó este método para excluir cualquier error potencial de muestreo, el cual podría ocurrir, por ejemplo, debido a la baja probabilidad de captura de una especie a causa de su baja abundancia. Dada una muestra de la densidad de exuvias pupales de una especie, la estimación de la densidad de Kernel extrapola los datos y predice el período de emergencia y la ocurrencia relativa de individuos de toda la población durante el año de estudio. Las especies univoltinas tendrán una distribución de densidad de Kernel unimodal, las especies bivoltinas tendrán una distribución bimodal y las especies multivoltinas tendrán una distribución multimodal. Analizando el número de modos y la variación temporal se determinó el voltinismo de cada una de las especies. La estimación de densidad del Kernel se determinó con la función *kdensity* (MOSS & TVETEN, 2019)

disponible en el programa R (versión 3.6.3). El anexo 1, muestra los criterios utilizados para clasificar el tipo de voltinismo, a través de XYplot y densidad de Kernel.

Además, se realizó una correlación de Spearman entre las métricas de cada subfamilia de Chironomidae y las variables fisicoquímicas y ambientales para determinar cuáles fueron los factores que afectaron significativamente la emergencia ($p < 0,05$). Estos análisis se llevaron a cabo utilizando la biblioteca *Hmisc* (HARRELL *et al.*, 2019) disponible en el programa R (versión 3.6.3).

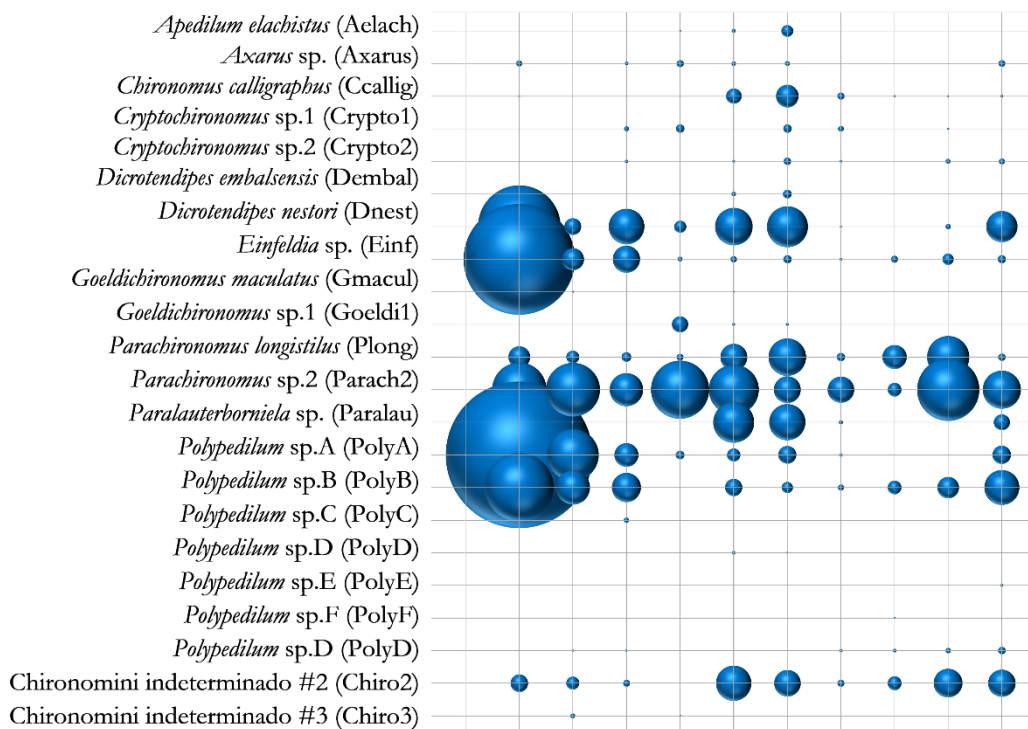
3.3. RESULTADOS

3.3.1. Análisis del ensamble y su relación con las variables ambientales

Se registró un total de 52057 exuvias para el total de los sitios relevados, con un total de 36 géneros y 62 especies, pertenecientes a tres subfamilias: 17 géneros de Chironominae, 10 de Tanypodinae y 9 de Orthoclaadiinae. En cuanto al total de especies, 34 pertenecieron a la subfamilia Chironominae, 15 a Tanypodinae y 13 a Orthoclaadiinae (Tabla 3.2). La riqueza total de especies en cada sitio y fecha osciló entre 1 y 33. La densidad por muestra varió entre 0,01 y 156,53 exuvias.m⁻². Los taxones dominantes con una densidad mayor al 10% fueron *Parachironomus* sp.2, *Polypedilum* sp.A y *Rheotanytarsus* sp.1, representando el 53% del total de exuvias recolectadas.

Chironominae

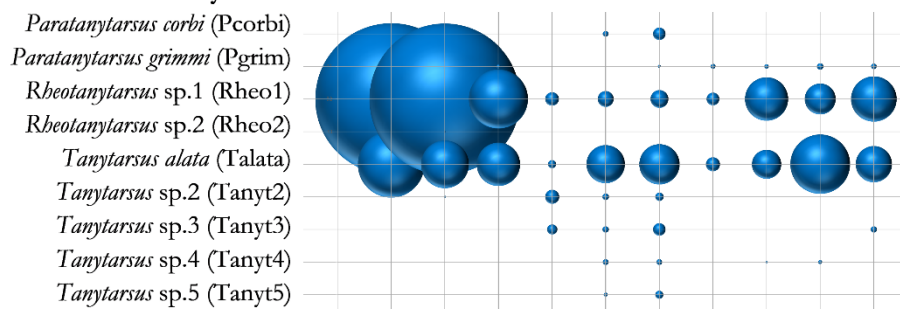
Chironomini



Pseudochironomini

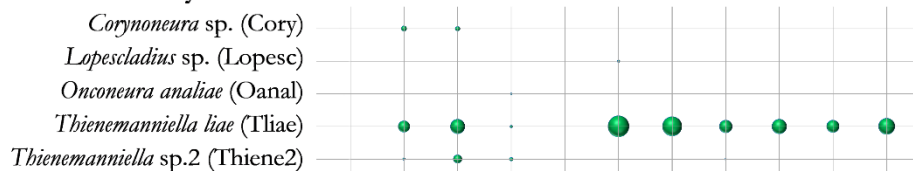


Tanytarsini

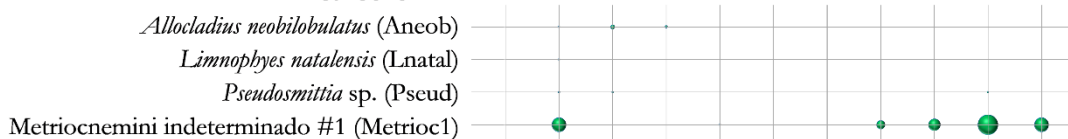


Orthoclaadiinae

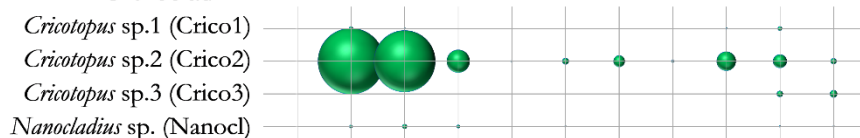
Corynoneurini



Metriocnemini



Orthoclaadiini



Oct Nov Dic Feb Mar Abr May Jun Ago Sep

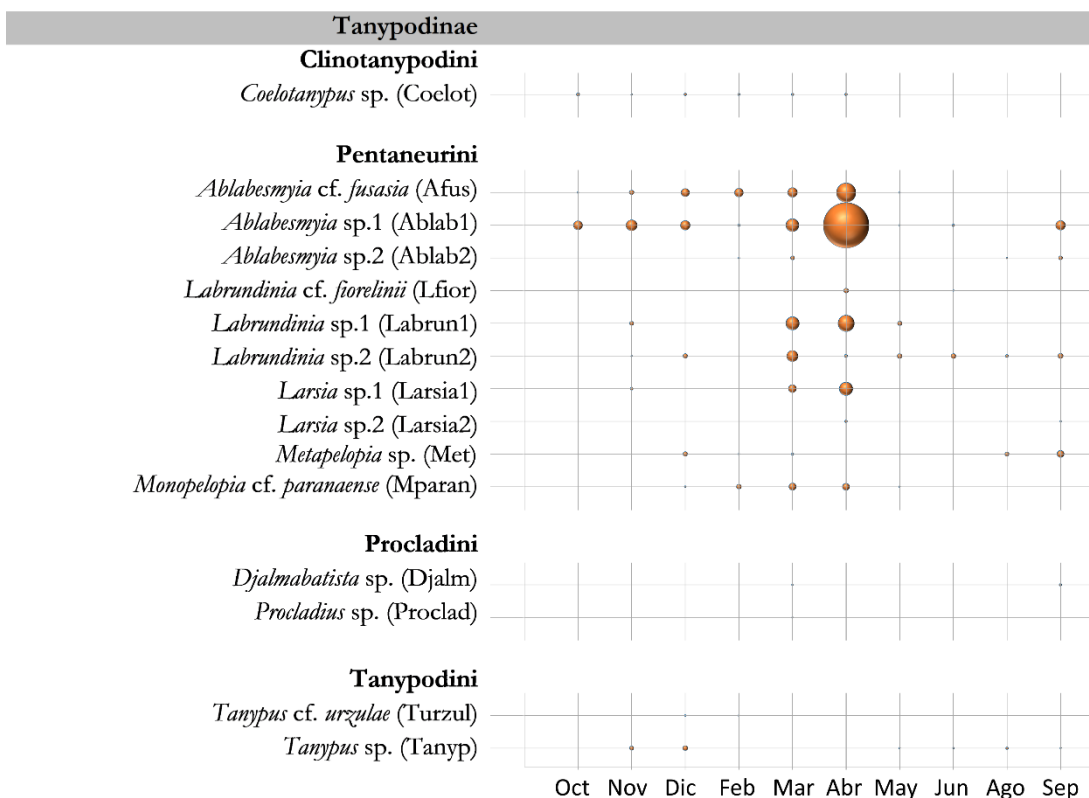


Figura 3.2- Diagrama de burbujas de la densidad de las especies de Chironominae, Orthocladiinae y Tanypodinae recolectadas en los sitios de muestreo. Cada burbuja representa la densidad absoluta de exuvias pupales para el total de los sitios por fecha. Se incluyen abreviaturas utilizadas en las tablas y figuras.

Los valores de las variables fisicoquímicas se encontraron dentro de los rangos usualmente registrados para los arroyos de esta región (Tabla 3.1). Los valores de las variables fotoperiodo, precipitación y temperatura del aire corresponden a escala regional. Los arroyos se caracterizaron por presentar una profundidad que varió entre 47-103 cm, la velocidad media de corriente presentó valores máximos en el arroyo Buñirigo (0,53 cm.seg⁻¹) y mínimos en el arroyo Juan Blanco (no detectable). Los niveles máximos de transparencia fueron observados en los arroyos Buñirigo y Cajaravilla, con valores de alrededor de 30 y 40 cm respectivamente. El porcentaje de cobertura de macrófitas media fue del 46%, con valores máximos de hasta 95% (arroyo Cajaravilla). La conductividad media fue de 0,88 mS.cm⁻¹, registrándose en el arroyo Cajaravilla los valores más altos (1,61 mS.cm⁻¹). El pH osciló entre 7,09- 7,60. El oxígeno disuelto (OD) medio fue de 6,46 mg.l⁻¹, llegando a valores máximos de 8,2 mg.l⁻¹ en el arroyo Buñirigo. El arroyo Cajaravilla

presentó los valores más altos de nutrientes. En cuanto a los valores de DBO₅ y DQO, estos fueron menores en el arroyo Buñirigo y los mayores valores se registraron en el arroyo Rodríguez. En las tablas 3.2 y 3.3 se observan los resultados del test de ANOVA y Kruskal-Wallis. Las variables que presentaron diferencias significativas entre los sitios analizados fueron P-PO₄, velocidad de corriente, porcentaje de cobertura de macrófitas, OD, conductividad, profundidad y transparencia.

Table 3.1. Valores medios (mín.-máx.) de los parámetros físicos y químicos registrados en los sitios muestreados.

	A° Buñirigo	A° Cajaravilla	A° Juan Blanco	A° El Pescado	A° Tubichamini
Temperatura (°C)	20,02 (15,30-26,80)	17,88 (14,10-27,50)	21,04 (14,50-29,40)	20,76 (13,40-26,50)	19,52 (12,60-30,80)
Profundidad (cm)	78,15 (64,67-103,00)	73,35 (48,67-99,33)	90,98 (73,67-105,00)	72,41 (47,00-88,33)	75,43 (60,67-90,67)
Velocidad de corriente (cm.seg ⁻¹)	0,53 (0,00-4,33)	0,30 (0,10-0,86)	0,00 (0,00-0,03)	0,28 (0,03-0,51)	0,07 (0,00-0,25)
Transparencia (cm)	39,37 (21,00-70,00)	30,83 (19,00-49,00)	14,89 (6,00-22,00)	8,42 (5,00-18,00)	18,27 (9,00-32,00)
Cobertura de macrófitas (%)	22,78 (10,00-45,00)	94,44 (80,00-100,00)	51,39 (20,00-77,50)	7,78 (5,00-10,00)	54,50 (15,00-80,00)
Conductividad (mS.cm ⁻¹)	0,67 (0,32-0,97)	1,61 (0,49-8,20)	0,40 (0,15-0,66)	0,92 (0,48-1,25)	0,79 (0,42-1,04)
pH	7,6 (6,2-8,9)	7,09 (6,8-7,5)	7,35 (6-8,8)	7,09 (6,5-7,5)	7,21 (7,0-7,9)
Oxígeno disuelto (mg.l ⁻¹)	8,195 (5,467-10,500)	4,379 (2,600-9,867)	5,990 (3,600-11,167)	6,805 (3,500-12,200)	6,931 (4,300-12,000)
P-PO ₄ (mg P.l ⁻¹)	0,096 (0,011-0,453)	0,321 (0,060-0,690)	0,101 (0,019-0,224)	0,295 (0,065-0,469)	0,110 (0,014-0,256)
N-NO ₃ (mg N.l ⁻¹)	0,078 (0,026-0,141)	0,285 (0,055-0,986)	0,107 (0,023-0,208)	0,100 (0,019-0,243)	0,053 (0,016-0,139)
N-NO ₂ (mg N.l ⁻¹)	0,005 (0,001-0,015)	0,031 (0,001-0,077)	0,010 (0,004-0,035)	0,016 (0,002-0,057)	0,013 (0,001-0,037)
N-NH ₄ (mg N.l ⁻¹)	0,028 (0,001-0,137)	0,122 (0,001-0,375)	0,051 (0,001-0,280)	0,091 (0,001-0,361)	0,015 (0,001-0,060)
DBO (mg O ₂ .l ⁻¹)	10 (5-16)	12 (6-23)	21 (3-35)	19 (9-33)	25 (6-118)
DQO (mg O ₂ .l ⁻¹)	28 (9-70)	39 (10-73)	60 (7-95)	57 (14-88)	63 (12-168)

Tabla 3.2. Resultados de ANOVA simple sobre las variables fisicoquímicas e hidráulicas de los arroyos en estudio. Se presentan en negrita los valores de p significativos ($p \leq 0.05$).

<i>Fuente de variación</i>	<i>gl</i>	<i>F</i>	<i>Valor-P</i>	<i>Test a posteriori</i>
DQO	4	2,69	0,0434	Cajaravilla < Juan Blanco, El Pescado, Tubichamini; Buñirigo < El Pescado
Conductividad	4	3,35	0,0180	Juan Blanco < Cajaravilla, Pescado, Tubichamini
Profundidad	4	2,70	0,0433	Cajaravilla, El Pescado, Tubichamini < Juan Blanco
Transparencia	4	17,2	0,0000	El Pescado < Juan Blanco, Tubichamini < Buñirigo, Cajaravilla
Oxígeno disuelto	4	0,36	0,8351	No hay diferencias
Temperatura del agua	4	0,50	0,7334	No hay diferencias

Tabla 3.3. Resultados del análisis de Kruskal-Wallis sobre las variables fisicoquímicas e hidráulicas de los arroyos en estudio. Se presentan en negrita los valores de p significativos ($p \leq 0,05$).

<i>Fuente de variación</i>	<i>H</i>	<i>Valor-P</i>	<i>Test a posteriori</i>
P-PO ₄	14,7059	0,00535	Buñirigo < El Pescado
Vel. de corriente	25,9814	0,00003	Juan Blanco < Cajaravilla, El Pescado
Cobertura de macrófitas	39,4075	5,74E-8	El Pescado < Cajaravilla, Juan Blanco, Tubichamini; Buñirigo < Cajaravilla
pH	6,45686	0,16753	No hay diferencias
N-NO ₃	5,72896	0,22032	No hay diferencias
N-NO ₂	5,83279	0,21199	No hay diferencias
N-NH ₄	4,10802	0,39158	No hay diferencias
DBO ₅	9,16835	0,05703	No hay diferencias

Los resultados obtenidos a través del método de nMDS, permiten que en relación con los ensambles de especies, los arroyos no se separan claramente entre sí (Fig. 3.3). Los arroyos Buñirigo y El Pescado tienden a separarse, pero no completamente del grupo general, mientras que los demás sitios están superpuestos. Esto demostró que la composición de especies en el período estudiado entre los arroyos es similar. El análisis ANOSIM (Tabla 3.4) reforzó los resultados obtenidos por el nMDS en relación con la semejanza en la composición de especies entre los sitios ($R=0,1377$; $p<0,0001$). Esto implica que la variación depende más del tiempo que del espacio. Estos resultados posibilitaron utilizar como unidad de análisis a la región Tributarios de los ríos Paraná y Río de la Plata y a todos los sitios como réplicas.

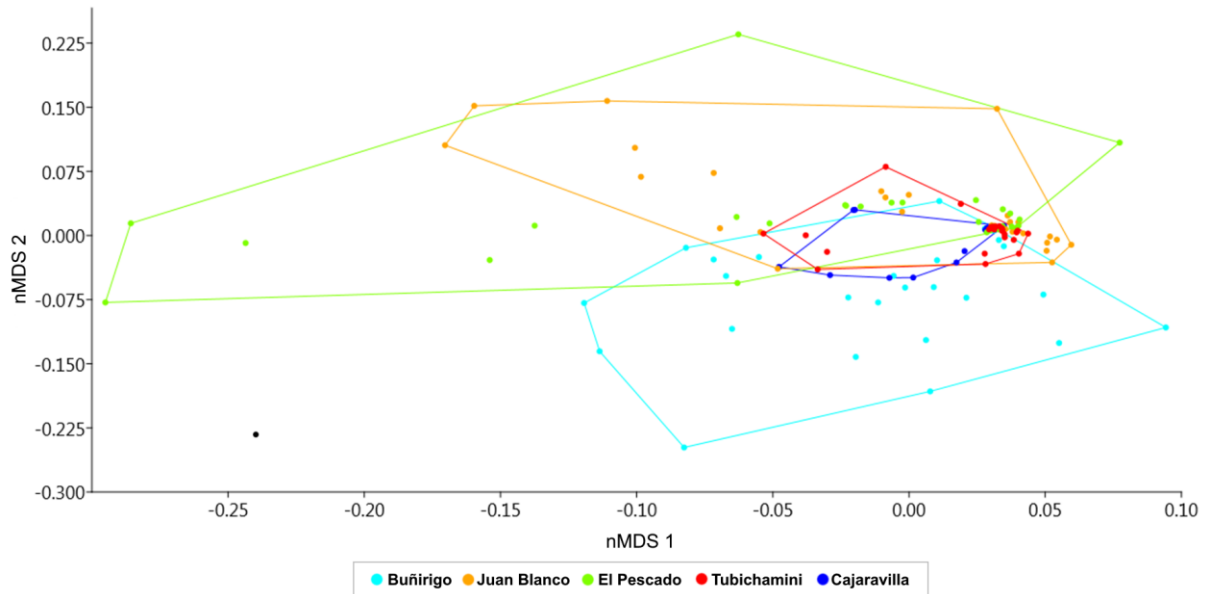


Figura 3.3- Scatter plot 2D del Análisis nMDS para los cinco arroyos del NE pampeano. Cada punto representa a una réplica por fecha de muestreo. Se incluyeron las envolturas convexas (polígono mínimo que incluye un conjunto de puntos) para cada grupo con el fin de mejorar la apreciación de los grupos. Valor de *Stress*: 0.1976.

Tabla 3.4- Valores de R y valor *p* (entre paréntesis) de las comparaciones pareadas por ANOSIM entre los distintos arroyos mediante el índice de Bray-Curtis.

	Buñirigo	Cajaravilla	Juan Blanco	El Pescado	Tubichamini
Buñirigo		0,259 (0,0001)	0,097 (0,0026)	0,075 (0,0096)	0,190 (0,0001)
Cajaravilla			0,291 (0,0001)	0,261 (0,0001)	0,091 (0,0002)
Juan Blanco				0,034 (0,0228)	0,175 (0,0001)
El Pescado					0,137 (0,0002)
Tubichamini					

Mediante la Correlación de Spearman (Tabla 3.5) se pudo observar que las precipitaciones, el fotoperiodo y la temperatura del agua y del aire se correlacionaron positivamente con las distintas métricas estructurales del ensamble de Chironominae y Tanypodinae, en tanto que la temperatura del aire se correlacionó negativamente con Orthocladiinae. Se encontró una correlación positiva del OD con Chironominae y Orthocladiinae. Las 3 subfamilias se correlacionaron negativamente con conductividad, DBO₅, DQO, nutrientes, cobertura de macrófitas y velocidad de corriente.

Tabla 3.5. Valores de correlación de Spearman estadísticamente significativa ($p \leq 0,05$) entre subfamilias de quironómidos y variables ambientales.

Subfamilia	VARIABLES AMBIENTALES	Métricas	Valid	Spearman	p-level
CHIRONOMINAE	Conductividad	Riqueza	144	-0,220936	0,008
		Densidad	144	-0,193838	0,020
	Velocidad de corriente	Densidad	144	-0,228813	0,006
		Riqueza	144	-0,220828	0,008
	Oxígeno disuelto	Equitatividad	144	0,229943	0,006
		Diversidad	144	0,207743	0,012
	Cobertura de Macrófitas	Riqueza	144	-0,554178	0,000
		Diversidad	144	-0,538733	0,000
		Equitatividad	144	-0,393222	0,000
		Densidad	144	-0,377897	0,000
	N-NO ₂	Diversidad	144	-0,287023	0,000
		Riqueza	144	-0,254782	0,002
	N-NO ₃	Densidad	144	0,205317	0,014
		Equitatividad	144	-0,179616	0,031
	Fotoperiodo	Densidad	144	0,175845	0,035
	Temperatura del agua	Riqueza	144	0,183504	0,028
Densidad		144	0,162964	0,051	
ORTHOCLADIINAE	Temperatura del aire	Diversidad	144	-0,165	0,048
		Equitatividad	144	-0,173	0,038
		Riqueza	144	-0,214	0,010
	Velocidad de corriente	Densidad	143	-0,204	0,014
	DBO ₅	Riqueza	141	-0,183	0,029
	Oxígeno disuelto	Diversidad	114	0,314	0,001
		Equitatividad	114	0,305	0,001
		Riqueza	114	0,355	0,000
	DQO	Densidad	141	-0,198	0,019
	Cobertura de Macrófitas	Diversidad	144	-0,358	0,000
		Equitatividad	144	-0,338	0,000
		Riqueza	144	-0,435	0,000
	N-NH ₄	Riqueza	141	-0,174	0,039
	pH	Diversidad	129	-0,179	0,043
		Riqueza	129	-0,186	0,035
	Precipitación	Densidad	144	-0,192	0,021
Diversidad		144	-0,236	0,004	
Equitatividad		144	-0,215	0,010	
Riqueza		144	-0,325	0,000	
TANYPODINAE	Temperatura del aire	Diversidad	144	0,233	0,005
		Equitatividad	144	0,187	0,025
		Riqueza	144	0,293	0,000
	Conductividad	Equitatividad	144	-0,165	0,048
		Riqueza	144	-0,166	0,046
	Velocidad de corriente	Diversidad	143	-0,199	0,017
		Equitatividad	143	-0,172	0,040
		Riqueza	143	-0,214	0,010
	N-NO ₂	Densidad	141	-0,185	0,028
Diversidad		141	-0,361	0,000	
Equitatividad		141	-0,326	0,000	

	Riqueza	141	-0,385	0,000
pH	Densidad	129	0,26	0,003
	Diversidad	129	0,292	0,001
	Equitatividad	129	0,177	0,045
	Riqueza	129	0,324	0,000
P-PO ₄	Diversidad	141	-0,298	0,000
	Equitatividad	141	-0,257	0,002
	Riqueza	141	-0,294	0,000
Precipitación	Diversidad	144	0,221	0,008
	Equitatividad	144	0,204	0,014
	Riqueza	144	0,306	0,000
Transparencia	Densidad	144	0,244	0,003
	Diversidad	144	0,187	0,025
Temperatura del agua	Diversidad	144	0,272	0,001
	Equitatividad	144	0,228	0,006
	Riqueza	144	0,286	0,001

3.3.2. Análisis fenológico y voltinismo

La mayor densidad de exuvias pupales se registró durante la primavera (octubre y noviembre), mientras que los menores valores fueron observados en febrero, mayo y junio (Fig. 3.4). En cuanto a la riqueza específica de cada emergencia, los valores fueron mayores a finales de verano y principio del otoño (marzo y abril). Los valores más bajos de riqueza fueron coincidentes con los meses en los que se observó la menor densidad de exuvias. En general, se observó una dominancia de la subfamilia Chironominae durante todo el ciclo anual y variaciones para las otras dos subfamilias. Orthoclaadiinae predominó en primavera y fines de verano, en tanto que Tanypodinae a principios de otoño.



Fig. 3.4. Variación mensual de la densidad y riqueza específica acumulada del ensamble de Chironomidae en los arroyos en estudio.

El análisis de la fenología mostró que Chironominae presentó los máximos picos de emergencia en octubre (237 exuvias.m⁻²) y noviembre (104 exuvias.m⁻²); Orthoclaadiinae en octubre (15 exuvias.m⁻²) y noviembre (13 exuvias.m⁻²) y Tanypodinae en abril (9 exuvias.m⁻²). Durante el resto del año, los valores para Chironominae no superaron las 35 exuvias.m⁻², mientras que Orthoclaadiinae y Tanypodinae no superaron las 2 exuvias.m⁻² (Figura 3.5). En cuanto a la riqueza específica, Chironominae presentó los máximos valores en los meses de marzo y abril (24 y 25 especies respectivamente), Tanypodinae en marzo (11 especies) y Orthoclaadiinae en octubre y noviembre (8 y 10 especies respectivamente). Si se analiza la densidad de exuvias de cada emergencia y la riqueza de taxones, se puede observar que en marzo y abril se registraron el mayor número de especies en emergencia y la mayor densidad de exuvias en la subfamilia Orthoclaadiinae y Tanypodinae. Por otro lado, en octubre, Chironominae presentó la mayor densidad de emergencia, pero el menor número de especies.

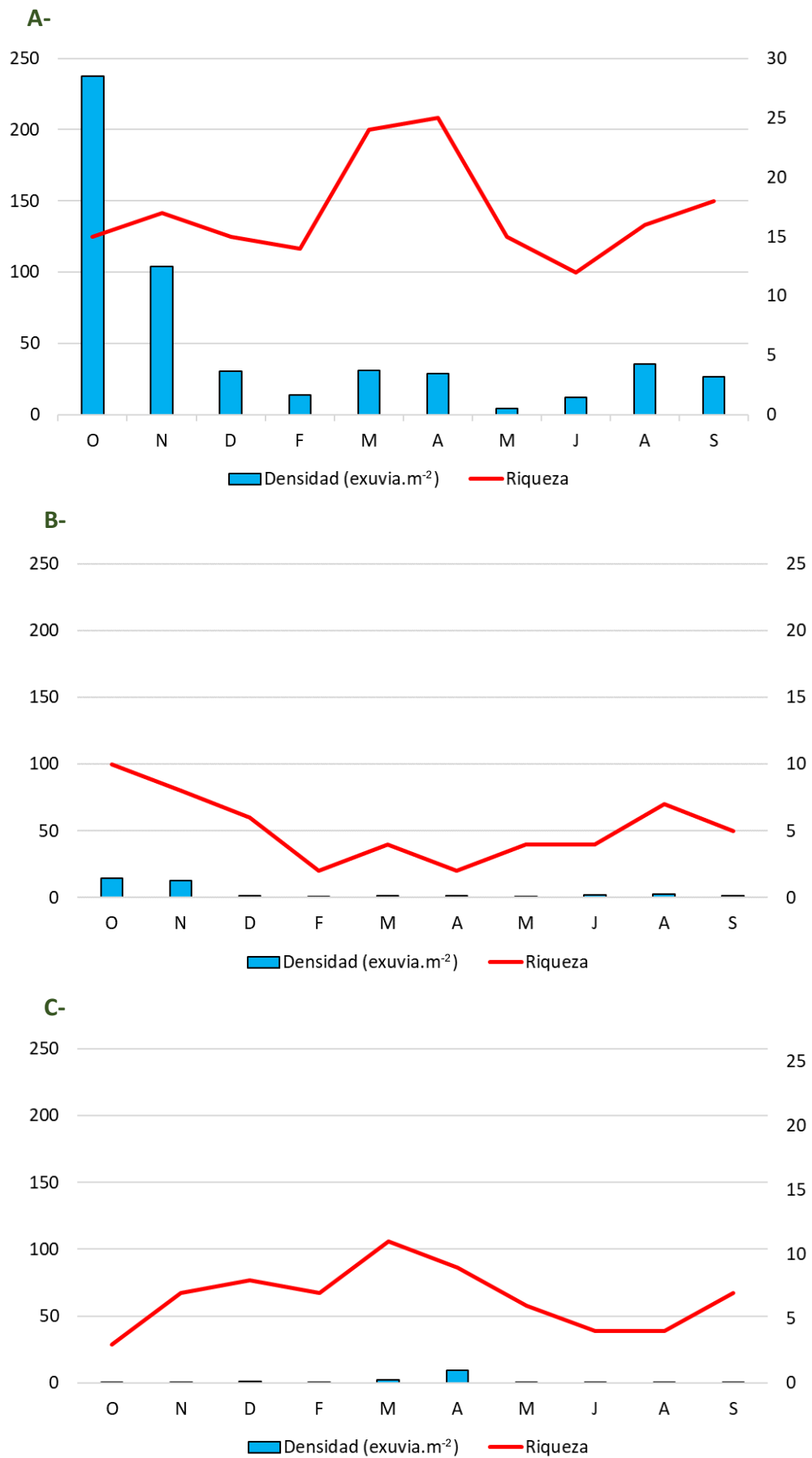


Figura 3.5. Variación mensual de la densidad y riqueza específica acumulada de las subfamilias de Chironomidae. **A:** Chironominae, **B:** Orthocladiinae y **C:** Tanypodinae.

En la Tabla 3.6, se puede observar el análisis de la fenología por especies, en la cual se muestra la estación del año en que aparecen y el momento en que presentaron sus picos de emergencia. A partir del análisis de los ciclos de vida de las especies identificadas para el área de estudio se pudo observar que la variación en los patrones de emergencia de las 62 especies es considerable y que la mayoría son univoltinas (46 especies) y en menor proporción bivoltinas y multivoltinas (10 y 6 especies, respectivamente). Dentro de las univoltinas se identificaron 12 especies con bivoltinismo facultativo y de las especies bivoltinas, una es multivoltina facultativa.

Tabla 3.6- Voltinismo de las especies de Chironomidae (Diptera) recolectados en arroyos pampeanos de la región Tributarios del río Paraná y del Río de La Plata.

TAXA	Voltinismo
Chironominae	
Chironomini	
<i>Apedilum elachistus</i>	Univoltina con su óptimo en otoño.
<i>Axarus</i> sp.	Univoltina, con diapausa en invierno.
<i>Chironomus calligraphus</i>	Univoltina, con su óptimo en otoño.
<i>Cryptochironomus</i> sp.1	Multivoltina con emergencias desde finales de primavera hasta otoño y diapausa en invierno.
<i>Cryptochironomus</i> sp.2	Multivoltina con su óptimo en otoño.
<i>Dicrotendipes embalsensis</i>	Univoltina con su óptimo en otoño.
<i>Dicrotendipes nestori</i>	Univoltina con diapausa en invierno.
<i>Einfeldia</i> sp.	Univoltina o bivoltina facultativa. Presentó pico de emergencia durante distintas estaciones en los diferentes arroyos.
<i>Goeldichironomus maculatus</i>	Univoltina, con emergencias en primavera y finales de verano.
<i>Goeldichironomus</i> sp.1	Univoltina con su óptimo en verano.
<i>Parachironomus longistilus</i>	Univoltina o bivoltina facultativa con picos de emergencia durante diferentes estaciones.
<i>Parachironomus</i> sp.2	Multivoltina con mayor densidad durante todo el año con excepción en otoño.
<i>Paralauterbormiela</i> sp.	Bivoltina con diapausa en verano.
<i>Polypedilum</i> sp.A	Univoltina o bivoltina facultativa con valores óptimos en primavera y densidades relativamente bajas durante el resto del año (< 2 exuvias.m ⁻²).
<i>Polypedilum</i> sp.B	Bivoltina o multivoltina facultativa con su óptimo en primavera y valores de densidades relativamente bajos durante el resto del año.
<i>Polypedilum</i> sp.C	Univoltina con pico de emergencia a principios del verano.
<i>Polypedilum</i> sp.D	Univoltina con emergencias a finales de verano y principios de otoño.

<i>Polypedilum</i> sp.E	Univoltina con pico de emergencia a finales del invierno.
<i>Polypedilum</i> sp.F	Univoltina con su óptimo a finales de otoño.
<i>Polypedilum</i> sp.G	Univoltina con diapausa en verano otoño.
Chironomini indeterminado #2	Multivoltina con su óptimo a finales de verano y subóptimo a finales de invierno.
Chironomini indeterminado #3	Univoltina con su óptimo en primavera y un pequeño pico de emergencia durante el verano.

Pseudochironomini

<i>Aedokritus</i> cf. <i>sartori</i>	Univoltina con pico de emergencia en verano.
<i>Pseudochironomus</i> sp.	Bivoltina con su óptimo en invierno y primavera y emergencias en abril (otoño).
<i>Pseudochironomus viridis</i>	Univoltina con pico de emergencia en invierno.

Tanytarsini

<i>Paratanytarsus corbi</i>	Bivoltina con su óptimo a finales de verano y principios de otoño.
<i>Paratanytarsus grimmi</i>	Univoltina o bivoltina facultativa con su óptimo en primavera.
<i>Rheotanytarsus</i> sp.1	Univoltina con su óptimo en primavera y finales de otoño (arroyo Buñirigo). Se registraron valores de densidad relativamente bajos durante el resto del año.
<i>Rheotanytarsus</i> sp.2	Univoltina con su óptimo en primavera.
<i>Tanytarsus alatus</i>	Multivoltina con emergencias durante todo el año y óptimas a fines del invierno - principios de la primavera.
<i>Tanytarsus</i> sp.2	Univoltina o bivoltina facultativa con su óptimo en verano y subóptimo en otoño.
<i>Tanytarsus</i> sp.3	Univoltina o bivoltina facultativa con su óptimo en verano.
<i>Tanytarsus</i> sp.4	Bivoltina con diapausa en meses cálidos y óptima en otoño.
<i>Tanytarsus</i> sp.5	Univoltina con su óptimo en otoño.

Orthoclaadiinae

Corynoneurini

<i>Corynoneura</i> sp.	Univoltina con su óptimo en primavera.
<i>Lopescladius</i> sp.	Univoltina con su óptimo en verano.
<i>Onconeura analiae</i>	Univoltina con su óptimo a finales de primavera.
<i>Thienemanniella liae</i>	Univoltina o bivoltina facultativa con emergencias durante todo el año.
<i>Thienemanniella</i> sp.2	Univoltina con su óptimo en primavera.

Metriocnemini

<i>Allocladius neobilobulatus</i>	Univoltina con su óptimo en primavera.
<i>Limnophyes natalensis</i>	Univoltina con su óptimo en primavera.
<i>Pseudosmittia</i> sp.	Univoltina con diapausa en verano-otoño.
Metriocnemini indeterminado #1	Univoltina o bivoltina facultativa con su óptimo en invierno.

Orthoclaadiini

<i>Cricotopus</i> sp.1	Univoltina con su óptimo en primavera e invierno.
<i>Cricotopus</i> sp.2	Univoltina o bivoltina facultativa con su óptimo en primavera y emergencias durante todo el año a muy bajas densidades.

<i>Cricotopus</i> sp.3	Univoltina con su óptimo a finales de invierno.
<i>Nanocladius</i> sp.	Univoltina o bivoltina facultativa con picos de emergencia en primavera.
Tanypodinae	
Clinotanypodini	
<i>Coelotanypus</i> sp.	Bivoltina con diapausa en invierno.
Pentaneurini	
<i>Ablabesmyia</i> cf. <i>fusasia</i>	Univoltina con diapausa en invierno.
<i>Ablabesmyia</i> sp.1	Multivoltina con su óptimo en otoño y emergencias durante todo el año, pero a bajas densidades.
<i>Ablabesmyia</i> sp.2	Bivoltina con emergencias en verano e invierno.
<i>Labrundinia</i> cf. <i>fiorelinii</i>	Univoltina con su óptimo en otoño.
<i>Labrundinia</i> sp.1	Univoltina o bivoltina facultativa con su óptimo en otoño.
<i>Labrundinia</i> sp.2	Univoltina o bivoltina facultativa con su óptimo a finales de verano.
<i>Larsia</i> sp.1	Bivoltina con diapausa en invierno.
<i>Larsia</i> sp.2	Univoltina con emergencias en otoño y finales de invierno.
<i>Metapelopia</i> sp.	Bivoltina con su óptimo a finales de invierno.
<i>Monopelopia</i> cf. <i>paranaense</i>	Univoltina con su óptimo a finales de verano y principios de otoño.
Procladiini	
<i>Djalmabatista</i> sp.	Univoltina con diapausa en primavera y otoño.
<i>Procladius</i> sp.	Univoltina con su óptimo a finales de verano.
Tanypodini	
<i>Tanypus</i> cf. <i>urszulae</i>	Univoltina con su óptimo en verano.
<i>Tanypus</i> sp.	Bivoltina con su óptimo en primavera, diapausa en verano y bajas emergencias en invierno.

3.4. DISCUSIÓN

3.4.1. Análisis del ensamble de quironómidos

En los arroyos pertenecientes a la región Tributarios de los ríos Paraná y Río de la Plata se hallaron 62 especies. El presente estudio amplía la riqueza taxonómica de géneros y especies reportado por otros autores para la región (CÉSAR *et al.*, 2000; RODRÍGUEZ CAPÍTULO *et al.*, 2001; PAGGI, 2003; RODRÍGUEZ CAPÍTULO *et al.*, 2004; PAGGI *et al.*, 2006; CORTELEZZI *et al.*, 2011; OCÓN & RODRÍGUEZ CAPÍTULO, 2012; RODRÍGUEZ CATANZARO *et al.*, 2018, CORTESE *et al.*, 2019). En los trabajos anteriormente citados se mencionan valores máximos de 8 a 10 género/especies y se registraron 22 géneros y 24 morfoespecies larvales considerando todos los sitios realizados. A partir de este estudio se registraron 36

géneros y 62 especies. Estos diferentes valores de riqueza de especies de Chironomidae podrían deberse en parte al resultado de diferentes métodos de muestreo para describir las faunas locales. El método de muestreo mediante la CPET probablemente podría influir en estos hallazgos, ya que permite muestrear múltiples microhábitats en los que se pueden encontrar no solo taxones epilíticos o bentónicos sino también taxones que se encuentran en el sustrato más profundo, en troncos (organismos xilófagos) o macrófitas sumergidas, asociados a macrófitas flotantes, entre otros microhábitats (WILSON, 1994; FERRINGTON *et al.*, 1991; COFFMAN & DE LA ROSA, 1998).

Por otro lado, el presente estudio nos permite extender hacia el sur la distribución de los géneros *Einfeldia* Kieffer, *Aedokritus* Roback y *Metapelopia* Silva *et al.*, siendo los dos últimos géneros endémicos de América del Sur y de las especies *Goeldichironomus maculatus*, *Paratanytarsus grimmi* y *P. corbi*, conocidas previamente para Brasil; y la especie *Pseudochironomus viridis* (Kieffer), previamente registrada en Perú y la región centro de Argentina (ROBACK, 1960; PAGGI & RODRÍGUEZ GARAY, 2015).

Los análisis de similitud realizados en el presente estudio demostraron que los arroyos no difieren significativamente en cuanto a la composición de especies. Asimismo, los análisis no detectaron diferencias significativas en relación con la mayor parte de las variables ambientales excepto, conductividad, transparencia, velocidad de corriente, fosfato y cobertura de macrófitas. Sin embargo, los valores registrados para estas variables no generan grupos separables, por lo que se interpretan como una variabilidad interna de los arroyos estudiados.

3.4.2. Fenología y voltinismo de Chironomidae

En la región Neotropical existen contribuciones sobre la diversidad y fenología de Chironomidae. Siguiendo la clasificación biogeográfica de ASHE *et al.* (1987); los trabajos de SIQUEIRA *et al.* (2008), MESTRE *et al.* (2018), y el presente estudio son representativos de fauna tropical-subtropical, en tanto que el de GARCÍA & AÑÓN SUÁREZ (2007) representa la fauna andino-patagónica. Los arroyos pampeanos en estudio estuvieron dominados por especies de Chironominae. Según PINDER (1995), las especies de Chironominae están adaptadas a vivir en sedimentos blandos y son capaces de tolerar las temperaturas más altas y, en ocasiones, bajas concentraciones de oxígeno como las que se registran en ríos

de tierras bajas. Los arroyos de la región en estudio presentan estas características. Por otro lado, THIENEMANN (1954) y REISS & KOHMANN (1982) concuerdan con la generalización de que, en las regiones templadas, Chironominae representan aproximadamente el 50% del número total de especies en los ríos de tierras bajas, en tanto que aproximadamente el 30% son Orthocladiinae.

ASHE *et al.* (1987) proponen como regla general que, desde las regiones polares al ecuador (es decir, latitudes altas a latitudes bajas) o de las montañas a las tierras bajas (es decir, de altitudes altas a bajas) aumenta la diversidad y el número de especímenes de Chironominae y Tanypodinae con una disminución de Orthocladiinae, Podonominae, Diamesinae y Prodiamesinae. Esta regla es un reflejo de las adaptaciones de las principales subfamilias a características ambientales tales como: concentración de oxígeno, temperatura del agua, clima, altitud, velocidad de corriente, etc.

Siguiendo a COFFMAN (1973), el voltinismo en quironómidos puede determinarse utilizando los registros anuales de emergencia de especies, por lo tanto, los picos principales de abundancia de exuvias pueden reflejar el número de generaciones. En el presente estudio, las fluctuaciones en la emergencia indicaron principalmente la presencia de especies univoltinas, y en menor proporción bivoltinas y multivoltinas. Las especies univoltinas y multivoltinas correspondieron mayormente a la subfamilia Chironominae, en tanto que en las bivoltinas, los representantes de Chironominae y Tanypodinae estuvieron igualmente representados. En Orthocladiinae todas sus especies presentaron ciclos univoltinos. Resultados similares se obtuvieron en ambientes leníticos del sistema del río Paraná, donde los quironómidos dominantes (Chironominae y Tanypodinae) presentan ciclos de vida en general multivoltinos y con un mayor número de generaciones durante las estaciones del año con promedio de temperaturas más altos (ZILLI, 2010). En ambientes templados fríos con presencia de ciclos principalmente univoltinos, la emergencia de insectos ocurre durante el corto período estival (BUTLER, 1982), mientras que en ambientes cálidos con predominancia de ciclos multivoltinos y superposición de generaciones (BENKE & JACOBI, 1994), los períodos de emergencia son más prolongados (TOKESHI, 1995; STAGLIANO *et al.*, 1998; SONODA & TRIVINHO-STRIXINO, 2000).

En términos de diferencias entre las subfamilias, TOKESHI (1995) observó que Orthocladiinae parece incluir más especies multivoltina que Chironominae. En contraste,

Chironominae parece abarcar una mayor proporción de especies uni y bivoltinas. Por otro lado, los representantes de Orthocladiinae son en general considerados adaptados al frío, en tanto que los Chironominae están en general adaptados a temperaturas cálidas (FERRINGTON, 2008). A partir de esta información se puede sugerir que las especies de Orthocladiinae son capaces de un rápido desarrollo y, por lo tanto, ciclos de vida más cortos bajo clima templado. Sin embargo, esto puede ser simplemente un reflejo del sesgo por el mayor número de estudios realizados en hábitats templados, en contraposición de las investigaciones con especies subtropicales y tropicales, que parecen estar dominadas por los Chironominae. En contraste con los Orthocladiinae y Chironominae, las especies de Tanypodinae tienen un voltinismo más variado, de una a tres generaciones por año (TOKESHI, 1995).

Debido a que los insectos son organismos ectotérmicos, sus ciclos de vida se ven fuertemente afectados por la temperatura ambiental, la lluvia y el fotoperíodo (VALTONEN *et al.*, 2013, BONAL *et al.*, 2015). Estos factores pueden verse modificados por el calentamiento global, afectando la fenología de estos insectos (FORREST, 2016). Un mayor número de días cálidos estaría permitiendo que muchas poblaciones de insectos completen más generaciones por año de las que solían ser posibles en el pasado. Aunque aún se requieren más estudios, la CPET podría usarse para observar posibles cambios en los ciclos de vida de las especies asociado a un aumento en la temperatura, lo que favorecería el desarrollo de especies multivoltinas en lugar de las especies uni y bivoltina (ALTERMATT, 2010; PÖYRY, *et al.* 2011).

Algunas especies univoltinas presentaron su pico de emergencia en diferentes estaciones del año, a pesar de las cortas distancias que separan los arroyos de la región Tributarios del Paraná y Río de la Plata. Esto podría estar relacionado con las diferencias de algunas variables ambientales entre arroyos como DQO, conductividad, profundidad, transparencia, P-PO₄, velocidad de la corriente y porcentaje de cobertura de macrófitas y su influencia en la emergencia del adulto.

La imposibilidad de realizar los muestreos correspondientes a los meses de febrero y julio debido a las altas precipitaciones resultó una limitante para el estudio del voltinismo. Estos meses no fueron continuos, correspondieron al verano (febrero) y un mes de invierno (julio). Si bien los resultados podrían estar levemente modificados, debe tenerse en cuenta

que las especies presentan ciclos asincrónicos (CORBET, 1964), es decir que no emergen todas juntas al mismo tiempo, sino que su emergencia puede abarcar más de un periodo. Es por ello que, si bien los picos podrían darse en los meses faltantes, en los meses anteriores ya debería registrarse un incremento en la densidad de exuvias dando indicio de un pico en las emergencias.

El término voltinismo facultativo se introduce en este estudio para describir una superposición de curvas en los gráficos. Esto puede deberse a la superposición de generaciones o cambios ambientales que proporcionan condiciones favorables durante más tiempo, registrando otros picos de emergencia con densidades más bajas. El área de estudio se caracteriza por presentar días cálidos en las estaciones invernales que podrían permitir la emergencia cuando las condiciones climáticas se encuentran dentro del rango de tolerancias de las especies.

En relación con los resultados obtenidos, se corrobora la hipótesis planteada (H_1). En este sentido, el tiempo de desarrollo y emergencia en los quironómidos está determinado por las condiciones ambientales y las respuestas específicas de las especies a estos factores. En el presente estudio, la estructuración de los ensambles de Chironomidae, estuvo determinada por variables estacionales como las precipitaciones, el fotoperiodo y la temperatura del agua y del aire. Estas variables fluctúan estacionalmente, actuando como señales exógenas que operan sobre la larva y la pupa, afectando el ritmo de desarrollo y el tiempo de la historia de vida en los quironómidos (TOKESHI, 1995; DANKS, 2007). Asimismo, se pudo observar cómo estas variables influyen en los ciclos de vida, registrándose que Chironominae emerge principalmente en primavera-verano y Orthocladiinae en los períodos más fríos (Fig. 3.4).

De las anteriormente mencionadas, la temperatura del agua es una de las variables ambientales más influyentes, ya que desempeña un papel clave en el control del metabolismo, el crecimiento y el desarrollo, el voltinismo y el comportamiento (ARMITAGE, 1995; MCKIE *et al.*, 2004; LENCIONI *et al.* 2008). En el estudio de la relación entre los picos de emergencia de Chironomidae para ambientes lóticos reportada por COFFMAN (1973), se observó que el comienzo de la emergencia de Orthocladiinae estuvo asociado con el aumento de la temperatura del agua a principios de la primavera. Por otro lado, este autor reportó que los picos de emergencia de Chironominae (Chironomini y Tanytarsini) y

Tanypodinae se observaron en verano, cuando la temperatura del agua alcanzó los valores anuales máximos. Varios autores reportaron que las especies exhiben alteraciones en la fenología como resultado del calentamiento global ambiental, incluidos momentos de emergencia más tempranos (KEARNEY *et al.*, 2010; THACKERAY *et al.*, 2010). Es por esto, que la distribución de una amplia gama de grupos taxonómicos está cambiando en elevación o expandiéndose hacia los polos en respuesta al calentamiento (COLWELL *et al.*, 2008; CHEN *et al.*, 2011).

El fotoperíodo también actúa sobre la diapausa larval y, junto con la temperatura, pueden determinar el momento de la emergencia (ARMITAGE, 1995). El aumento de la temperatura y el fotoperíodo se asocian con el inicio de la primavera, por lo que cuando los grados/días acumulados alcanzan su umbral específico, los quironómidos logran completar su desarrollo (MUNDIE, 1957).

En este estudio se encontraron correlaciones negativas entre las diferentes subfamilias con los nutrientes. Si bien el P y N son los nutrientes primarios que limitan la actividad biológica dentro de los ecosistemas lóticos (ALLAN & CASTILLO, 2007), cuando estos nutrientes superan el umbral límite afectan principalmente a las especies más sensibles (MERRIT *et al.*, 2008).

El estudio de los ciclos de vida nos ofrece información importante no solo de la autoecología de las especies, sino que permite analizar la respuesta del desarrollo, emergencia y producción a los posibles impactos del cambio climático, una problemática mundial que se viene acrecentando en los últimos años. Los insectos pueden responder al cambio climático modificando su rango geográfico, o pueden adaptarse a través de una fenología alterada como cambios en la emergencia que puede ocurrir antes o después, en las etapas de la vida que ocurren en diferentes momentos o el aumento del número de generaciones por año. Estos cambios pueden conducir a nuevas interacciones y modificaciones en la estructura de la comunidad. El cambio climático afectará a los insectos debido a su dependencia con la temperatura ambiental para controlar sus funciones fisiológicas (MARAN & PELINI, 2016). Por lo tanto, conocer la fenología y el voltinismo de las especies de Chironomidae nos permitirá predecir las respuestas de estos insectos al cambio climático, mejorando nuestra comprensión acerca de cómo podrían ser los cambios que afectarían a los ecosistemas y en la medida de lo posible sobre su magnitud.

A partir de los resultados obtenidos en el presente estudio, se realizan los primeros aportes sobre la composición, estructura y fenología del ensamble a partir del estudio de las exuvias de Chironomidae de arroyos de la región Tributarios del Paraná y Río de la Plata. Mediante las determinaciones realizadas se obtuvo la composición de las especies, ampliando la lista sistemática actual para la región. Por otra parte, a partir de los picos de emergencia registrados, se pudo conocer el voltinismo y las características fenológicas de la comunidad de quironómidos de arroyos pampeanos de primer orden. Por otro lado, se pudo precisar que las variables ambientales que estructuran la emergencia de Chironomidae en la región de estudio son principalmente las precipitaciones, el fotoperiodo y la temperatura del agua y aire, determinando la fenología y el voltinismo de las especies en el periodo analizado.

CAPÍTULO 4:



Bioindicación

4.1. INTRODUCCIÓN

La alta densidad poblacional concentrada en los asentamientos urbanos genera una fuerte presión sobre los recursos de áreas que exceden sus propios límites (COLLINS *et al.*, 2000). Tradicionalmente, los ecosistemas urbanos se han visto como la antítesis de los naturales. La urbanización está asociada con la alteración de las propiedades físicas y químicas del ambiente como consecuencia de la degradación, la fragmentación y el reemplazo de los hábitats naturales, la impermeabilización de los suelos, la alteración de la composición del agua, el aire y el suelo por emanación de residuos contaminantes. El aumento de la cobertura impermeable cambia la hidrología con eventos de flujo frecuentes e importantes, mientras que las escorrentías aumentan la concentración de sedimentos, nutrientes y contaminantes químicos en los ecosistemas lóticos. Como fue mencionado, la combinación de estos cambios crea el "síndrome del flujo urbano", que conduce a una baja diversidad biótica y una estructura comunitaria alterada (MEYER *et al.*, 2005; PAUL & MEYER, 2001; WALSH *et al.*, 2005).

Inevitablemente, los cambios ambientales inducidos por el proceso de urbanización impactan sobre la biodiversidad (TARSITANO, 2006; MCKINNEY, 2008). En general, la urbanización afecta negativamente a las comunidades acuáticas (HOUGH, 1995; DOW & DEWALLE, 2000). Conceptualmente, las comunidades tienen una estructura definida por una serie de atributos que permiten caracterizarla, tales como la riqueza, la equitatividad y la diversidad (medida de heterogeneidad que integra la riqueza y la equitatividad) (MAGURRAN, 2004). Específicamente, la urbanización es una de las principales actividades humanas que producen homogeneización de la biota (MCKINNEY, 2006).

La información relacionada con la abundancia absoluta o relativa de cada especie también es relevante para analizar los cambios de la biodiversidad en respuesta a la urbanización (SMITH *et al.*, 2006). PAUL & MEYER (2001) señalaron que la respuesta de la abundancia y riqueza de invertebrados de arroyos es dependiente del factor ambiental modificado que prevalece. Así, la abundancia disminuye en respuesta a la concentración de toxinas y sedimentos, y la riqueza al aumentar la cobertura impermeable, la descarga total de efluentes, y la densidad de viviendas y de población humana. En general, los estudios de casos individuales sugieren que la urbanización resulta en una reducción de la

riqueza y la abundancia de taxones intolerantes, y que las áreas urbanas se caracterizan por ensamblajes pobres en especies, compuestos por taxones tolerantes a perturbaciones (ALLAN, 2004; WALSH *et al.*, 2005; CUFFNEY *et al.*, 2010).

Los ríos y arroyos pampeanos que atraviesan zonas urbanas e industriales que han crecido sin planeamiento, resultan afectados por el deterioro de la calidad del agua debido a que la mayoría de los efluentes cloacales e industriales se vuelcan sin tratamiento previo. Estas diversas presiones provocan un estado ecológico pobre o malo en estos ambientes (GÓMEZ & LICURSI, 2001; GÓMEZ & RODRIGUES CAPÍTULO, 2001; BAUER *et al.*, 2002; GÓMEZ *et al.*, 2003; SALIBIÁN, 2006).

Los quironómidos son generalmente reconocidos como grupo tolerante a la contaminación (CHESSMAN, 1995). Sin embargo, a nivel de subfamilias, se ha observado que estas tienen diferentes niveles de sensibilidad a la contaminación orgánica (CHESSMAN, 2003). Algunos géneros o especies habitan aguas con buena calidad, mientras que otros son capaces de habitar en aguas de calidad pobre (EPLER, 2001). Esto se debe a la alta riqueza y abundancia de especies en los ambientes loticos, lo que representa una ventaja al ofrecer un amplio espectro de posibles respuestas al estrés ambiental (ROSENBERG, 1992). A pesar de su importancia como bioindicador en aguas continentales, solo unos pocos estudios han examinado la variabilidad de la composición taxonómica de los conjuntos de especies de Chironomidae en regiones templadas o tropicales en relación con los cambios en las variables ambientales (COFFMAN & DE LA ROSA 1998; FERRINGTON *et al.*, 2009).

Cuando se utilizan organismos como indicadores de las condiciones ambientales, es muy útil conocer los datos autoecológicos para una mejor interpretación de la distribución y la presencia/ausencia de diferentes taxones en diferentes entornos (CLARKE *et al.*, 2006). Una forma de conocer los requerimientos ecológicos es analizar previamente cual es el óptimo para el desarrollo bajo ciertas variables ambientales (VERBITSKY & VERBITSKAYA, 2007). Sin embargo, en los ecosistemas naturales, el óptimo ecológico incluye no solo un valor de punto único, sino también las variaciones de la variable ambiental alrededor de este valor. Para cada variable ambiental hay un límite inferior y superior, dentro del cual

es más probable que el taxón sobreviva. Estos límites constituyen el rango de tolerancia del taxón (SMITH & SMITH, 2009; CRISTÓBAL *et al.*, 2014).

En el presente capítulo se trabajó sobre los objetivos 3) definir patrones de distribución de Chironomidae y caracterizar a los ambientes con relación a los taxones dominantes y a sus características fisicoquímicas. 4) Determinar los posibles ensambles de exuvias pupales de Chironomidae como indicadores de calidad de agua.

Para abordar estos objetivos se plantearon las siguientes hipótesis:

- **H₂:** La aplicación de la Técnica de Exuvias Pupales de Chironomidae constituye una herramienta eficiente para evaluar la calidad de aguas de los arroyos pampásicos a partir de ensambles característicos.
- **H₃:** El uso de suelo urbano homogeneiza los ensambles de Chironomidae en arroyos pampásicos, generando la disminución de la diversidad y la dominancia de los taxones tolerantes.

4.2. MATERIALES Y MÉTODOS

4.2.1. Área de estudio

El área estudiada se sitúa en el noreste de la provincia de Buenos Aires y se describe en detalle en el Capítulo 2. Para cumplir con los objetivos planteados, se seleccionaron arroyos que muestran bajos niveles de perturbación, como el arroyo El Pescado, el arroyo Cajaravilla (tributario del arroyo El Pescado, representante de la cuenca media del A° El Pescado) y el arroyo Juan Blanco, ubicados en el partido de Magdalena (Fig. 4.1). Por otro lado, como sitios con uso de suelo urbano se seleccionaron los arroyos Rodríguez y Carnaval ubicados en el partido de La Plata. Como fue mencionado, estos arroyos drenan sobre las localidades de City Bell y Villa Elisa, estando la mayor parte de la población concentrada en su tramo medio. En su curso, además de recibir residuos domiciliarios, también reciben efluentes de distintas industrias (plástica, embotelladora, química, matadero y frigorífico) instaladas en sus márgenes.

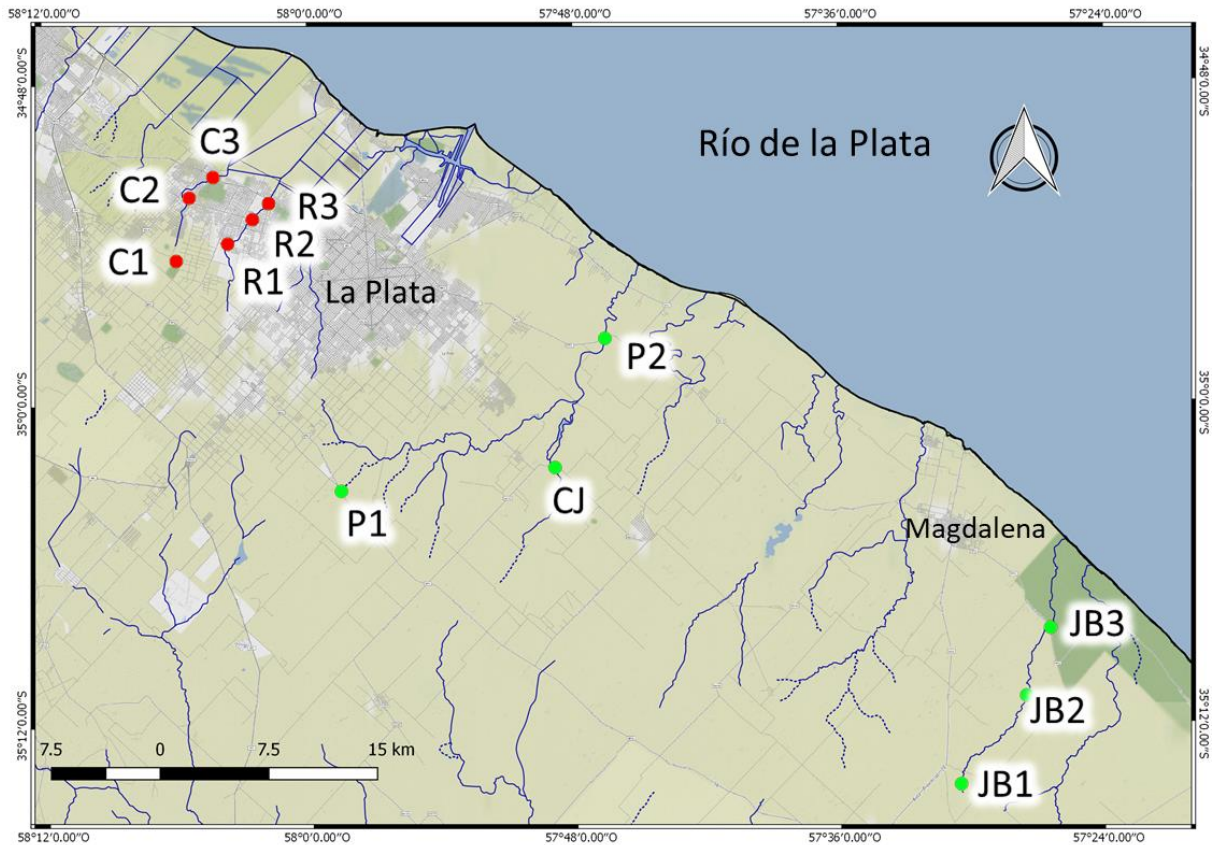


Figura 4.1. Mapa de la provincia de Buenos Aires indicando los puntos de muestreos. Arroyos de referencia (verde): **P**: A° El Pescado, **CJ**: A° Cajaravilla (tributario de A° El Pescado), **JB**: A° Juan Blanco. Arroyos con uso Urbano (rojo): **C**: A° Carnaval, **R**: A° Rodríguez.

4.2.2. Muestreo de exuvias pupales

El muestreo se realizó durante las cuatro estaciones del año, y durante dos años consecutivos (2016-2018). Se siguió con la metodología de campo y laboratorio desarrollada en el Capítulo 2 (sección 2.2.2). En total, se recolectaron, procesaron y analizaron 288 muestras para el análisis de especies indicadoras (4 arroyos/ 3 sitios por arroyo/ 3 réplicas por sitio/ 4 estaciones del año/ 2 años) (Fig. 2.2).

4.2.3. Análisis de datos

Se calculó para cada réplica la densidad de exuvias (N° exuvias.m⁻²), riqueza taxonómica (S), índice de diversidad de Shannon-Wiener (H') e índice de equitabilidad J' (H'/H_{max}), mediante el programa estadístico PAST 3.0 (HAMMER *et al.*, 2001).

Se realizó un ANOVA simple con un nivel de significancia del 5% ($p < 0,05$), para analizar las diferencias entre los años (2 niveles), las estaciones del año (4 niveles), los diferentes arroyos (4 niveles), los tramos del arroyo (3 niveles) y los diferentes sitios (12 niveles) de los atributos estructurales de las especies (control vs uso urbano) y, por otro lado, entre las variables fisicoquímicas e hidráulicas de los sitios (control vs uso urbano). Los valores de densidad y riqueza por ser datos de conteo fueron transformados aplicando la raíz cuadrada. Se llevó a cabo la prueba de Bartlett para evaluar la homogeneidad de la varianza para cada una de las variables. Debido a que las variables no cumplían con el supuesto, se procedió con el análisis no paramétrico de Kruskal-Wallis. Para este análisis se utilizó el software R a través del paquete *agricolae* (DE MENDIBURU, 2019).

Con el fin de explorar la composición específica en relación con las variables ambientales se utilizaron métodos directos de ordenación. Para reconocer si el modelo de respuesta de las especies era lineal o unimodal se realizaron Análisis de Correspondencia (Análisis de Correspondencia Detendenciado, ACD) preliminares. Los datos de densidad fueron transformados logarítmicamente (TER BRAAK & SMILAUER, 1998). La elección del modelo de respuesta lineal (RDA) o unimodal (CCA) se puede realizar en base a la longitud del gradiente, siendo corto para el modelo lineal y largo para el unimodal. La longitud del gradiente, medido en unidades SD a lo largo del primer eje de ordenación, puede ser calculada a través del ACD. TER BRAAK & SMILAUER (1998) recomiendan usar como límite un valor de ≤ 4 SD para distribuciones lineales y ≥ 4 para unimodal. Los datos de las variables ambientales fueron estandarizados aplicando logaritmo en base 10 (\log_{10}) (TER BRAAK, 1986). De todas las variables ambientales se seleccionaron aquéllas que independientemente explicaron una variación de los datos de las especies con un nivel de significación de $p < 0,05$. Se realizó una prueba de permutaciones de Monte Carlo con 499 permutaciones no restringidas para averiguar la significación del único eje condicionado por esta variable. Mediante el mismo procedimiento fueron testeadas la significación global de la ordenación y en particular la del primer eje. Se aceptó un factor de inflación de la varianza para todas las variables < 20 ya que un valor superior indica alta multicolinealidad entre variables y desestabiliza la ordenación (TER BRAAK, 1986; TER BRAAK & SMILAUER, 1998).

Los análisis de ordenación se llevaron a cabo mediante el programa CANOCO para Windows, versión 4.5.

El coeficiente de concordancia (W) de Kendall (LEGENDRE, 2005) se utilizó para identificar grupos de especies significativamente asociados en el periodo de estudio. Este coeficiente es una medida de la competencia entre varios "jueces" que están evaluando un conjunto dado de objetos (LEGENDRE, 2005). En nuestro caso, los "jueces" son las especies de quironómidos. Para eliminar a las especies raras se seleccionaron las especies con una abundancia relativa $>0,01\%$, quedando un total de 24 especies para el análisis. Primero, se llevó a cabo una prueba global general de independencia utilizando la abundancia transformada por Hellinger de todas las especies recolectadas. Al rechazarse la hipótesis nula, se buscaron grupos de especies correlacionadas mediante el análisis Calinski-Harabasz (CALINSKI & HARABASZ, 1974), que identifica el número posibles de grupos óptimos. Además, se calculó una matriz de correlación de Spearman entre los vectores de especies transformados por Hellinger. Las correlaciones de Spearman se interpretaron como índices de similitud entre las especies y se utilizaron en el agrupamiento aglomerante de Ward. Dentro de cada grupo, se comprobó la contribución de cada especie a la estadística general, utilizando una prueba de permutación. Los análisis se realizaron utilizando el programa R disponible en la biblioteca *vegan* (OKSANEN *et al.*, 2005).

Como medida para calcular el valor numérico de asociación de las especies de Chironomidae y las variables ambientales, se empleó el índice de Valor Indicador (IndVal) (DUFRÊNE Y LEGENDRE, 1997). Este se basa en el grado de especificidad (exclusividad de la especie a un sitio particular con base en su abundancia), y el grado de fidelidad (frecuencia de ocurrencia dentro del mismo hábitat) (TEJEDA-CRUZ *et al.*, 2008), expresados en un valor porcentual. Los análisis se realizaron mediante el paquete *labsdv* (ROBERTS, 2016) mediante el software R (versión 3.6.3), utilizando 1000 permutaciones aleatorias para definir el nivel de significancia. El análisis se realizó sobre el $\log_{10}(x+1)$ de la matriz de densidad. Para la interpretación de este índice se estableció $p < 0,05$ como valor significativo. Las especies con un índice igual o superior a 50% se categorizaron como especies "indicadoras", mientras que las especies con valor menor a 50% se consideraron especies "detectoras". Las especies indicadoras, se definen como aquellas especies con

una alta especificidad y fidelidad a un hábitat determinado y por lo tanto un alto porcentaje del IndVal; en cambio, las especies detectoras presentan niveles moderados de especificidad y tienen diferentes grados de preferencia por diferentes estados ecológicos (DUFRÊNE Y LEGENDRE, 1997; MCGEOCH *et al.*, 2002; TEJEDA-CRUZ *et al.*, 2008).

El análisis de curvas ROC (características operativas de recepción) es una herramienta útil con múltiples ventajas pero que apenas se utiliza en el campo de la bioindicación (DOS SANTOS *et al.*, 2011; MOLINERI *et al.*, 2020). Esta metodología se puede utilizar para comparar la eficiencia de una métrica (ej.: un índice de contaminación, la presencia o diversidad de un taxón, etc.), para identificar umbrales de decisión (valores de corte) para esos índices y analizar la respuesta de diferentes índices a niveles crecientes de perturbación (DOS SANTOS *et al.*, 2011). Básicamente, el biomonitoreo tiene como objetivo determinar si un curso de agua determinado debe considerarse, usando solo dos categorías, perturbado o no perturbado. Las curvas ROC permiten obtener predicciones binarias mediante un punto de corte. La elección de un punto de corte es arbitraria y a medida que cambia el punto de corte la especificidad y la sensibilidad cambian (OBUCHOWSKI, 2003). Una alternativa es explorar el rango completo de valores, calculando para cada posible punto de corte el respectivo par de sensibilidad/ especificidad. La curva empírica ROC es la visualización gráfica de todos esos pares conectados por líneas de segmento, con la sensibilidad en el eje x y 1 - especificidad en el eje y. El gráfico ROC representa las compensaciones entre sensibilidad y especificidad, asumiendo que son igualmente importantes. De esta manera, la decisión del umbral se basa en el punto más cercano a la esquina superior izquierda de la gráfica ROC. Este criterio se basa en el hecho de que el punto mejor posicionado en el espacio ROC es (0, 1); así que cuanto más cerca esté un punto de esta esquina, mayor será su rendimiento. Dada la curva ROC, el área bajo la curva (AUC) mide su rendimiento diagnóstico general. Debido a que el AUC es una parte del área del cuadrado de la unidad, su valor siempre estará entre 0 y 1. Sin embargo, debido a que la suposición aleatoria está asociada a la diagonal de probabilidad con $AUC = 0.5$, ningún clasificador realista debería tener un $AUC < 0.5$ (FAWCETT, 2006). Los análisis ROC se realizaron en el programa R con el paquete *pROC* (ROBIN *et al.*, 2011), siguiendo el procedimiento descrito en DOS SANTOS *et al.* (2011). Se utilizaron dos tipos de

métricas para realizar análisis ROC: 1) densidad de especies a partir de una matriz de incidencia y 2) valores de riqueza (número de morfoespecies por subfamilia). Por lo tanto, se obtuvieron dos tipos de valores de corte para reconocer sitios contaminados: la densidad de exuvias y el número de morfoespecies de cada grupo de subfamilia.

El paquete *optimos.prime* (SATHICQ *et al.*, 2020), fue aplicado debido a que permite el cálculo del óptimo y el rango de tolerancia para las variables ambientales, utilizado para su cálculo el promedio ponderado, el número de ocurrencias para ajustar la tolerancia asignada a cada taxón para estimar los valores óptimos y el rango de tolerancia en los casos en que los taxones tienen ocurrencias desiguales (BIRKS *et al.*, 1990). Para el cálculo de óptimos y tolerancias se incluyeron los datos tomados en los dos años de muestreo, se utilizó el $\log_{10}(x+1)$ de los datos ambientales y la abundancia relativa de cada especie en cada muestra.

4.3. RESULTADOS

El recuento total para todos los sitios analizados fue de 107676 exuvias pupales, incluyendo un total de 32 géneros y 54 especies, pertenecientes a tres subfamilias. La composición genérica de las subfamilias de quironómidos consistió en 16 géneros de Chironominae, 10 de Orthoclaadiinae y 6 de Tanypodinae. En cuanto al total de especies, 27 pertenecieron a la subfamilia Chironominae, 14 a Tanypodinae y 13 a Orthoclaadiinae (Tabla 5.1). La riqueza de especies para cada sitio y en las diferentes fechas osciló entre 1 y 19. La densidad en los arroyos de referencia varió entre 0 y 156,51 exuvias.m⁻², con una dominancia de *Cricotopus* sp.2, *Parachironomus* sp.2 y *Rheotanytarsus* sp.1. En los arroyos urbanos la densidad osciló entre 0 y 203,5 exuvias.m⁻² y las especies predominantes fueron *Chironomus calligraphus*, *Cricotopus* sp.1 los cuales representaron el 92%.

Tabla 4.1- Lista sistemática de Chironomidae recolectados en arroyos pampeanos, ubicados al NE de la provincia de Buenos Aires, estacionalmente durante el periodo 2016-2018. Los valores corresponden a la densidad media de exuvia (N° exuvias.m⁻²) recolectadas en cada tramo de los arroyos. Se incluyen abreviaturas utilizadas en las tablas y figuras.

TAXA	ARROYOS DE REFERENCIA						ARROYOS CON USO URBANO					
	A° Juan Blanco			A° Pescado			A° Carnaval			A° Rodríguez		
	JB1	JB2	JB3	P1	CJ	P2	C1	C2	C3	R1	R2	R3
Chironominae												
Chironomini												
<i>Apedilum elachistus</i> (Aelach)								0,001	0,041			
<i>Axarus</i> sp. (Axarus)			0,004			0,007						
<i>Chironomus calligraphus</i> (Ccallig)	0,002	0,067	0,089	0,289	0,004	0,010	0,024	0,816	0,149	57,357	29,256	20,551
<i>Cryptochironomus</i> sp.1 (Crypto1)						0,012						
<i>Cryptochironomus</i> sp.2 (Crypto2)			0,008			0,003						
<i>Dicrotendipes embalsensis</i> (Dembal)			0,007						0,007	0,025	0,027	0,290
<i>Dicrotendipes nestori</i> (Dnest)	0,002	0,367	0,053	0,054	0,007	0,440	0,003	0,001	0,002			
<i>Einfeldia</i> sp. (Einf)			0,026			1,192		0,001				
<i>Goeldichironomus maculatus</i> (Gmacul)				0,004	0,004		0,018	0,001		0,008	0,003	
<i>Goeldichironomus</i> sp.1 (Goeldi1)			0,008	0,099		0,003	0,008	0,002	0,002	0,003	0,005	0,017
<i>Parachironomus longistilus</i> (Plong)		0,661	0,765	0,021		0,064	0,001	0,021	0,039			
<i>Parachironomus</i> sp.2 (Parach2)	0,013	0,033	2,229	0,163	0,042	0,925	0,026	0,506	0,054		0,010	
<i>Paralauterborniela</i> sp. (Paralau)			0,050			0,014						
<i>Polypedilum</i> sp.A (PolyA)		0,022	0,044	0,003		0,821						
<i>Polypedilum</i> sp.B (PolyB)	0,002		0,060	0,010	0,026	0,119	0,061	1,656	0,144		0,003	0,008
<i>Polypedilum</i> sp.D (PolyD)			0,003			0,001						
<i>Polypedilum</i> sp.E (PolyE)				0,001								
<i>Polypedilum</i> sp.F (PolyF)	0,017			0,014					0,002			
Chironomini indeterminado #2 (Chiro2)			0,006	0,008		0,001						
Chironomini indeterminado #3 (Chiro3)			0,004	0,001		0,003						

Pseudochironomini

Pseudochironomus viridis (Pvirid) 0,019

Tanytarsini

Paratanytarsus grimmii (Pgrim) 0,002 0,189 0,603 0,012 0,012 0,002 0,006
Rheotanytarsus sp.1 (Rheo1) 0,004 0,147 3,344 0,006 0,219 5,494 0,101 1,063 0,069 0,001
Tanytarsus alatus (Talatus) 0,002 0,022 0,435 0,003 0,007 0,221 0,033 0,739 0,037
Tanytarsus sp.2 (Tanyt2) 0,011 0,001 0,004 0,001
Tanytarsus sp.3 (Tanyt3) 0,113 0,003 0,004 0,001 0,004
Tanytarsus sp.5 (Tanyt5) 0,001

Orthoclaadiinae

Corynoneurini

Corynoneura sp. (Cory) 0,422 0,045 0,001 0,010 0,037
Thienemanniella liae (Tliae) 0,028 0,003 1,112 0,013 0,096 0,061
Thienemanniella sp.2 (Thiene2) 0,031 1,311 1,117 2,544

Metriocnemini

Allocladius neobilobulatus (Aneob) 0,037 0,136 0,006 0,001 0,002 0,003
Limnophyes natalensis (Lnatal) 0,006 0,003 0,003 0,001 0,022 0,009
Metriocnemus fasciventris (Mfasc) 0,002
Parametriocnemus cf. *ludbecky* (Pludb) 0,003
Pseudosmittia sp. (Pseud) 0,003 0,001 0,001
 Metriocnemini indeterminado #1 (Metrioc1) 0,004 0,060

Orthoclaadiini

Cricotopus sp.1 (Crico1) 0,001 0,008 0,113 0,241 0,320 0,346 0,789 7,551
Cricotopus sp.2 (Crico2) 1,303 0,003 0,481 0,006 0,005 0,035

<i>Cricotopus</i> sp.3 (Crico3)	0,003		0,067	0,026					
<i>Nanocladius</i> sp. (Nanocl)		0,007	0,006	0,013	0,027				

Tanypodinae

Clinotanypodini

<i>Coelotanypus</i> sp. (Coelot)	0,001	0,001							
----------------------------------	-------	-------	--	--	--	--	--	--	--

Pentaneurini

<i>Ablabesmyia</i> cf. <i>fusasia</i> (Afus)	0,025			0,122		0,001			
<i>Ablabesmyia</i> sp.1 (Ablab1)	0,013	0,001		0,003			0,002		
<i>Ablabesmyia</i> sp.2 (Ablab2)				0,001					
<i>Labrundinia</i> cf. <i>fiorelinii</i> (Lfior)		0,004						0,004	
<i>Labrundinia</i> sp.1 (Labrun1)	0,002	0,015	0,004				0,075	0,009	
<i>Labrundinia</i> sp.2 (Labrun2)		0,003	0,008	0,011	0,014	0,075	0,077	0,005	
<i>Larsia</i> sp.1 (Larsia1)		0,021	0,003						
<i>Larsia</i> sp.2 (Larsia2)			0,003						
<i>Larsia</i> sp.3 (Larsia3)	0,013							0,001	
<i>Monopelopia</i> cf. <i>adelie</i> (Madel)	0,006	0,022	0,044					0,001	
<i>Monopelopia</i> cf. <i>paranaense</i> (Mparan)		0,004		0,001					

Tanypodini

<i>Tanypus</i> cf. <i>urzulae</i> (Turzul)			0,003		0,004				
<i>Tanypus</i> sp. (Tanyp)	0,006	0,007	0,022	0,004	0,039		0,006	0,011	0,006
							0,006	0,003	0,001

Al analizar los atributos estructurales del ensamble (Tabla 4.2) se observa que en todas las métricas los tramos de los arroyos con los mayores valores fueron el medio e inferior. Los sitios C2-P2-JB3 presentaron mayor riqueza, diversidad y equitatividad y el A° Rodríguez presentó la mayor abundancia (dominada por *Chironomus calligraphus*). Respecto del análisis temporal, en primavera se observaron los valores más altos de los atributos. Finalmente, no hubo diferencias significativas de los atributos estructurales entre los dos años de muestreo.

Tabla 4.2. Resultados del análisis de Kruskal-Wallis sobre los atributos estructurales de las especies de Chironomidae registradas en los arroyos en estudio. **H:** estadístico de la prueba de Kruskal-Wallis. **gl:** grados de libertad. Se presentan en color rojo los valores de p significativos ($p \leq 0,05$).

		Fuente de variación	gl	H	Valor-P
RIQUEZA	Año		1	2,52	0,113
	Estación		3	13,08	0,005
	Arroyos		3	14,48	0,002
	Tramo		2	39,95	2,10e-09
	Sitios		11	76,21	7,90e-12
DIVERSIDAD	Año		1	1,16	0,282
	Estación		3	20,92	0,0001
	Arroyos		3	24,88	1,64e-05
	Tramo		2	35,25	2,21e-08
	Sitios		11	78,24	3,22e-12
		Fuente de variación	gl	H	Valor-P
DENSIDAD	Año		1	0,16	0,686
	Estación		3	0,50	0,919
	Arroyos		3	92,94	0
	Tramo		2	5,14	0,077
	Sitios		11	112,99	0
EQUITATIVIDAD	Año		1	0,30	0,583
	Estación		3	22,31	5,63e-05
	Arroyos		3	12,67	0,005
	Tramo		2	25,56	2,81e-06
	Sitios		11	47,24	1,95e-06

Los valores de las variables fisicoquímicas e hidráulicas de los arroyos de referencia se encuentran dentro de los rangos usualmente registrados en los arroyos pampeanos de esta región (Tabla 4.3). Los arroyos con uso del suelo urbano presentaron mayor transparencia y velocidad de corriente, menores profundidades y porcentajes de cobertura vegetal. Asimismo, entre los arroyos urbanos se encontraron grandes diferencias, el A° Rodríguez presentó los valores más altos de conductividad, pH, PO₄, NO₃, NO₂, NH₄, DBO₅ y DQO. En cambio, el A° Carnaval presentó los valores más bajos en las variables anteriormente mencionadas, similares a los arroyos de referencia.

Tabla 4.3. Valores medios (máx.-mín.) de los parámetros fisicoquímicos e hidráulicos registrados en los sitios de estudios muestreados estacionalmente durante el periodo 2016-2018 en los diferentes arroyos.

	JB1	JB2	JB3	P1	CJ	P2	C1	C2	C3	R1	R2	R3
Conductividad (mS.cm⁻¹) (cond)	0,23 (0,07-1,17)	0,13 (0,1-0,15)	0,28 (0,14-0,58)	0,29 (0,16-0,52)	1,79 (0,45-8,74)	0,72 (0,51-1,12)	0,36 (0,17-0,69)	0,67 (0,44-0,91)	0,96 (0,77-1,1)	1,31 (1,14-1,45)	1,18 (0,98-1,6)	1,12 (0,98-1,22)
pH	6,76 (5,9-8,66)	6,78 (6-8,6)	7,10 (6-8)	6,66 (6-8,5)	7,22 (6,5-8,1)	7,16 (6-8,4)	7,14 (6,5-7,5)	7,109 (6,5-8)	6,93 (6-8)	7,15 (6,5-8)	7,12 (6,5-8,14)	7,33 (6,5-8,5)
Oxígeno disuelto (mg.l⁻¹) (OD)	9,53 (4,8-13,4)	9,1 (6,8-10,7)	7,58 (1,6-12,2)	7,35 (1,5-15,4)	7,51 (1,5-16,35)	7,17 (2,2-12,1)	9,75 (3,6-15,1)	7,22 (3,5-10,76)	8,02 (4,5-11,2)	5,15 (1,1-10,73)	7,21 (2,5-18,8)	7,95 (4,5-14,57)
Temperatura Agua (°C) (Tagua)	17,89 (12,9-27)	19,5 (16,1-21,3)	18,57 (9,7-25)	15,87 (7,1-21,8)	17,03 (7,5-27,5)	19,06 (10,9-25)	15,57 (11,9-18,8)	17,31 (12,8-21,6)	19,12 (14,9-21,1)	18,91 (14,4-22,8)	19 (12,7-23,3)	19,07 (14,5-22,5)
Profundidad (cm) (Prof)	26,56 (12-42)	11,2 (5-18)	69 (16-110)	50,63 (20-77)	67,65 (31-110)	62,17 (20-110)	16,87 (5-35)	46,92 (24-70)	37,95 (23-65)	32,25 (17-55)	25 (8-46)	27,75 (8-66)
Velocidad de corriente media (cm.seg⁻¹) (Vel)	0,006 (0-0,04)	0,04 (0-0,2)	0,003 (0-0,064)	0,023 (0-0,162)	1,45 (0,124-6)	0,43 (0,18-0,8)	0,13 (0-0,46)	0,002 (0-0,021)	0,1 (0-0,24)	0,48 (0,14-6,1)	0,21 (0,14-0,29)	0,12 (0,06-0,2)
Transparencia (cm) (Transp)	33,33 (28-42)	14,3 (10-18)	15,25 (10-22)	13,13 (9-18)	36,74 (20-60)	17,88 (5-75)	24,75 (9-35)	32,88 (15-52)	43,14 (31-55)	24,62 (11-40)	32,8 (25-46)	34,25 (20-49)
Cobertura de macrofitas (%) (Macrof)	92,17 (60-100)	96,3 (90-100)	35 (3-98)	59,79 (5-90)	93,75 (80-100)	5,29 (0-10)	15,12 (0-60)	79,75 (60-95)	15,71 (5-40)	3,75 (0-10)	1,29 (0-5)	21,04 (0-60)
P-PO₄ (mg P.l⁻¹)	0,324 (0,028-0,81)	0,075 (0,059-0,084)	0,101 (0,028-0,205)	0,474 (0,17-0,882)	0,277 (0,067-0,69)	0,288 (0,072-0,434)	0,699 (0,287-0,987)	0,522 (0,173-1,052)	0,414 (0,193-0,732)	2,346 (1,318-3,984)	2,4 (1,09-4,36)	2,394 (1,041-4,736)
N-NO₃ (mg N.l⁻¹)	0,038 (0,001-0,135)	0,048 (0,001-0,11)	0,073 (0,025-0,208)	0,077 (0,011-0,158)	0,135 (0,021-0,573)	0,056 (0,003-0,126)	0,503 (0,009-3,152)	0,682 (0,033-2,792)	1,153 (0,096-4,246)	0,544 (0,019-3,161)	0,716 (0,003-2,726)	0,771 (0,01-3,934)
N-NO₂ (mg N.l⁻¹)	0,016 (0,001-0,065)	0,012 (0,002-0,034)	0,012 (0,004-0,026)	0,04 (0,003-0,233)	0,028 (0,007-0,077)	0,019 (0,005-0,076)	0,029 (0,001-0,117)	0,059 (0,034-0,088)	0,071 (0,015-0,102)	0,279 (0,012-0,651)	0,434 (0,114-0,952)	0,555 (0,078-1,315)
N-NH₄ (mg N.l⁻¹)	0,027 (0,001-0,079)	0,012 (0,001-0,043)	0,075 (0,001-0,227)	0,043 (0,001-0,169)	0,068 (0,001-0,375)	0,026 (0,001-0,064)	0,031 (0,001-0,127)	0,136 (0,001-0,238)	0,085 (0,001-0,202)	1,433 (0,017-5,135)	1,878 (0,049-5,429)	1,831 (0,253-4,271)
DBO₅ (mg O₂. l⁻¹)	12,8 (1-25)	12,75 (3-25)	20,14 (3-33)	12,57 (4-19)	12,14 (6-23)	18,43 (4-38)	7,87 (1-19)	8,25 (2-12)	8,28 (1-14)	23 (4-37)	26,88 (17-58)	29 (8-45)
DQO (mg O₂. l⁻¹)	61 (7-93)	38 (6-66)	56,13 (7-80)	50,63 (18-76)	63,5 (10-167)	58,5 (14-96)	28,88 (11-53)	27 (21-50)	28,57 (15-67)	64,88 (33-93)	60,25 (37-82)	66,38 (40-107)

Tabla 4.4. Resultados del análisis de Kruskal-Wallis sobre las variables fisicoquímicas e hidráulicas de los arroyos en estudio durante el periodo 2016-2018. **H:** estadístico de la prueba de Kruskal-Wallis. **gl:** grados de libertad. Se presentan en color rojo los valores de p significativos ($p \leq 0,05$).

Fuente de variación		gl	H	Valor-P
Conductividad	Año	1	1,78	0,183
	Estación	3	5,35	0,148
	Arroyos	3	171,27	0
	Tramo	2	5,05	0,080
	Sitios	11	219,32	0
Fuente de variación		gl	H	Valor-P
pH	Año	1	1,15	0,283
	Estación	3	15,79	0,001
	Arroyos	3	7,13	0,068
	Tramo	2	3,76	0,153
	Sitios	11	21,91	0,025
Fuente de variación		gl	H	Valor-P
DO	Año	1	1,38	0,241
	Estación	3	37,65	3,35e-08
	Arroyos	3	16,96	0,001
	Tramo	2	1,24	0,539
	Sitios	11	32,49	0,001
Fuente de variación		gl	H	Valor-P
Temperatura del agua	Año	1	0,01	0,919
	Estación	3	153,83	0
	Arroyos	3	10,26	0,017
	Tramo	2	9,56	0,008
	Sitios	11	28,23	0,003
Fuente de variación		gl	H	Valor-P
Profundidad	Año	1	1,66	0,197
	Estación	3	0,23	0,974
	Arroyos	3	65,41	4,09e-14
	Tramo	2	15,48	0,0004
	Sitios	11	158,09	0
Fuente de variación		gl	H	Valor-P
Velocidad	Año	1	0,64	0,425
	Estación	3	0,75	0,863
	Arroyos	3	98,83	0
	Tramo	2	22,75	1,15e-05
	Sitios	11	186,47	0
Fuente de variación		gl	H	Valor-P
Transparencia	Año	1	3,55	0,059
	Estación	3	8,39	0,039
	Arroyos	3	48,43	1,72e-10
	Tramo	2	8,42	0,0148
	Sitios	11	146,75	0
Fuente de variación		gl	H	Valor-P
Cobertura de macrófitas	Año	1	6,01	0,0147
	Estación	3	8,82	0,032
	Arroyos	3	95,84	0
	Tramo	2	17,66	0,0001
	Sitios	11	200,91	0
Fuente de variación		gl	H	Valor-P
P-PO ₄	Año	1	0,34	0,562
	Estación	3	5,70	0,127
	Arroyos	3	179,60	0
	Tramo	2	9,58	0,008
	Sitios	11	208,39	0
Fuente de variación		gl	H	Valor-P
N-NO ₃	Año	1	52,38	4,57e-13
	Estación	3	47,39	2,87e-10
	Arroyos	3	58,39	1,295e-12
	Tramo	2	3,99	0,136
	Sitios	11	76,67	6,48e-12
Fuente de variación		gl	H	Valor-P
N-NO ₂	Año	1	1,15	0,284
	Estación	3	5,97	0,113
	Arroyos	3	169,92	0
	Tramo	2	5,15	0,076
	Sitios	11	184,79	0
Fuente de variación		gl	H	Valor-P
N-NH ₄	Año	1	12,91	0,0003
	Estación	3	7,29	0,063
	Arroyos	3	135,38	0
	Tramo	2	5,24	0,073
	Sitios	11	154,80	0
Fuente de variación		gl	H	Valor-P
DBO ₅	Año	1	0,23	0,633
	Estación	3	9,90	0,019
	Arroyos	3	88,35	0
	Tramo	2	8,90	0,012
	Sitios	11	100,23	1,11e-16
Fuente de variación		gl	H	Valor-P
COD	Año	1	18,65	1,57e-05
	Estación	3	8,60	0,035
	Arroyos	3	76,55	2,22e-16
	Tramo	2	4,76	0,092
	Sitios	11	84,59	1,89e-13

La máxima longitud del gradiente en el ACD realizado en base a los datos de composición específica fue de 3,5 unidades de desviación estándar, indicando una respuesta lineal de las especies. Debido a que el RDA explicó con muy bajos porcentajes los ejes y al ser el valor de SD muy próximo a 4 se decidió realizar un CCA. Los resultados del CCA se presentan en la Figura 5.2. El primer y el segundo eje de CCA explicaron el

90,6% de la proporción de la varianza de las especies de Chironomidae; CCA eje 1, *eigenvalue* = 0,478 y eje 2, *eigenvalue* = 0,428. La prueba de permutación sin restricciones de Monte Carlo indicó que el eje 1 y el eje 2 fueron estadísticamente significativos ($p=0,002$).

En la Fig. 4.2A, los sitios se encuentran ubicados como una nube de puntos sin una clara separación. Sobre el eje 1 se observa un gradiente de contaminación, determinado por las variables ambientales en el cual se organizan hacia la derecha los sitios relativamente menos contaminados (JB1-2-3, P1-2-3 y C1-2-3) y a la izquierda los sitios con mayor contaminación (R1-2-3). El sector derecho del eje 1 se asoció con un alto OD, mayor porcentaje de cobertura de macrófitas y mayor profundidad. En cambio, el sector izquierdo se asoció con los valores más altos de nutrientes, DBO₅, DQO, y transparencia.

Los sitios más contaminados, se caracterizaron por la presencia de *Chironomus calligraphus*, *Cricotopus* sp.1 y *Dicrotendipes embalsensis*. El resto de las especies se asociaron con los sitios menos perturbados.

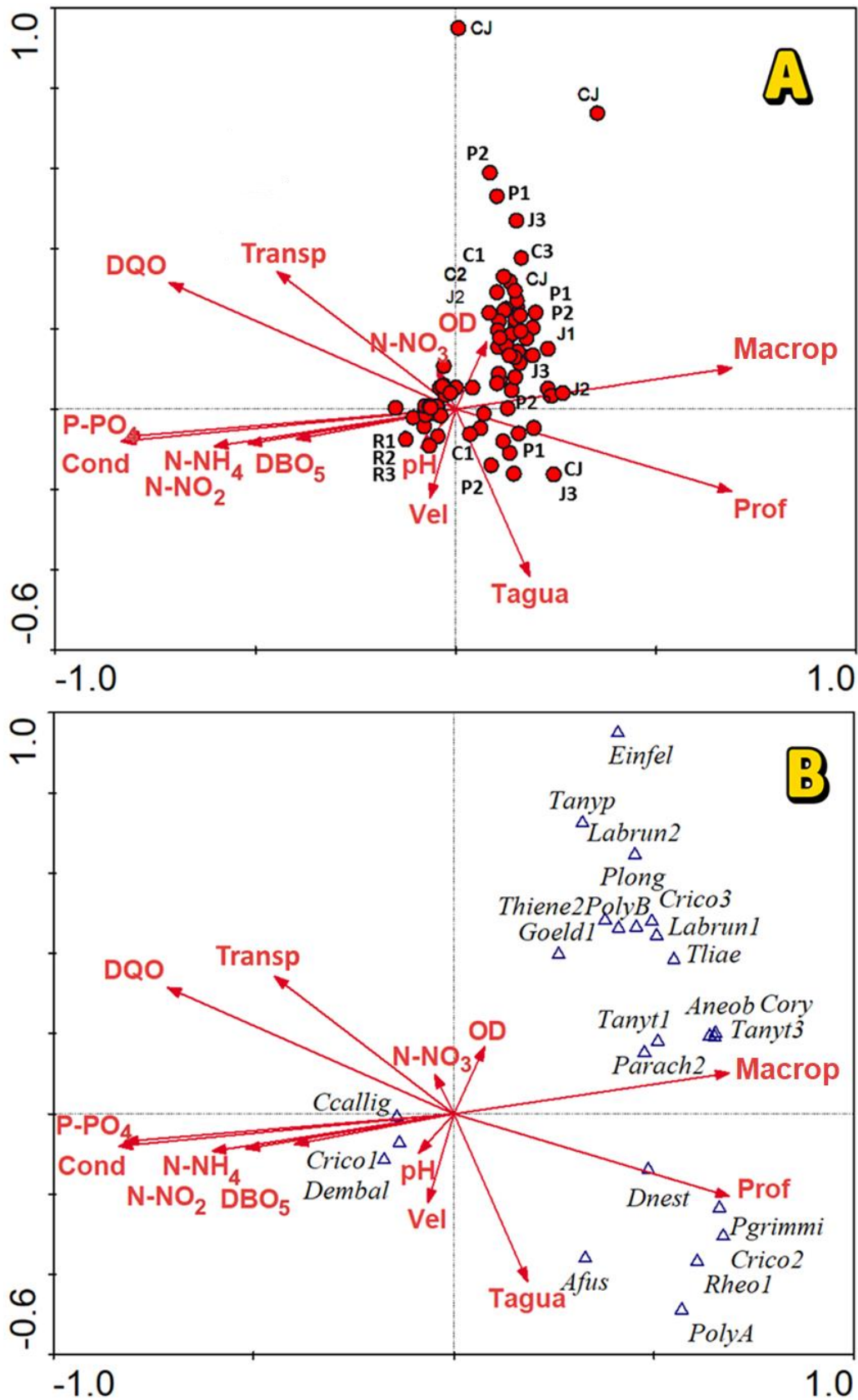


Figura 4.2- Biplot mostrando la distribución de los sitios (A) y de las especies (B) con respecto a las variables fisicoquímicas e hidráulicas. Los puntos corresponden a una réplica, para una mejor lectura del gráfico se resumieron las etiquetas a nivel del tramo del arroyo. Los acrónimos de las especies y variables se encuentran en la tabla 5.1 y 5.3 respectivamente.

El análisis de concordancia global con las 24 especies más comunes indicó que al menos una de las especies estuvo en concordancia con una o más especies (Kendall's $W=0,595$; $p=0,0001$ después de 9999 permutaciones). De acuerdo con el análisis Calinski-Harabasz y al análisis mediante las correlaciones de Spearman y el agrupamiento jerárquico, se identificaron entre 2 y 10 posibles grupos óptimos. Como resultado de esto, se obtuvieron 3 grupos óptimos (Fig. 4.3). El grupo 1 ($G1$ - $W: 0,835$; $P: 0,003$), estuvo formado por dos especies (*C. calligraphus* y *Cricotopus* sp.1), el grupo 2 ($G2$ - $W: 0,641$; $P: 0,003$) estuvo formado por 17 especies y el grupo 3 ($G3$ - $W: 0.659$; $P: 0.003$) por cinco especies.

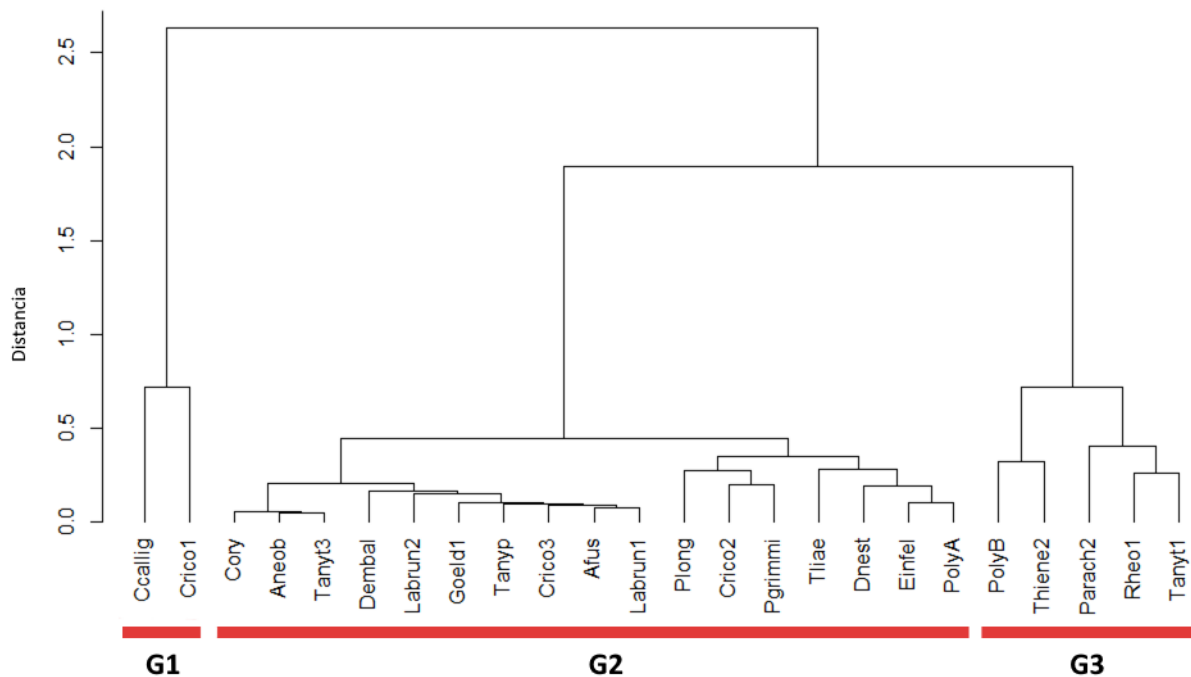


Figura 4.3. Análisis de conglomerados jerárquicos utilizando el método de Ward para las diferentes especies de Chironomidae. Se distinguen tres grupos: G1, G2 y G3. Los acrónimos de las especies se encuentran en la tabla 5.1

Tal como se observa en la Tabla 4.5, a partir del análisis IndVal, sólo 4 especies son detectoras significativas de los sitios de referencia. Por otro lado, se ha identificado para los sitios con uso urbano a *C. calligraphus* y *Cricotopus* sp.1 como especies indicadoras, con un alto valor indicador ($\geq 50\%$), fuertemente asociado a los sitios del A° Rodríguez, además de una especie detectora de contaminación (*D. embalsensis*).

Tabla 4.5- Análisis de especies indicadoras de Chironomidae de los arroyos de referencia (G1) vs arroyos con uso urbano (G2) de la región Tributarios de los ríos Paraná y Río de la Plata. Los acrónimos de las especies se encuentran en la tabla 5.1

	GRUPO	INDVAL	P-VALOR	FRECUENCIA
Parach2*	1	0,4636	0,001	96
Rheo1*	1	0,3742	0,001	74
PolyB*	1	0,3188	0,001	67
Tanyt1*	1	0,3179	0,001	62
Ccallig**	2	0,9535	0,001	139
Crico1**	2	0,8656	0,001	95
Dembal*	2	0,3563	0,001	30

*Detector (25%-50%)

**Indicador (>50%)

La riqueza de especies fue un indicador eficiente, ya que la presencia de al menos 5 especies de Chironomidae indicaría buena calidad del agua (Tabla 4.6; Fig. 4.4-4.5); lo mismo ocurrió a nivel de subfamilia, para Orthoclaadiinae serían también 5 especies y para Chironominae serían 4 especies. En el caso de Tanypodinae la curva resultante no es informativa (Fig. 4.4D).

Tabla 4.6- Resultados de los análisis ROC a nivel de familia, subfamilia y especie de Chironomidae de la región Tributarios de los ríos Paraná y Río de la Plata.

	AUC ¹	95% CI ²	VALOR DE CORTE ³
CHIRONOMIDAE	0,6083	0.5444-0.6722	5 spp
Chironominae	0,6022	0.539-0.6654	4 spp
<i>Chironomus</i>	0,9606	0.9283-0.993	7 exuvia.m ⁻²
<i>C. calligraphus</i>	0,9606	0.9283-0.993	7 exuvia.m ⁻²
<i>Dicrotendipes</i>	0,5927	0.5302-0.6552	1 exuvia.m ⁻²
<i>D. embalsensis</i>	0,6716	0.6146-0.7285	1 exuvia.m ⁻²
Orthoclaadiinae	0,4985	0.4348-0.5622	5 spp
<i>Cricotopus</i>	0,7635	0.7100-0.8170	1 exuvia.m ⁻²
<i>Cricotopus sp1</i>	0,8991	0.8544-0.9438	1 exuvia.m ⁻²
Tanypodinae	0,3643	0,3199-0,4087	---

¹ AUC (Area Under Curve) = área bajo la curva ROC

² CI (Confidence Interval) = Intervalo de confianza

³ Valor de corte ≥ los valores por encima del número dado indican sitios en buen estado.

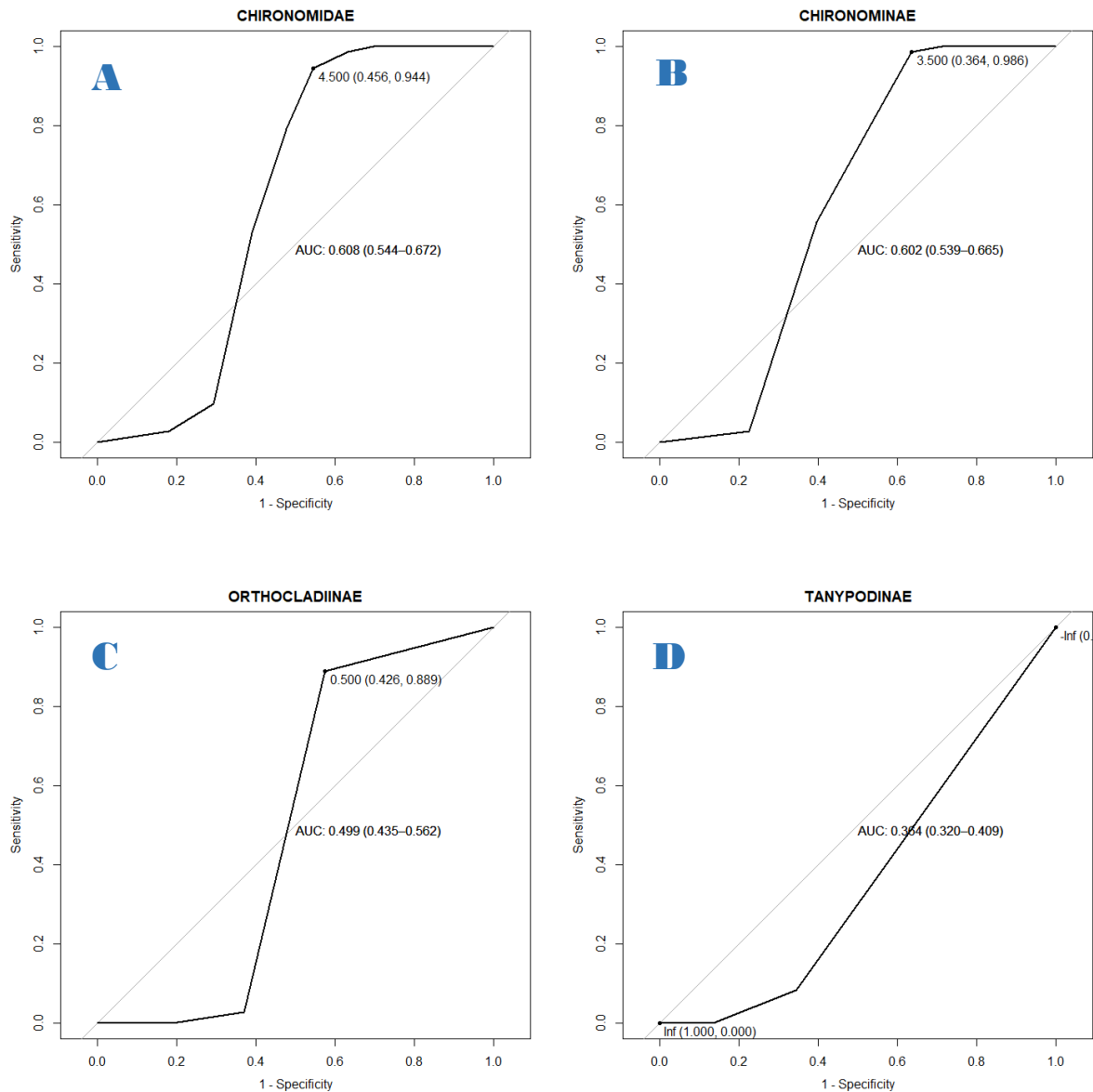


Figura 4.4- Curvas ROC para riqueza a nivel de familia **(A)** y subfamilia: **B:** Chironominae; **C:** Orthoclaadiinae; **D:** Tanypodinae (curva no informativa). El valor indicado en cada gráfico se refiere al punto de corte de riqueza para separar los sitios contaminados de los no contaminados. Entre paréntesis se dan los intervalos de confianza de la curva.

Los análisis que utilizan densidad de individuos por género y especies demostraron que solo tres géneros y tres especies fueron indicadores de mala calidad del agua (Tabla 4.6).

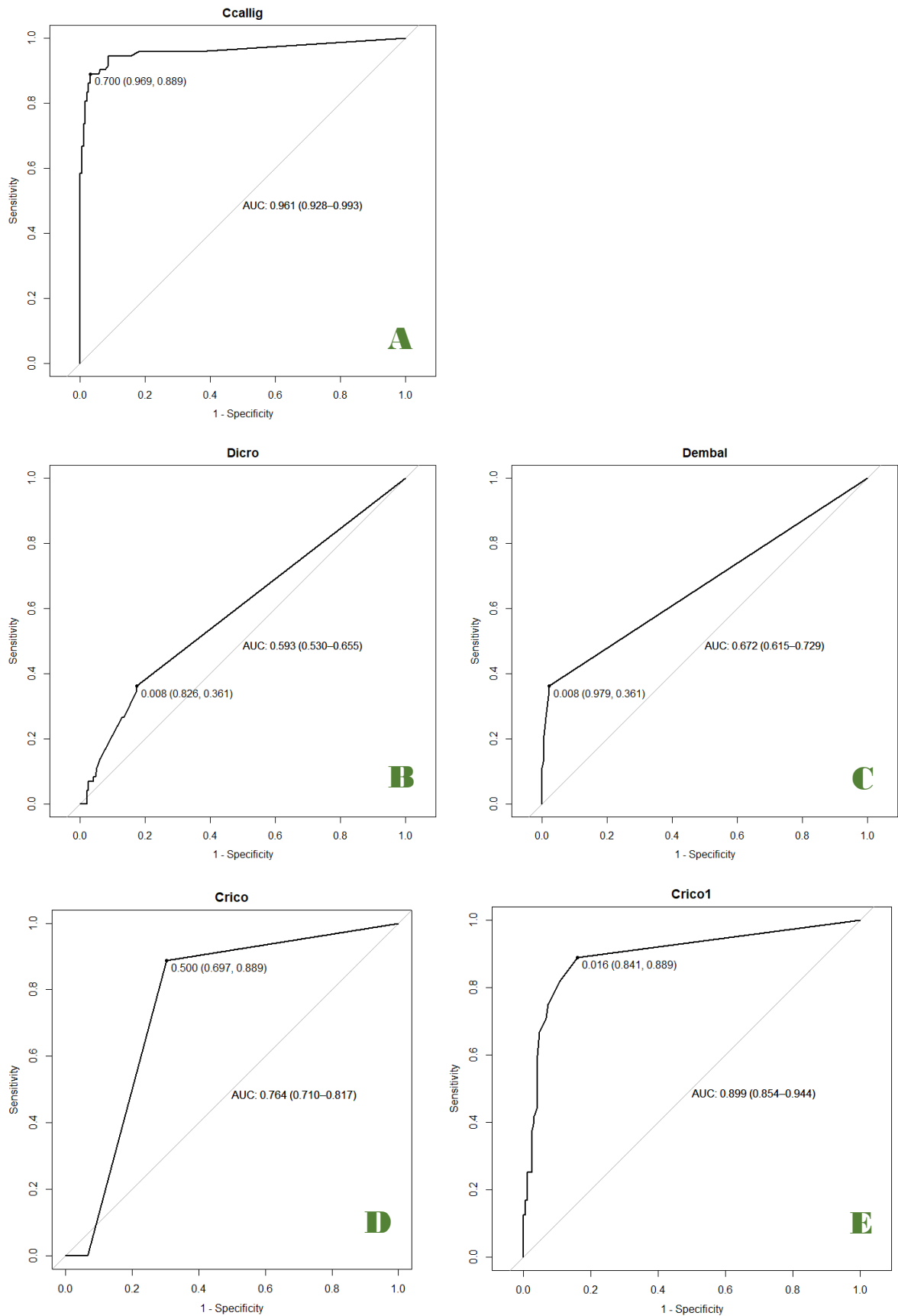


Figura 4.5. Curvas ROC para los siguientes géneros y especies (datos de densidad expresado como N° exuvias. m^{-2}). **A:** *Chironomus calligraphus*; **B:** género *Dicrotendipes*; **C:** *Dicrotendipes embalsensis*; **D:** género *Cricotopus*; **E:** *Cricotopus* sp.1

Los valores óptimos y tolerancias a las variables ambientales registradas en el presente estudio permiten comprender el rango de valores en que podemos encontrar a las especies de Chironomidae (Fig. 4.6):

Conductividad: la mayoría de las especies presentaron un rango estrecho de tolerancia, con excepción de *Coelotanypus* sp. (0,53-2,00-mS.cm⁻¹), *C. calligraphus* (0,46-1,69-mS.cm⁻¹), *Rheotanytarsus* sp. (0,28-1,59 mS.cm⁻¹), *Nanocladius* sp. (0,19-1,98 mS.cm⁻¹) (Fig. 4.6A).

Oxígeno disuelto: las especies presentaron óptimos que van desde los 3,2 mg.l⁻¹ a los 10,75 mg.l⁻¹; la especie con el óptimo de OD más bajo fue *Coelotanypus* sp. (Fig. 5.7B).

pH: todas las especies tuvieron óptimos entre 7 y 8,5. Las especies *Einfeldia* sp., *Paratanytarsus grimmi*, metriocnemini indeterminado #1, *Polypedilum* sp.F, *Corynoneura* sp., *Thienemanniella liae* y *Tanytus* sp. presentaron los rangos de tolerancia más amplios a esta variable (Fig. 4.6C).

Temperatura del agua: las especies presentaron óptimos que van desde los 14,1 °C a los 25,5 °C. La especie con el óptimo de temperatura más bajo fue *Limnophyes natalensis* (Fig. 4.6D).

Transparencia: Especies como *Einfeldia* sp. (8,77-64,2 cm), *Paratanytarsus corbi* (20,89- 97,68 cm) y *Paralauterborniella* sp. (21,37-78,26 cm) presentaron amplios rangos en cuanto a esta variable (Fig. 4.6E).

Velocidad de corriente: en general las especies presentaron rangos acotados con excepción de *Ablabesmyia* sp.1 (0,14-5,12 cm.seg⁻¹) en la cual su rango de tolerancia fue mayor (Fig. 4.6F).

Fosfato: las especies con mayor rango de tolerancia fueron *Chironomus calligraphus* (0,41-3,84 mg P.l⁻¹), *Cricotopus* sp.1 (0,58- 2,97 mg P.l⁻¹), *Larsia* sp.3 (0,42-3,41 mg P.l⁻¹), y *Dicrotendipes embalsensis* (0,13- 3,25 mg P.l⁻¹) (Fig. 4.6G).

Nitrato: la mayoría de las especies presentaron un rango acotado de tolerancia, con excepción de *D. embalsensis* (0,08- 2,81 mg N.l⁻¹) y *Tanytarsus* sp.5 (0,18- 2,35 mg N.l⁻¹) (Fig. 4.6H).

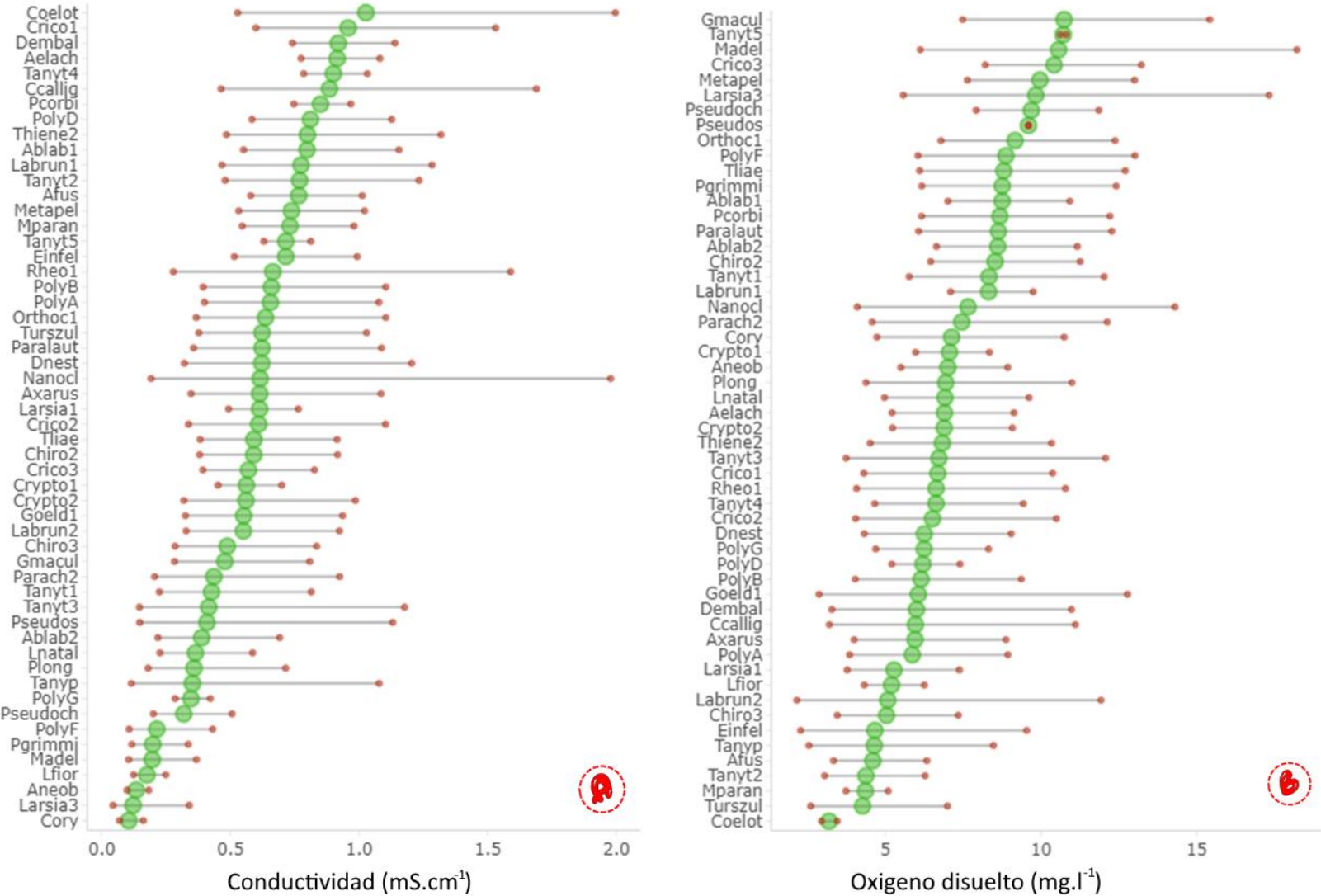
Nitrato: la mayoría de las especies presentaron un rango estrecho de tolerancia, con excepción de *D. embalsensis* (0,01- 0,65 mg N.l⁻¹), *C. calligraphus* (0,03- 0,72 mg N.l⁻¹), *Cricotopus* sp.1 (0,04- 0,59 mg N.l⁻¹) (Fig. 4.6I).

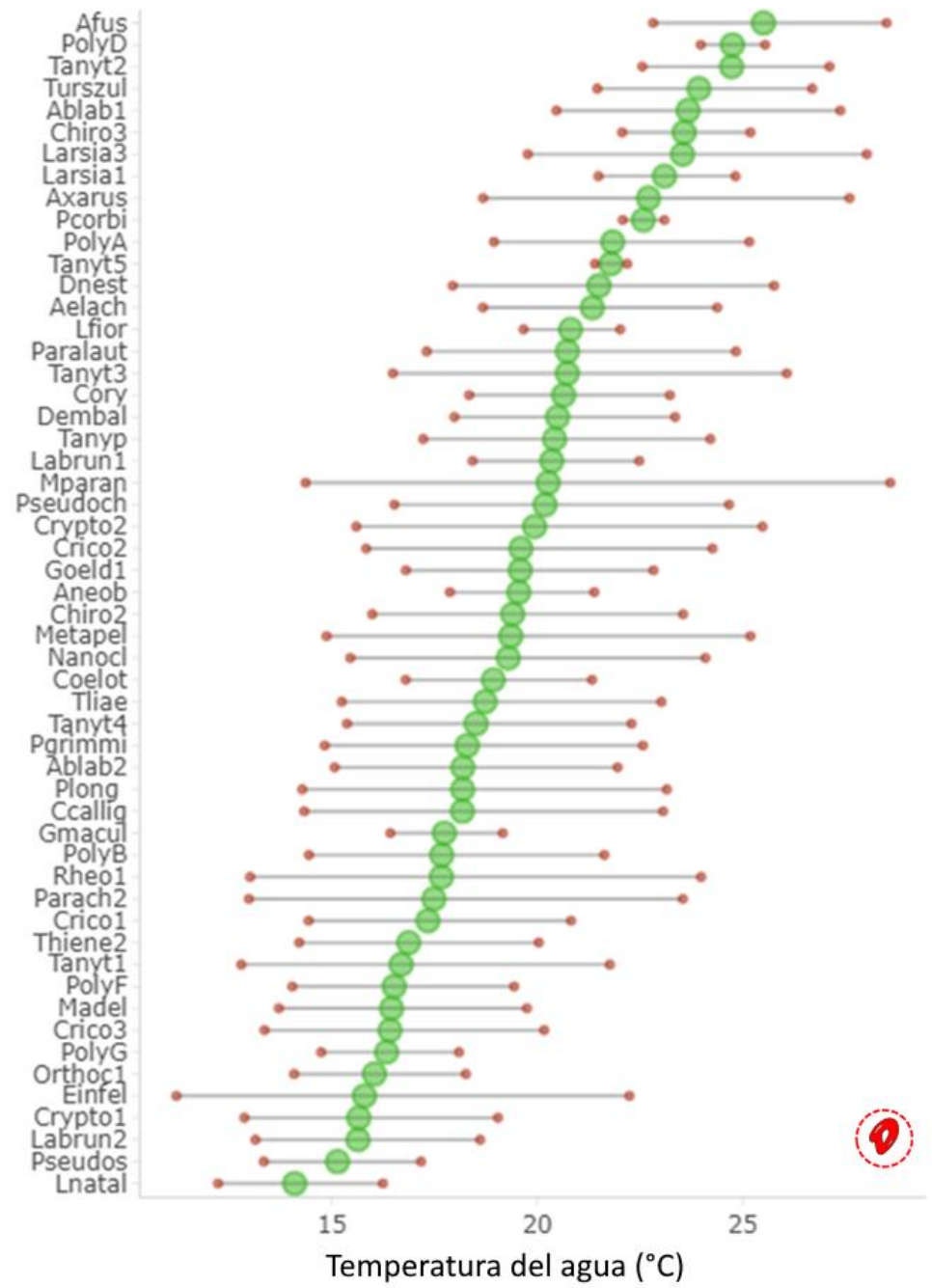
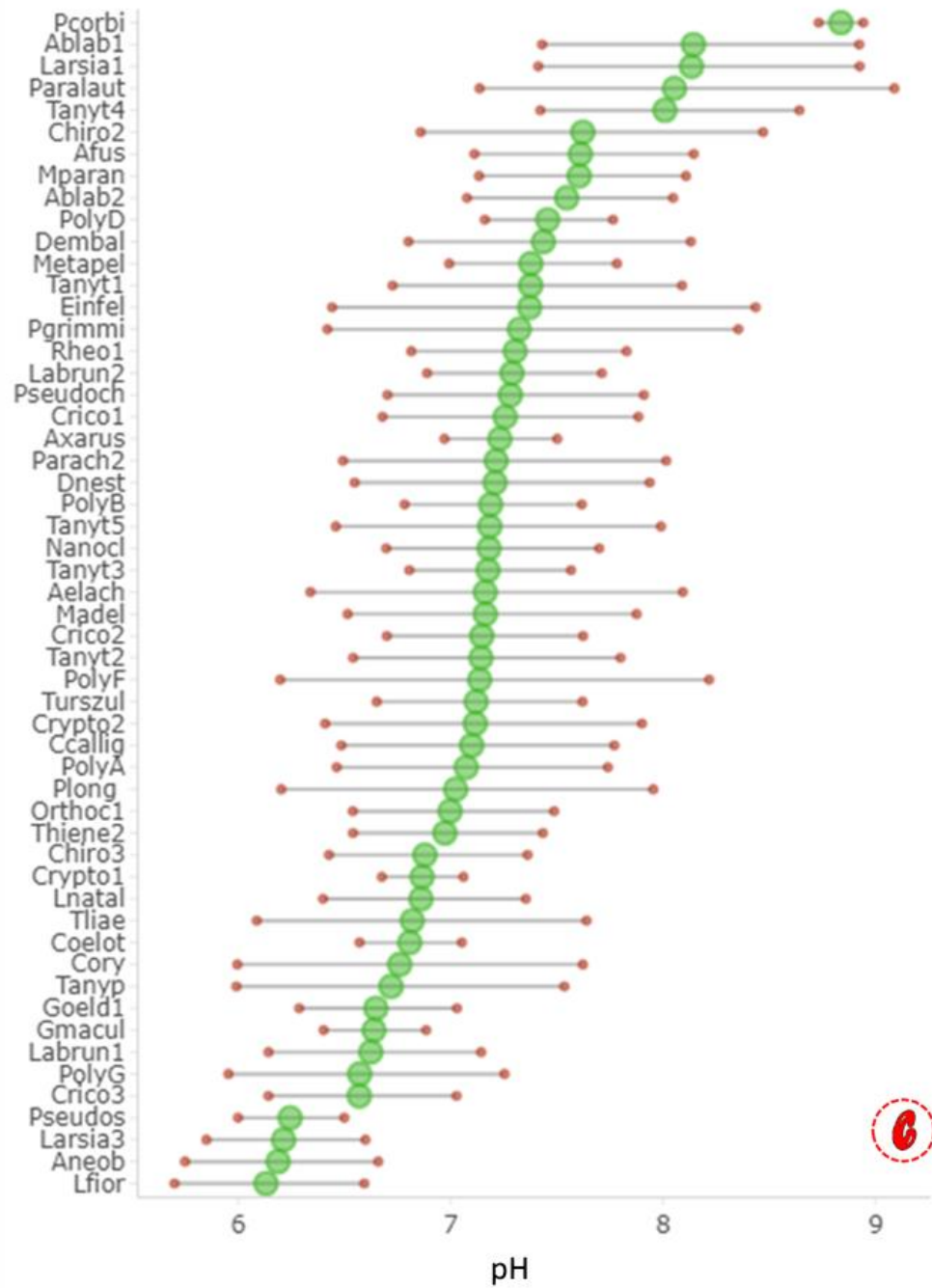
Amonio: la mayoría de las especies presentaron un rango estrecho de tolerancia, con excepción de *D. embalsensis* (0,1- 2,54 mg N.l⁻¹), *C. calligraphus* (0,03- 3,44 mg N.l⁻¹) y *Cricotopus* sp.1 (0,01- 3,64 mg N.l⁻¹) (Fig. 4.6J).

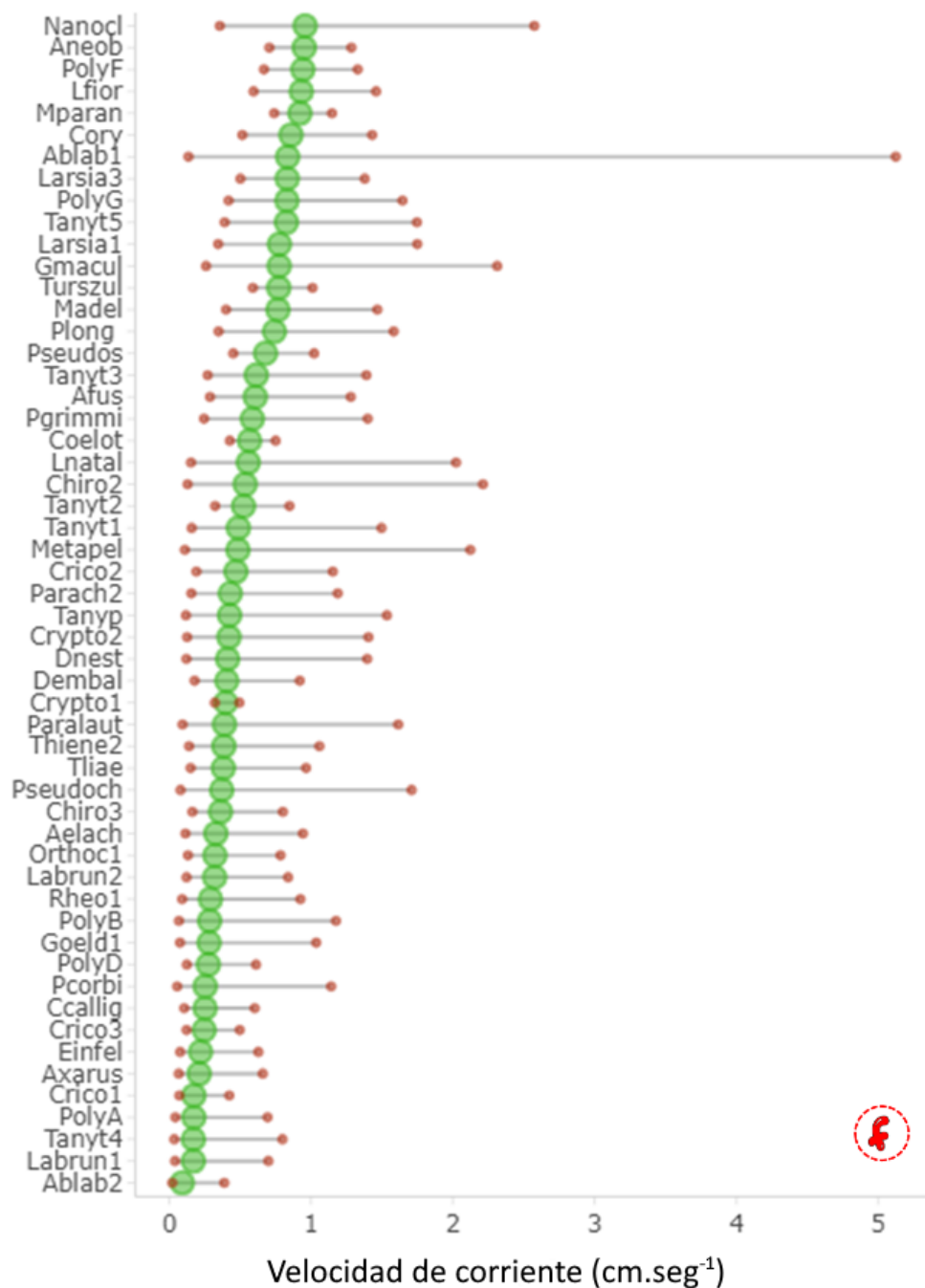
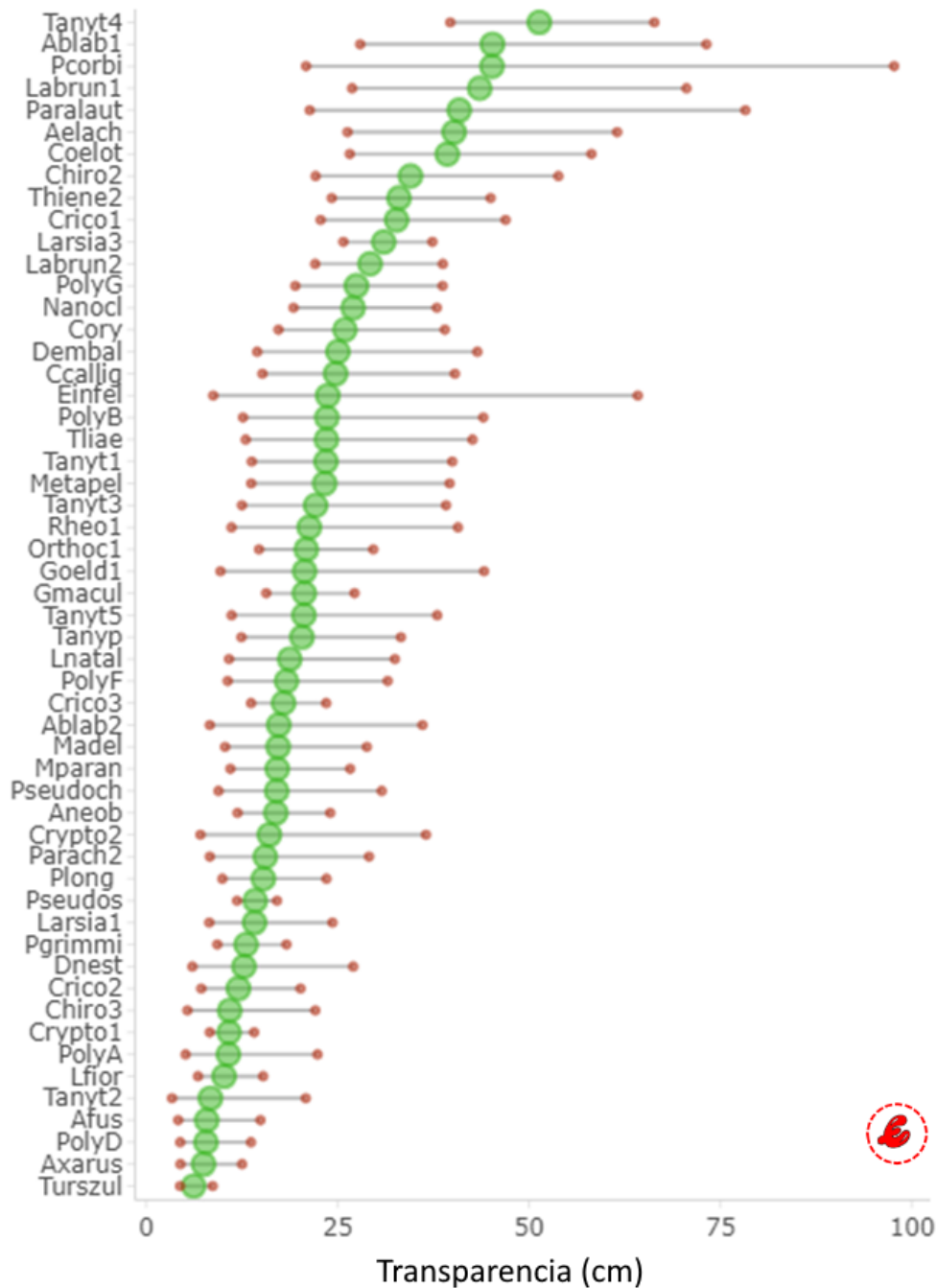
Demanda biológica de oxígeno: Con respecto a la DBO₅, los valores de tolerancia de todas las especies fueron superiores a 3,24 mg.l⁻¹. *Monopelopia* cf. *paranaense* fue la especie con mayor tolerancia, superando los 32 mg O₂.l⁻¹. Esta especie junto a *Metapelopia* sp. presentaron los rangos de tolerancia más amplios, 14,13- 73,05 mg O₂.l⁻¹ y 7,81- 73,43 mg O₂.l⁻¹, respectivamente (Fig. 4.6K).

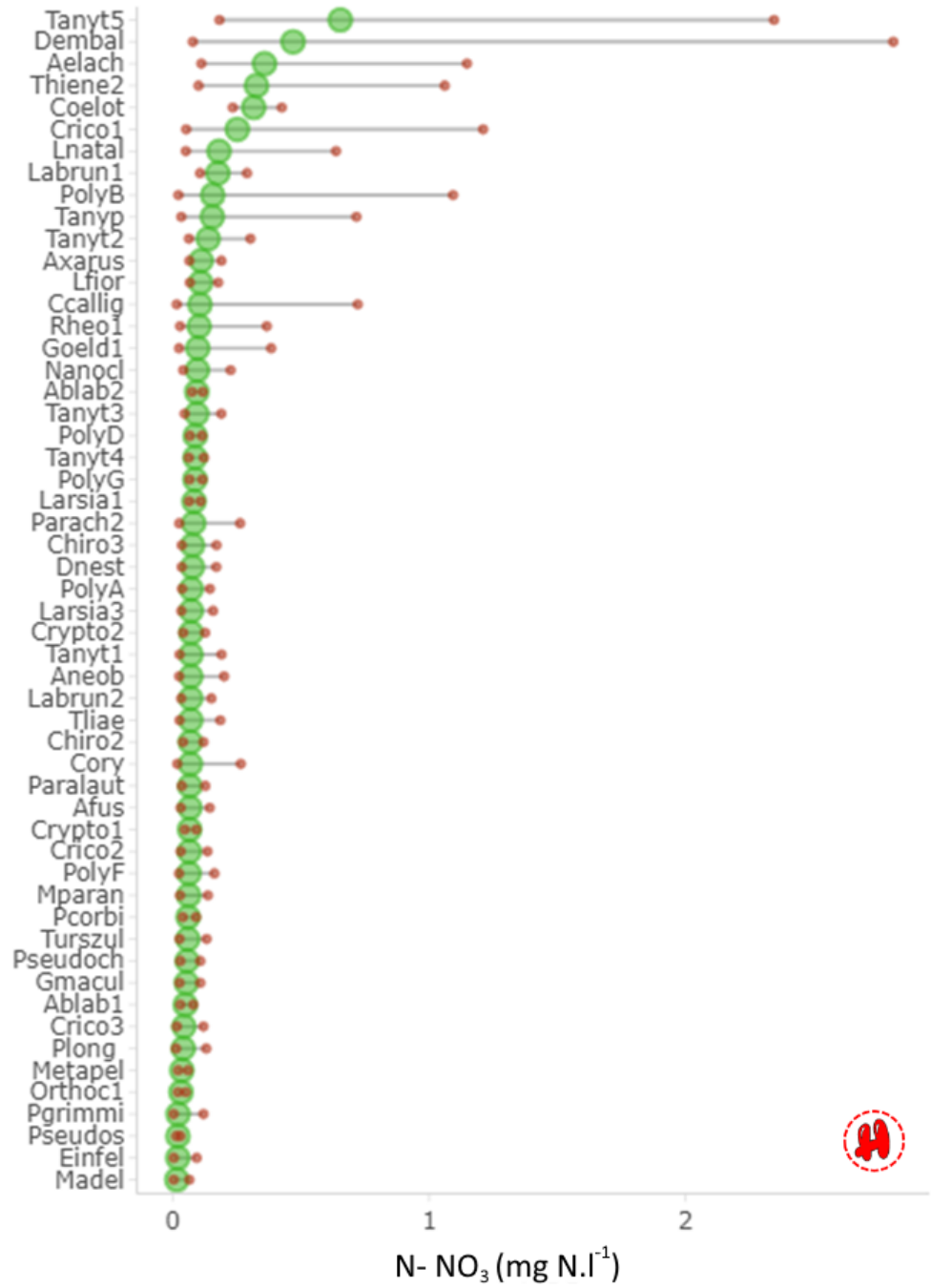
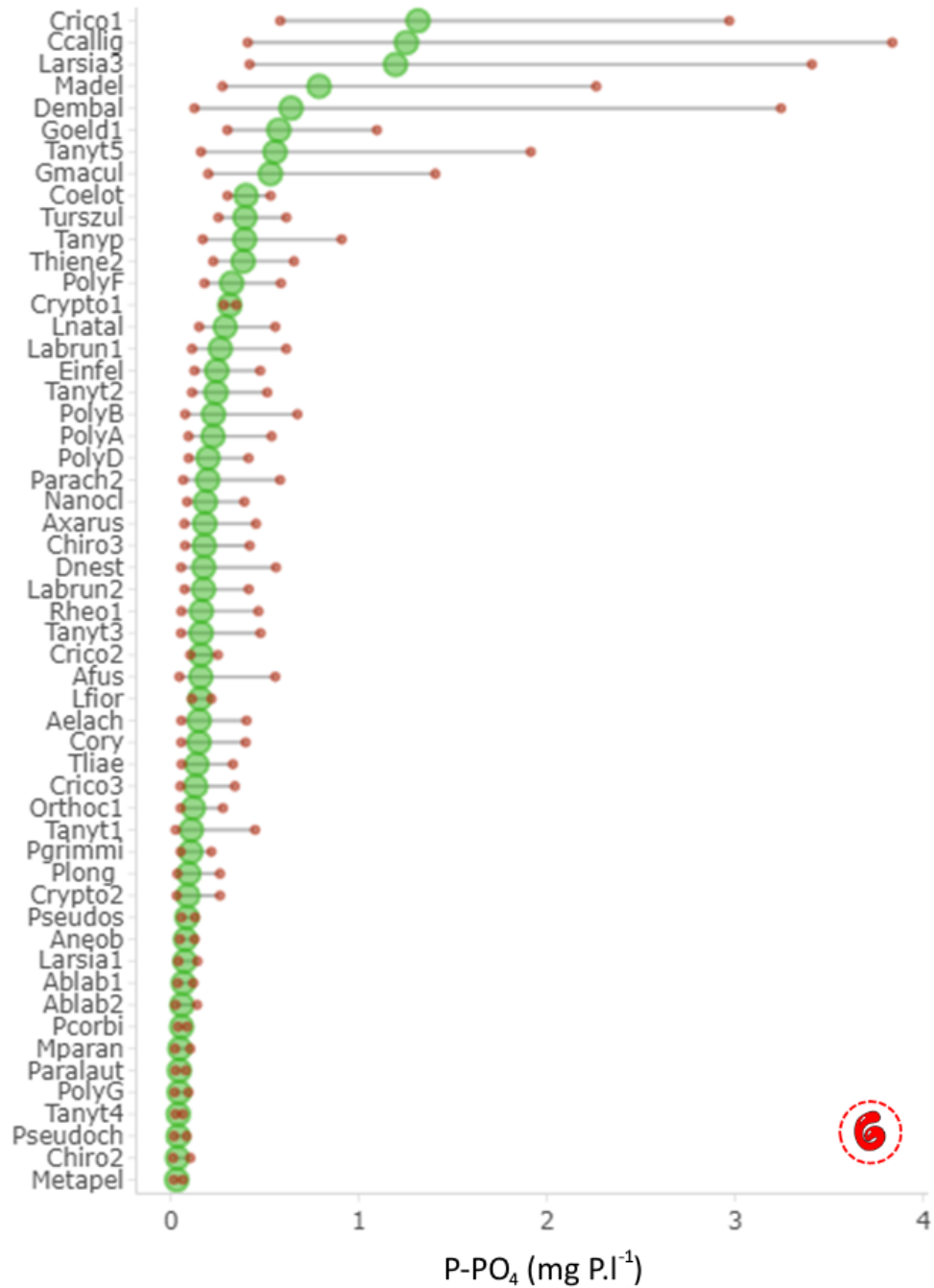
Demanda química de oxígeno: los valores óptimos variaron entre 10,34 y 79,14 mg O₂.l⁻¹. *Metapelopia* sp., *Monopelopia* cf. *paranaense* y *Tanytarsus* sp.3 presentaron los mayores rangos de tolerancia (Fig. 4.6L).

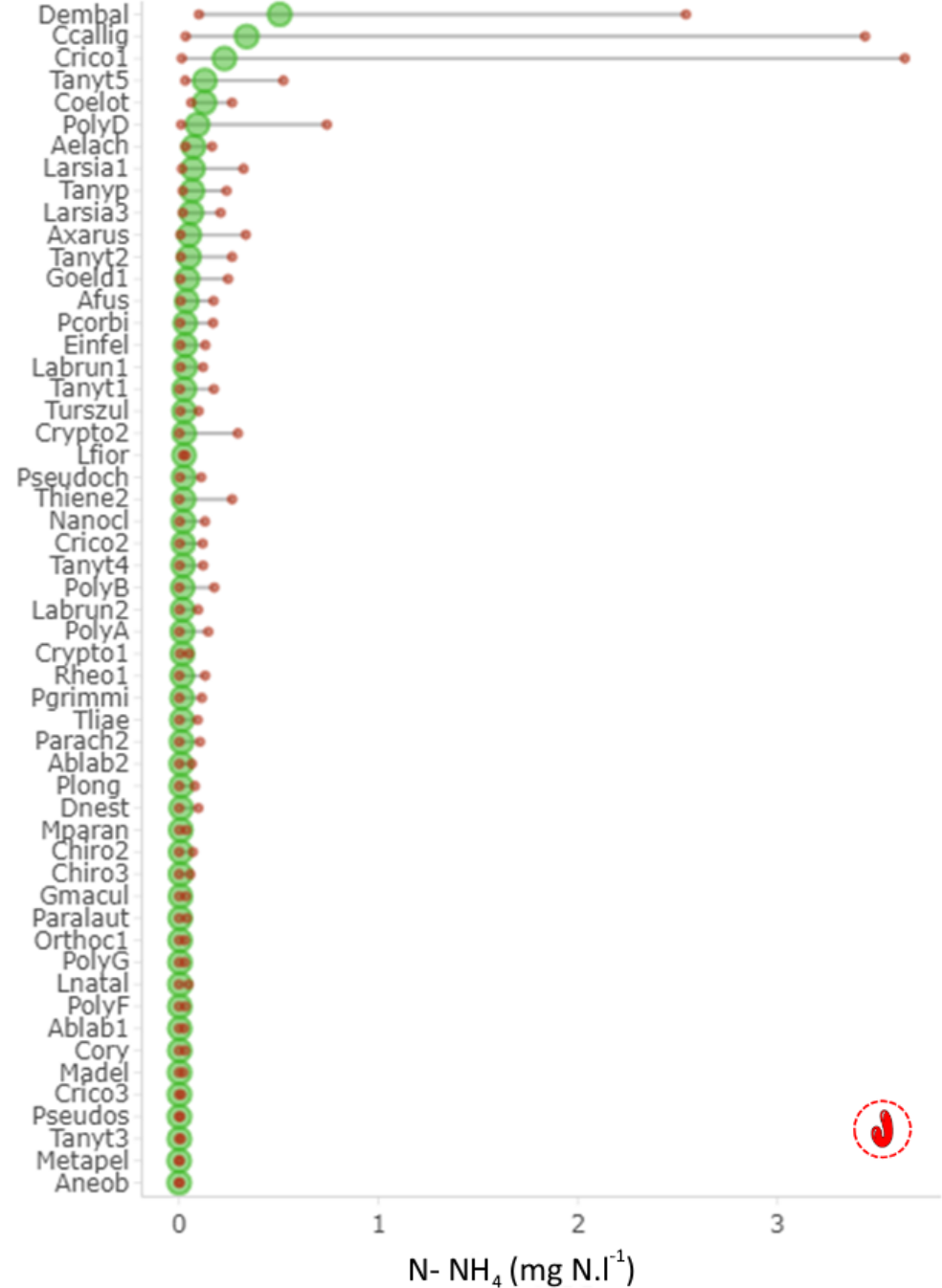
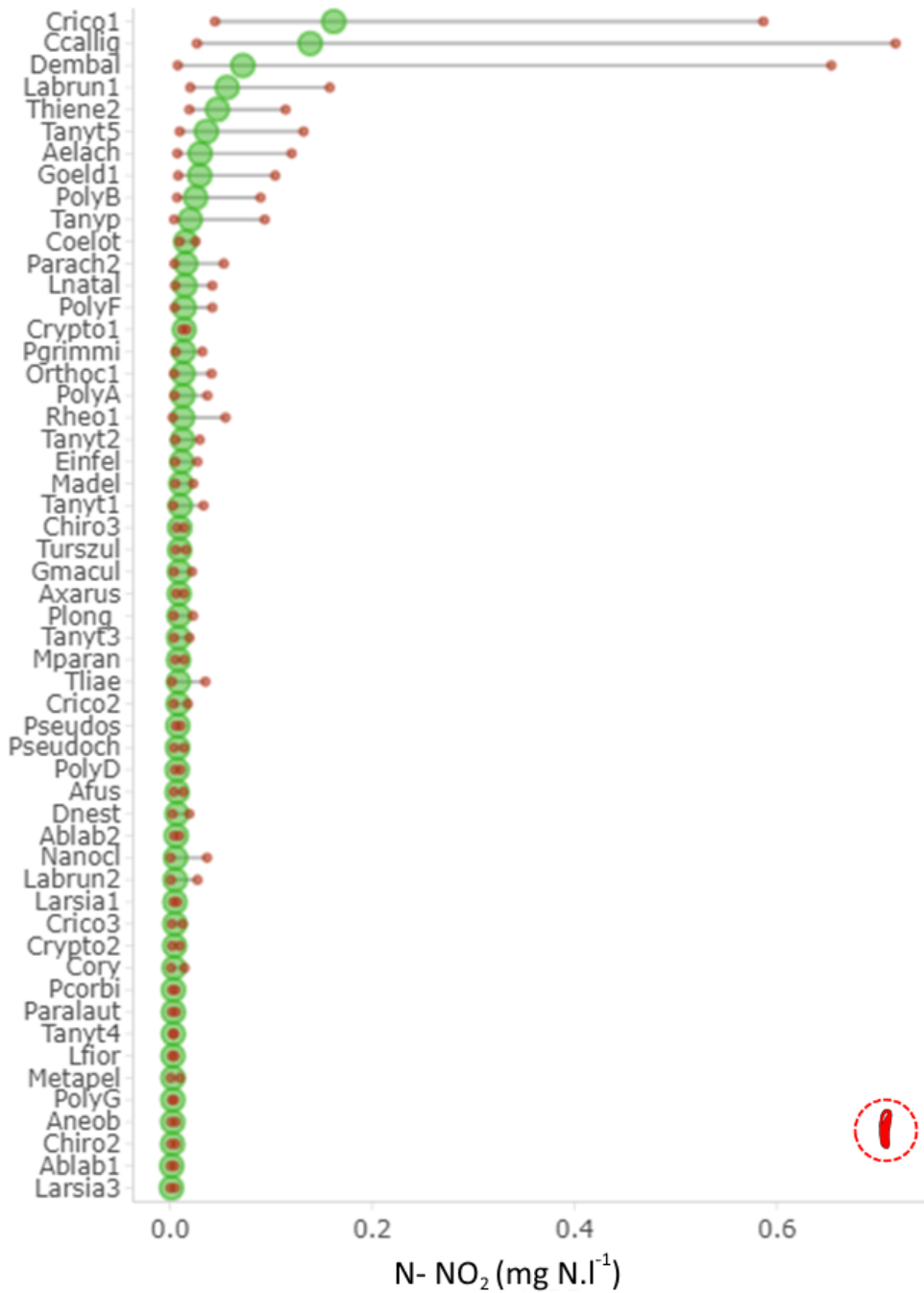
Figura 4.6- Valores óptimos (circulo verde) y rangos de tolerancia (min-max; círculos rojos) de las especies de Chironomidae con respecto a las variables físicas y químicas de los arroyos de la región Tributarios de los ríos Paraná y Río de la Plata.

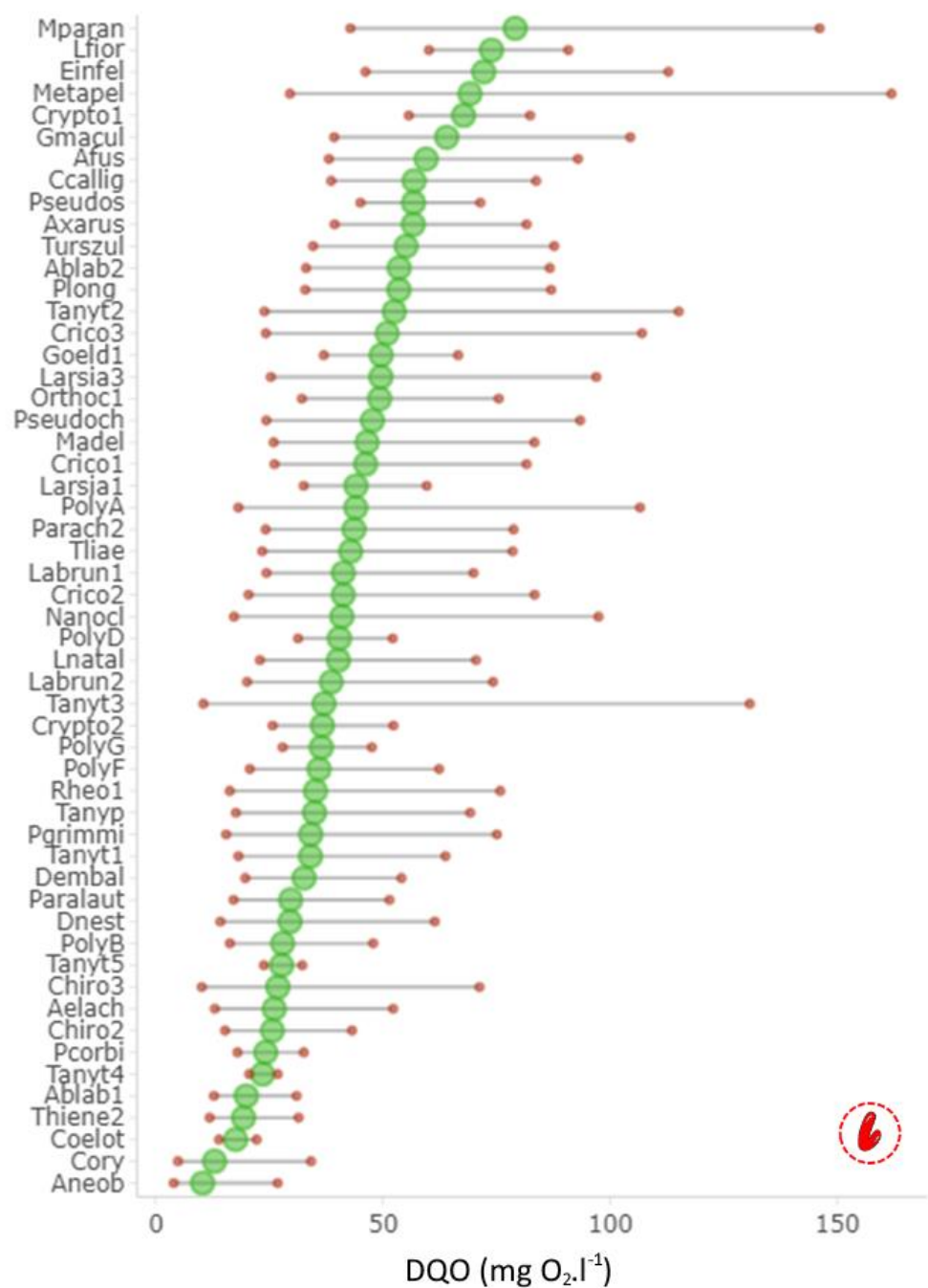
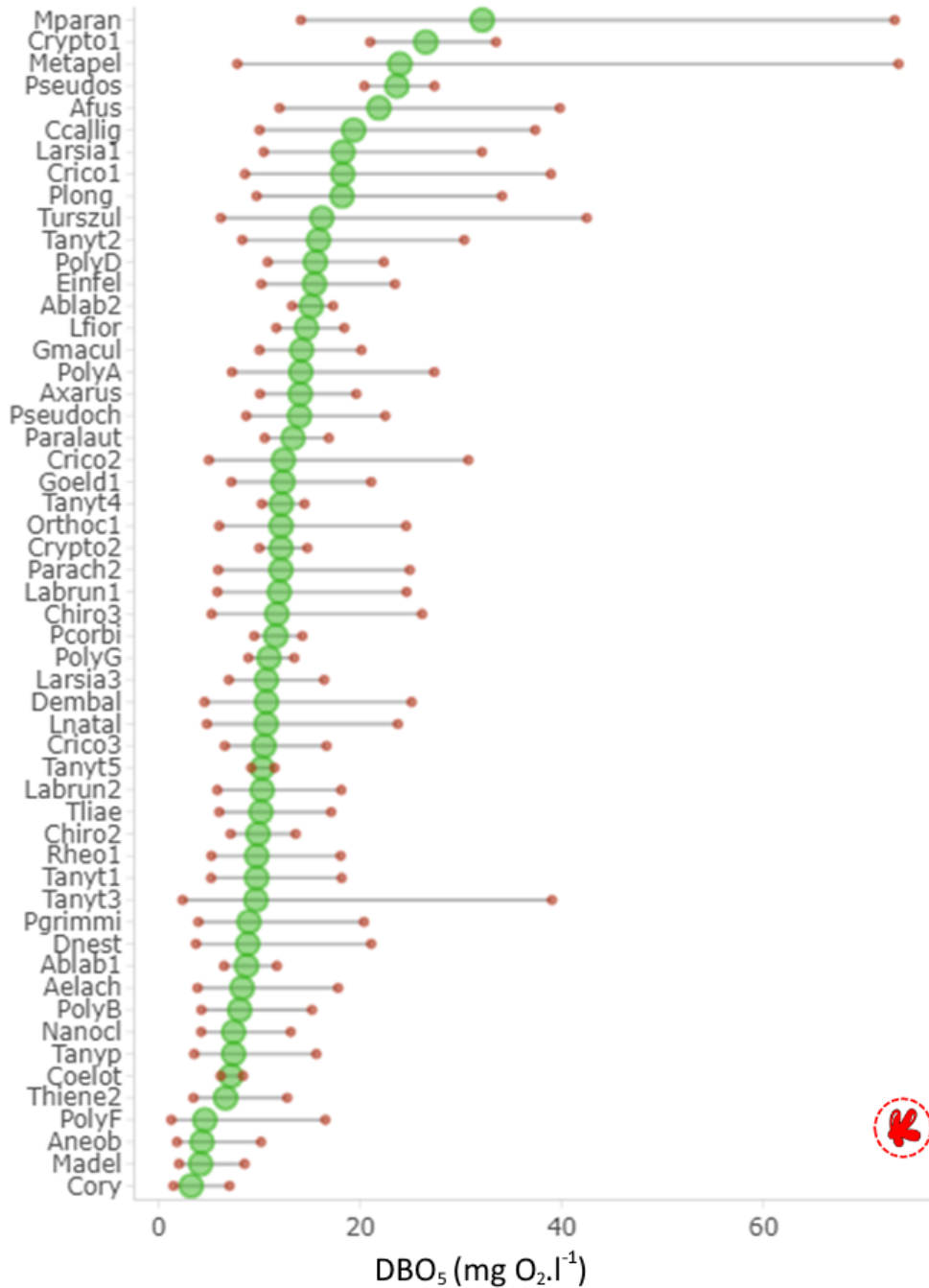












4.4. DISCUSIÓN

La evaluación de la calidad de agua de los arroyos pampásicos a partir de ensambles característicos realizada a partir del análisis de las exuvias pupales de Chironomidae permitió identificar los cambios en los atributos estructurales de los arroyos urbanos con respecto a los arroyos de referencias, por lo que la hipótesis H₂ fue corroborada. En este sentido, las especies en este estudio exhibieron una respuesta, negativa o positiva, a la contaminación del agua. Los altos valores de los índices de riqueza, diversidad y equitatividad de taxones caracterizaron a los sitios de referencia. Al analizar los arroyos con uso del suelo urbano, se observa que el A° Carnaval presentó mayor similitud con los arroyos de referencia, ya que mostró altos valores en cuanto a la riqueza, diversidad y equitatividad y en algunos casos superó a los de referencia. En el A° Rodríguez, la estructura de la comunidad de quironómidos fue muy diferente a la encontrada en los sitios de referencia. En este arroyo se registraron pocas especies de quironómidos y una gran dominancia de *C. calligraphus* y *Cricotopus* sp.1. El A° Rodríguez está fuertemente impactado por el entorno urbano que lo rodea. Numerosos autores reportaron cambios en la diversidad y en la calidad del agua inducidas por las obras hidráulicas, agentes contaminantes y elevados valores de fósforo, nitratos, DQO, DBO₅ y coliformes fecales (SCHNACK *et al.*, 1978; REMES LENICOV *et al.*, 2005; BAUER *et al.*, 2002; LÓPEZ VAN OOSTEROM, 2014; ADA, 2020; entre otros).

Uno de los efectos principales del uso de suelo urbano que pudo observarse es la homogeneización de los ensambles de Chironomidae generando una disminución de la diversidad y una dominancia de taxones tolerantes, por lo cual se corrobora la hipótesis H₃. En este sentido, el análisis de conglomerados indicó diferencias en la estructura y composición de la fauna de Chironomidae entre el A° Rodríguez y los demás arroyos; además de estar asociado a las variables de contaminación (Fig. 4.2). Las especies que están relacionadas con los sitios de este arroyo son *Chironomus calligraphus*, *Cricotopus* sp.1 y *Dicrotendipes embalsensis*. El índice de Valor Indicador nos muestra a estas dos primeras como especies indicadoras y a *Dicrotendipes embalsensis* como especie detectora de cambio.

La especie hallada del género *Chironomus* se asoció con el sitio con mayor contaminación orgánica, correspondiendo con resultados reportados por otros estudios en ambientes con uso de suelo urbano (ROSA *et al.*, 2014). Las larvas de *Chironomus* están adaptadas a ambientes contaminados (ALVES & LUCCA, 2000; FUSARI & FONSECA-GESSNER, 2006), presentando gran abundancia a pesar del enriquecimiento orgánico causado por actividades humanas (MARQUES *et al.*, 1999). Vos *et al.*, (2000) también indicaron que los cuerpos de agua con altos contenidos de nitrógeno, fósforo y carbono presentan una alta dominancia de *Chironomus* en sus estadios larvales, pudiéndose observar larvas de gran tamaño.

CALLISTO *et al.* (2001) informaron el dominio de *Chironomus* en áreas enriquecidas con detritos orgánicos y, en consecuencia, con bajos niveles de oxígeno disuelto. Este género presenta adaptaciones fisiológicas y morfológicas que le permiten la supervivencia en entornos muy hostiles. Por ejemplo, HAMBURGER *et al.* (1994) informaron que algunas especies del género *Chironomus* tienen la capacidad de desacelerar sus tasas metabólicas, o de cambiar a un metabolismo anaeróbico, cuando se agota el nivel de oxígeno disuelto. Además, poseen dos pares de tubos larvales que permiten una ventilación más adecuada y tolerar bajos niveles de oxígeno (INT PANIS *et al.*, 1996). Además, su hemolinfa contiene altas concentraciones de hemoglobina de reconocida afinidad con las moléculas de oxígeno que se difunden a través de la pared del cuerpo (WEBER & VINOGRADOV, 2001; MOLLER-PILLOT, 2009). Este pigmento les da a las larvas un color rojo brillante, por lo que son conocidos como gusanos de sangre.

La mayoría de los géneros de Orthoclaadiinae son generalmente más sensibles a la contaminación, por lo que se encuentran con frecuencia en agua limpia y bien oxigenada (ROQUE *et al.*, 2000; BUENO *et al.*, 2003; HOSE *et al.*, 2007; BENEBERU *et al.* (2014); ROSA *et al.*, 2014). En los arroyos estudiados, la subfamilia Orthoclaadiinae estuvo representada por una sola especie del género *Cricotopus* en los sitios contaminados (*Cricotopus* sp.1), pero en los sitios de referencia estuvieron presentes dos especies más y con alta densidades. A nivel mundial, *Cricotopus* es uno de los géneros con mayor número de especies dentro de la subfamilia Orthoclaadiinae y a excepción de otros géneros, éste se encuentra en muchos hábitats y bajo una amplia gama de condiciones de calidad del agua (SIMPSON *et al.*, 1982;

DRAYSON *et al.*, 2015). Por tal motivo, se registra en la bibliografía diferentes conclusiones con respecto a la tolerancia del género. ANJOS & TAKEDA (2010) reportan al género para la zona del río Paraná Superior en Brasil como tolerantes a la contaminación y al enriquecimiento orgánico. MARQUES *et al.* (1999), refieren al género *Cricotopus* como dominante en tramos que presentaron diferentes estados tróficos y niveles de impacto. Por otro lado, HARRISON (1992) también encontró altas densidades de *Cricotopus* sp. en ríos relativamente sin impacto en Etiopía. DVORAK (1996) encontró una fuerte correlación positiva entre la abundancia de *Cricotopus* y la biomasa de diatomeas. Este autor concluye que la distribución de este género probablemente depende más de la abundancia y la calidad de alimentos disponibles, que de ciertos rasgos físicos y químicos de la columna de agua. De lo anteriormente expuesto se desprende que la sola identificación a nivel de género puede hacer perder información valiosa ya que como se concluyó en esta tesis, el género *Cricotopus* presentó una especie con una alta adaptación a ambientes contaminados y dos especies muy sensibles a dichos ambientes.

Las larvas de Tanypodinae estuvieron presentes solo en los sitios control analizados. Aparentemente, esta subfamilia resultó menos tolerante a la contaminación orgánica. Diferentes autores registraron a géneros de Tanypodinae asociados con niveles más altos de oxígeno disuelto (MARQUES *et al.*, 1999, COUCEIRO *et al.*, 2007; OLIVEIRA *et al.*, 2010; BENEBERU *et al.*, 2014).

El concepto de asociación de especies se refiere a grupos de especies que se encuentran "significativamente" juntos, sin que esto implique necesariamente alguna interacción biológica positiva entre ellos (WHITTAKER, 1962). Las asociaciones permiten encontrar los requisitos ecológicos comunes a la mayoría o todos los miembros de una asociación, en lugar de tener que describir la biología y el hábitat de cada especie individualmente. En el presente estudio, se pudieron identificar tres grupos de especies asociadas significativamente. El primer grupo estuvo conformado por especies indicadoras de contaminación debido al uso urbano (*C. calligraphus* y *Cricotopus* sp.1), un segundo grupo estuvo integrado por especies detectoras de cambio (*D. embalsensis*) y un tercer grupo se conformó por especies que podrían ser sensibles a las perturbaciones provocadas por el uso de suelo urbano. Las especies *C. calligraphus* y *Cricotopus* sp.1 presentaron

altos valores óptimos y amplios rangos de tolerancia a nutrientes, DBO₅ y DQO. Por otro lado, *D. embalsensis*, presentó amplios rangos de tolerancias a nutrientes pero bajos rango para variables como DBO₅ y DQO. Uno de los mecanismos que determinan la concordancia entre los taxones son las respuestas similares al gradiente de contaminación, que generalmente ocurren entre especies que tienen los mismos requerimientos ambientales (PAAVOLA *et al.*, 2006). Esta asociación, en cuanto a requerimientos ecológicos comunes, necesita un mayor estudio y es necesaria una descripción individual de la biología y ecología específica.

Las características autoecológicas cuantitativas derivadas de conjuntos de datos regionales a pequeña escala son útiles para los programas de monitoreo regional. Se pueden obtener datos autoecológicos confiables solo de conjuntos de datos con un gran número de observaciones que representan el rango completo de condiciones ambientales (POTAPOVA & CHARLES, 2003). Este estudio es un primer aporte al conocimiento de la asociación de especies de Chironomidae con relación a las variables fisicoquímicas de arroyos pampeanos. Estos óptimos y tolerancias contribuyen al conocimiento de la autoecología de las especies, fundamental para su uso en bioindicación.

Al analizar la diversidad de taxones para identificar valores de corte y ver la respuesta a la perturbación, podemos observar que la densidad de larvas y el número de morfoespecies de cada subfamilia nos permiten obtener un umbral de corte para determinar si un arroyo se encuentra perturbado por el uso urbano del suelo. La presencia de al menos cinco especies de Orthocladiinae o Chironominae permite identificar aguas menos perturbadas. Además, el análisis ROC arrojó que la densidad es un buen indicador y solo tres géneros y tres especies fueron indicadoras de mala calidad del agua (Fig. 4.6). Los géneros *Chironomus*, *Cricotopus* y *Dicrotendipes* fueron identificados como indicadores de baja calidad del agua y dentro de estos géneros las especies *C. calligraphus*, *Cricotopus* sp.1 y *D. alsinensis*. En este punto es importante destacar el nivel de resolución taxonómica, dado que los géneros *Cricotopus* y *Dicrotendipes* están representados por más de una especie, pero no todas son igualmente indicadoras de perturbación.

Un debate importante sobre el uso de macroinvertebrados en la evaluación ambiental rápida es el nivel de resolución taxonómica requerida (RESH, 1994). Por lo general, en los

índices bióticos, la presencia de la familia Chironomidae se asocia con arroyos impactados, unificando las tolerancias a nivel de ensamble. En pocos casos se utiliza una resolución menor con determinaciones de género o especie. Aunque la especie es el nivel taxonómico apropiado para la mayoría de los trabajos de biomonitoreo, el nivel de identificación dependerá en última instancia de las metas y objetivos del estudio y de los recursos disponibles (BONADA *et al.*, 2006). La especie es la unidad biológica básica, por lo que debería ser el nivel al que se midan las respuestas a la contaminación. Hay muchos ejemplos de especies en el mismo género que responden de manera diferente al mismo contaminante y dosis, por tal motivo, la acumulación de taxones congéneres no es recomendable al estudiar los efectos contaminantes (BERGER *et al.*, 2018). Un mejor conocimiento de la autoecología de las especies es un requisito previo para comprender los efectos de la contaminación. Este conocimiento nos va a permitir expresar la situación ideal para luego afrontar las realidades prácticas, como los problemas taxonómicos y el costo principalmente en términos de esfuerzo, permitiéndonos utilizar niveles taxonómicos más altos en los programas de biomonitoreo. BENEBERU *et al.* (2014) y MEZGEBU *et al.* (2019) defendieron firmemente la evaluación a nivel de especie de los quironómidos en los estudios biológicos de contaminación del agua. WAITE *et al.* (2004), al estudiar arroyos con diferentes impactos, informaron que las familias de macroinvertebrados, excepto Chironomidae a nivel de género o especies, permitieron distinguir las clases de impacto antrópico más severas versus las menos severas, pero los géneros fueron más eficientes para distinguir diferencias más sutiles en el impacto. En cambio, ROACH *et al.* (2001) sugirieron que el nivel de familia es suficiente para detectar alteraciones en la comunidad de macroinvertebrados, pero es necesario un nivel de identificación más detallado para interpretaciones ecológicas. En este sentido, la utilización de la CPET permite identificaciones más precisas y a menor nivel taxonómico, con una consiguiente menor demanda de tiempo comparado, por ejemplo, con el que demanda el procesamiento de larvas.

Algunas consideraciones sobre los arroyos urbanos

El crecimiento urbano trae aparejado una serie de consecuencias que afectan a su entorno, muchas veces de manera irreversible. El impacto de la ciudad sobre sus alrededores es preocupante porque reduce notablemente la resiliencia y la sostenibilidad de los ecosistemas (NAVEH & LIEBERMAN, 1994).

El partido de La Plata evidencia niveles de deterioro que es necesario evaluar para mejorar las condiciones ambientales, particularmente, su diseño urbanístico se impuso al paisaje sin tener en cuenta las geoformas del terreno. En este sentido, los cursos de agua se adaptaron artificialmente mediante el entubamiento, reduciéndose la capacidad de escurrimiento superficial de los principales arroyos que corren por el casco urbano y por los barrios periféricos, una lógica inversa a la sustentabilidad ambiental. Actualmente, distintas obras como la construcción de viviendas, complejos barriales y obras viales en la planicie de inundación de los arroyos modifican el paisaje original y dificultan el drenaje de las aguas pluviales. En este contexto, los emplazamientos industriales en zonas bajas, el volcado de contaminantes a los arroyos y en la planicie costera son factores que contribuyen al deterioro del ambiente en una zona de alta sensibilidad a los cambios mencionados.

Analizando comparativamente los dos arroyos urbanos y analizando la condición ecológica de cada uno se puede observar que con cambios mínimos se pueden obtener grandes resultados. Las condiciones actuales de la calidad del agua y del paisajismo del arroyo son síntomas del estrés ambiental que soporta el A° Rodríguez desde hace varios años. Esta contribución permite visualizar la acción del impacto urbano-industrial en los arroyos estudiados y provee elementos de diagnóstico a partir de los cuales pueden surgir pautas para atenuar los efectos del avance de la frontera urbana sobre los ambientes naturales y de esta manera lograr el uso armónico del medio natural. Por tal motivo, se aportan recomendaciones al momento de intervenir los arroyos urbanos:

~ Reducir el dragado y desmalezado de la vegetación acuática debido a que esta provee heterogeneidad al sustrato y es un recurso utilizado por los macroinvertebrados ya sea como alimento o como refugio (GIORGI *et al.*, 2005). El desmalezamiento de los arroyos afecta la comunidad de macroinvertebrados incrementando la deriva y disminuyendo la

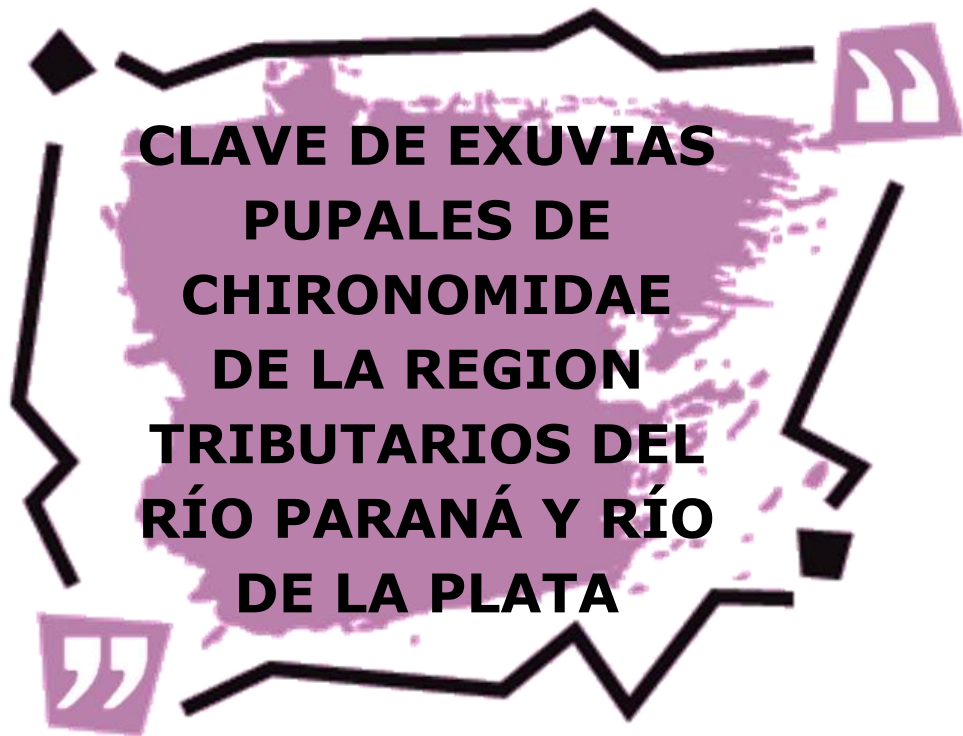
abundancia de estos organismos (DAWSON *et al.*, 1991; MONAHAN & CAFFREY, 1996). Según CORTELEZZI (2010), cuando el sedimento presenta algún tipo de disturbio que afecta la presencia de los organismos, sólo sobreviven aquellos que pueden migrar y protegerse en la vegetación. Esto también fue observado por LÓPEZ VAN OOSTEROM (2014), ya que la autora registró la mayor densidad de organismos en las zonas vegetadas.

~ Desde las autoridades correspondientes, exigir a los establecimientos industriales el acondicionamiento de sus plantas de tratamiento a fin de cumplir con la normativa vigente y de esa manera reducir los aportes de contaminantes al arroyo.

Si se analiza el A° Carnaval, un arroyo urbano próximo al A° Rodríguez, pero sin la presencia de vertidos industriales y con menor intervención antrópica se pueden observar altos valores de diversidad y riqueza de especies. Además, LÓPEZ VAN OOSTEROM (2014) observó la presencia de organismos sensibles a la contaminación ambiental al igual que lo reportado por FERNÁNDEZ & SCHNACK (1977).

Los arroyos presentan una gran capacidad de autodepuración, pero si continúa el vertido de desechos se llegará a un punto, en el cual no se podrán recuperar estos ambientes. En este sentido, es importante destacar que pequeñas acciones pueden generar grandes cambios para el beneficio de la biota y de los habitantes del lugar.

CAPÍTULO 5:



5.1. INTRODUCCION

La posibilidad de identificar correctamente a los ejemplares pertenecientes a esta familia es importante desde el punto de vista biológico y ecológico. Desafortunadamente, resulta difícil identificar a estos insectos a partir de sus estadios larvarios más allá del nivel de familia o subfamilia ya que su identificación requiere de mucho tiempo y conocimiento previo. Alcanzar el nivel de familia o subfamilia ignora potencialmente una gran cantidad de información que se puede obtener de estos organismos. El uso de exuvias pupales reduce algunas de las dificultades asociadas con la identificación de larvas de quironómidos ya que las exuvias se recolectan, procesan e identifican fácilmente y es a menudo posible alcanzar el nivel de especie, mientras que la identificación de larvas a nivel de especie requiere asociar los estadios larvales a la pupa o al adulto. Por todo lo anteriormente mencionado, se planteó como cuarto objetivo específico elaborar una clave de identificación de exuvias pupales de Chironomidae para arroyos de la región Tributarios del río Paraná y Río de la Plata.

5.2. ALCANCE DE LA CLAVE

Esta clave se realizó a partir del análisis del material recolectado en los arroyos bajo estudio en el presente trabajo. En consecuencia, esta guía de identificación está destinada a ser una clave integral de las exuvias pupales de Chironomidae de la región Tributarios del río Paraná y Río de la Plata y representa el primer aporte para la identificación de exuvias pupales de Chironomidae para la región. Dicha clave puede ser utilizada en la región pampeana, pero con la precaución de que las especies podrían variar y para el resto del territorio argentino solo sería aplicable hasta nivel de género. La clave incluye las determinaciones a nivel de subfamilia, tribu, género y especie (o morfoespecie). En esta contribución se aportan las especies o morfoespecies registradas en la zona de estudio y los niveles superiores de la clave fueron tomados y modificados de WIEDERHOLM (1986).

La mayoría de los taxones presentes en la clave no están descriptos en la fase de pupa. Como resultado, a muchos de los determina como morfoespecies (por ejemplo, *Ablabesmyia* sp.1) o taxones no identificados (por ejemplo, Chironomini indeterminado #1). Las crías de larvas en laboratorio permitirán asociar las fases inmaduras con los adultos.

5.3. CÓMO USAR ESTA CLAVE

Las claves para subfamilia, género y especie son del tipo dicotómicas que consisten en una serie de pareados que se centran en estados de caracteres alternativos emparejados. En cada uno de estos pareados, se incluyen fotos para facilitar y guiar las decisiones. Dichas fotos son de las especies halladas en esta región y todo el material fotografiado corresponde a los muestreos realizados para el desarrollo de este trabajo. En primer lugar, a medida que se avanza por la clave, eventualmente se llegará a un pareado terminal con el nombre de la subfamilia acompañada por el número de página. Esto facilitará al lector dirigirse rápidamente a la página donde se encuentra la clave de géneros. Una vez que se llega a género, si éste presenta un solo morfotipo, la clave termina en este punto. Sin embargo, si el género presenta más de un morfotipo, se proporciona una clave a nivel específico, lo cual será indicado por un número de página que acompaña a dicho género.

5.4. MORFOLOGÍA

La identificación de los quironómidos requiere el conocimiento de su morfología. Existen una serie de estructuras morfológicas características que se utilizan comúnmente para separar los taxones de quironómidos, lo que hace que sea más fácil de observar y reconocer en la exuvia pupal. La exuvia de las pupas tiene dos divisiones principales del cuerpo que se corresponden con sus tagmas: el cefalotórax y el abdomen.

Cefalotórax: en esta región se encuentran el apotoma frontal, en el cual se ubican los tubérculos cefálicos y las setas frontales; en algunas especies pueden encontrarse, además, las verrugas frontales (Fig. 5.1). También podemos encontrar las vainas alares, antenales, de las patas y de los halterios. Algunas otras características importantes incluyen al órgano respiratorio o cuerno torácico (Fig. 5.1), como la forma, el tamaño y la presencia/ausencia de este. El tórax y el cuerno torácico tienen varios grupos de setas de importancia taxonómica, que pueden variar mucho en la presencia, el tamaño y la forma (Fig. 5.2).

Abdomen: incluye ocho segmentos más un segmento adicional modificado en lóbulos anales y sacos genitales (Fig. 5.3). Los tergitos y los esternitos a menudo tienen grupos distintivos de espinas, filas de ganchos, setas y *shagreen*. El tamaño y la ubicación de estas ornamentaciones son importantes para separar muchos taxones. El uso de la presencia/ausencia, ubicación, tamaño y forma de setas o pelos también presentan importancia taxonómica para la identificación. Las setas laterales (setas L) en el abdomen se desarrollan de forma diversa, algunas setas laterales pueden ser aplanadas (setas teniadas), cuyo número aumenta hacia la parte posterior.

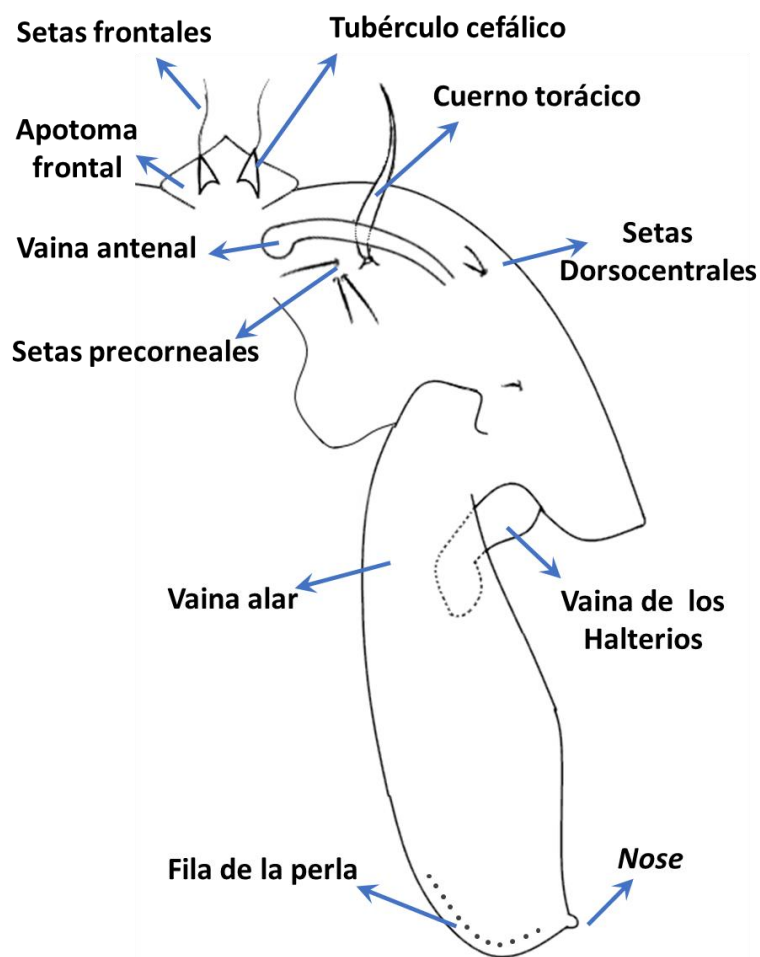


Figura 5.1: Morfología del cefalotórax de la exuvia pupal de Chironomidae.

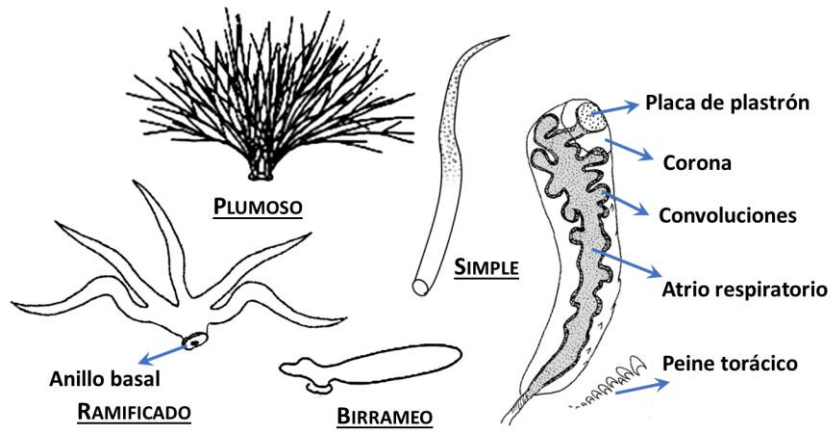


Figura 5.2: Morfología del cuerno torácico de la exuvia pupal de Chironomidae, y tipos de cuernos torácicos.

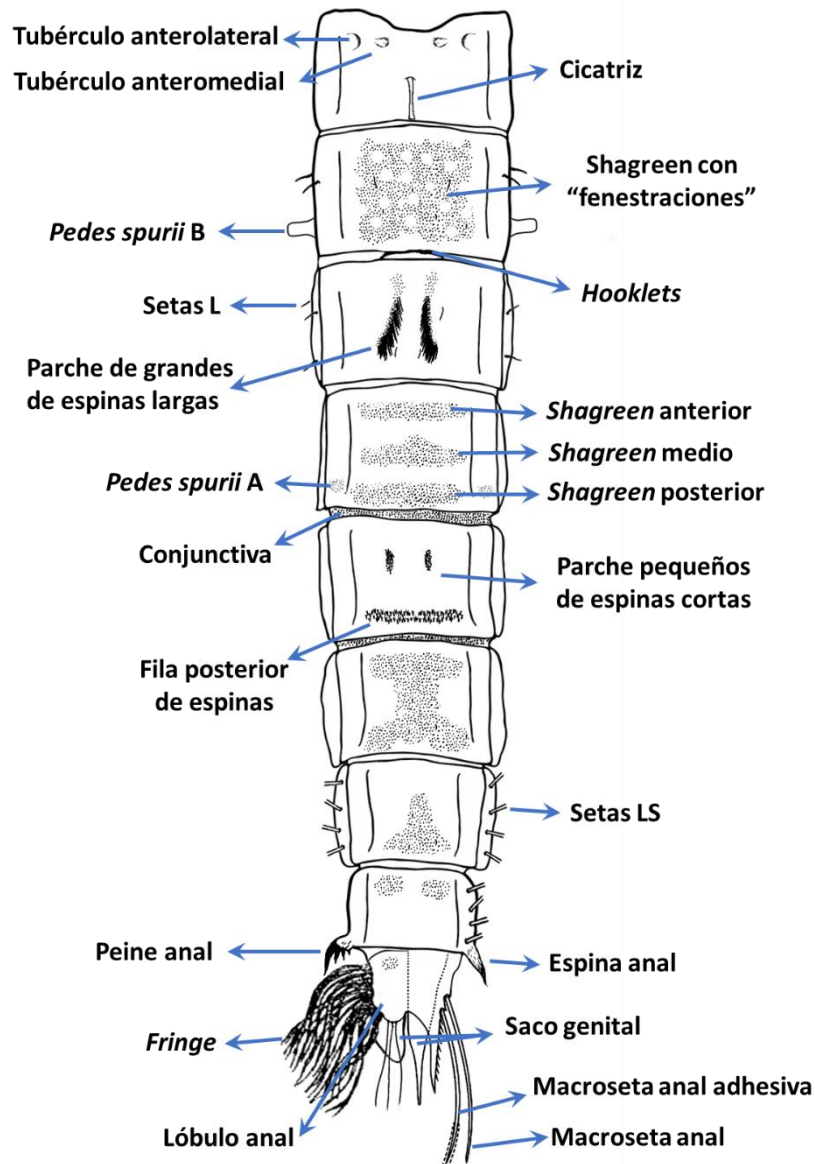


Figura 5.3: Morfología del abdomen de la exuvia pupal de Chironomidae- vista dorsal.

5.5. GLOSARIO

La terminología utilizada en esta clave sigue en gran medida a SÆTHER (1980) y LANGTON (1991). La terminología en LANGTON (1991) se ha utilizado para estructuras específicas no mencionadas en SÆTHER (1980). Algunos términos se mantuvieron en su idioma original por tratarse de terminología específica del grupo en estudio.

- ~ **Apotoma frontal:** placa delante y entre la caja de cobertura del pedicelo, generalmente portadora de setas frontales y tubérculos a menudo cefálicos.
- ~ **Atrio respiratorio:** cámara respiratoria entera en el cuerno torácico que conecta la tráquea con la placa de plastrón.
- ~ **Cicatriz:** marca característica, delineada en la tergito I en Tanypodinae.
- ~ **Circunvoluciones:** relieve o pliegue que, junto con muchos otros, forma la superficie exterior del atrio respiratorio.
- ~ **Conjuntiva:** membranas intersegmentarias que conectan los segmentos abdominales, se designan por los segmentos que conectan. Por ejemplo, la conjuntiva III/IV se encuentra entre los segmentos III y IV.
- ~ **Cuerno torácico:** estructura que se extiende desde el área anterior del tórax que la pupa usa para respirar bajo el agua. El cuerno torácico puede estar presente o ausente y puede adoptar una amplia variedad de formas: ovoide, alargada, cónica o en forma de cuña; órgano simple, bífido, ramificado a plumoso; liso, reticulado, con pocas o muchas espinas, con o sin setas; a cada lado de la parte anterior del cefalotórax.
- ~ **Espina anal:** en el segmento VIII los márgenes caudolaterales a menudo están compuestos por un solo diente, o un diente grande con espinas accesorias a lo largo de su costado.
- ~ **Espinas:** proyecciones de la pared del cuerpo diferenciadas de las espínulas en tamaño (en su mayoría 10 μm o más).
- ~ **Espínulas:** espinas diminutas que forman un patrón de hoja verde (en su mayoría de 1-8 μm de longitud)
- ~ **Esternito:** placa ventral que cubre los segmentos del abdomen de la pupa.

- ~ **Fila de perlas:** fila o filas de tubérculos pequeños y romos, a veces con poro apical, a lo largo del margen de la vaina del ala
- ~ **Filas de espinas:** filas de espinas generalmente ubicadas en el borde posterior del tergito, borde anterior del tergito o ambos.
- ~ **Fringe, del lóbulo anal:** grupo de setas filamentosas o parecidas a pelos en los márgenes laterales externos del lóbulo anal.
- ~ **Hooklet:** en el tergito II, espinas recurvadas posteriormente, pueden encontrarse en una protuberancia en forma de cresta y se compone de una o dos filas. En la mayoría de las especies forma una fila continua, pero pueden estar dispuestos en una fila interrumpida medialmente.
- ~ **Lóbulo anal:** paratergitos laterales del segmento anal (un complejo de segmentos IX, X, y XI), ocasionalmente carentes (algunos Orthoclaadiinae).
- ~ **Macroseta anal adhesiva:** macrosetas anales filamentosas en algunos Pentaneurini rodeados por una sustancia pegajosa, gelatinosa en dos tercios apicales.
- ~ **Macroseta anal:** generalmente setas largas en el extremo distal de los lóbulos anales; pueden estar ubicadas apical o lateralmente. En la mayoría de los taxones de Orthoclaadiinae hay tres, en Tanypodinae hay dos macrosetas anales y en algunas Orthoclaadiinae y todos los Chironominae están ausentes.
- ~ **Nose:** proyección distolateral del estuche alar. Está presente en la mayoría de los Tanytarsini y en algunos otros taxones.
- ~ **Parches de espinas:** grupos de espinas en la tergito que pueden estar en cualquier configuración, pareados o simples.
- ~ **Pedes spurii A:** el verticilo de espínulas en las esquinas caudolaterales del esternito IV-VIII, generalmente distintos en IV y ausentes en VII y VIII, puede reducirse a una fila de espínulas, pocas espínulas o carentes.
- ~ **Pedes spurii B:** protuberancia o extensión caudolateral en el segmento II y ocasionalmente en un III. Se cree que sirven como una ayuda estabilizadora para la pupa que le permite ondular y generar corrientes a través de su tubo para la respiración.

- ~ **Peine anal:** en el segmento VIII los márgenes caudolaterales a menudo están armados con puntas o dientes que pueden formar un peine contiguo. Se utilizan para empujar la pupa a lo largo de su tubo.
- ~ **Peine torácico:** hilera de tubérculos cónicos o dientes cerca del cuerno torácico en ciertos Tanypodinae.
- ~ **Placa plastrón:** placa apical y porosa en el cuerno torácico presente en Aphroteniinae, Podonominae, Tanypodinae y probablemente Telmatogetoninae.
- ~ **Saco genital:** membranas que cubren los tejidos genitales del adulto. En machos pueden extenderse más allá del lóbulo anal.
- ~ **Setas dorsales o Dorsocentrales:** fila longitudinal sublateral de seta (2-4) en cefalotórax.
- ~ **Setas frontales:** par de setas generalmente situados en el apotoma frontal, en ocasiones sobre los tubérculos frontales.
- ~ **Setas L:** setas simples, parecidas a pelos, que se extienden lateralmente desde los segmentos abdominales de algunos taxones.
- ~ **Setas LS:** setas grandes, anchas y amplias que se extienden lateralmente desde los segmentos abdominales inferiores de algunas especies. También pueden ser denominadas setas "teniadas".
- ~ **Setas precorneales:** setas (generalmente 3) delante del cuerno torácico (o sitio correspondiente cuando falta el cuerno).
- ~ **Shagreen** (patrón de espinas): patrón de espínulas o tubérculos diminutos en segmentos abdominales. Soptonis (1977) afirma que *shagreen* realmente se refiere a granulaciones o tubérculos redondeados, no a espínulas. Sin embargo, también puede significar cualquier estructura utilizada para la fricción.
- ~ **Shagreen con "fenestraciones":** *shagreen* con espacios lagunares sin espinas o tubérculos.
- ~ **Tergito:** placa dorsal que cubre los segmentos del abdomen de la pupa.
- ~ **Tubérculo cefálico:** un par de tubérculos redondeados o cónicos en el apotoma frontal, generalmente llevando las setas frontales.
- ~ **Vaina alar:** grandes extensiones en forma de ala, sobre el tórax que cubren las alas adultas a medida que se forman dentro de la pupa.

- ~ **Vaina antenal:** extensiones largas de la parte anterior de la cabeza de la pupa que son las cubiertas de las antenas adultas que se forman dentro de la pupa.
- ~ **Vaina de los halterios:** extensiones cortas que son las cubiertas de los segundos par de alas del adulto que se forman dentro de la pupa.

5.6. LISTA DE ESPECIES/MORFOTIPOS DE EXUVIAS DE CHIRONOMIDAE

CHIRONOMIDAE

Chironominae

Chironomini

- ~ *Apedilum elachistus* Townes, 1945
- ~ *Axarus* sp.
- ~ *Chironomus calligraphus* Goeldi, 1905
- ~ *Cryptochironomus* sp.1
- ~ *Cryptochironomus* sp.2
- ~ *Dicrotendipes embalsensis* Paggi, 1975
- ~ *Dicrotendipes nestori* Paggi, 1978
- ~ *Einfeldia* sp.
- ~ *Goeldichironomus maculatus* Trivinho Strixino & Strixiho, 1991
- ~ *Goeldichironomus* sp.1
- ~ *Parachironomus longistilus* Paggi, 1977
- ~ *Parachironomus* sp.2
- ~ *Paralauterborniela* sp.
- ~ *Polypedilum* sp.A
- ~ *Polypedilum* sp.B
- ~ *Polypedilum* sp.D
- ~ *Polypedilum* sp.E
- ~ *Polypedilum* sp.F
- ~ *Polypedilum* sp.G
- ~ Chironomini indeterminado #2
- ~ Chironomini indeterminado #3

Pseudochironomini

- ~ *Aedokritus* cf. *sartis*
- ~ *Pseudochironomus viridis* Kieffer, 1925

Tanytarsini

- ~ *Paratanytarsus corbi* Trivinho-Strixino, 2010
- ~ *Paratanytarsus grimmi* Schneider, 1885
- ~ *Rheotanytarsus* sp.1
- ~ *Rheotanytarsus* sp.2
- ~ *Tanytarsus alatus* Paggi, 1992
- ~ *Tanytarsus* sp.2
- ~ *Tanytarsus* sp.3
- ~ *Tanytarsus* sp.4
- ~ *Tanytarsus* sp.5

Orthoclaadiinae

Corynoneurini

- ~ *Corynoneura* sp.
- ~ *Lopescladius* sp.
- ~ *Onconeura analiae* Donato *et al.*, 2012
- ~ *Thienemanniella liae* Paggi, 2007
- ~ *Thienemanniella* sp.2

Metriocnemini

- ~ *Allocladius neobilobulatus* (Paggi 1993) Andersen *et al.*, 2010
- ~ *Limnophyes natalensis* Kieffer, 1914
- ~ *Metriocnemus fasciventris* Edwards 1931
- ~ *Parametriocnemus* cf. *ludbecky*
- ~ *Pseudosmittia* sp.
- ~ Metriocnemini indet #1

Orthoclaadiini

- ~ *Cricotopus* sp.1
- ~ *Cricotopus* sp.2
- ~ *Cricotopus* sp.3
- ~ *Nanocladius* sp.

Tanypodinae

Clinotanypodini

- ~ *Coelotanypus* sp.

Pentaneurini

- ~ *Ablabesmyia* cf. *fusasia*
- ~ *Ablabesmyia* sp.1
- ~ *Ablabesmyia* sp.2
- ~ *Labrundinia* sp.1
- ~ *Labrundinia* sp.2
- ~ *Labrundinia* cf. *fiorelinii*
- ~ *Larsia* sp.1.
- ~ *Larsia* sp.2.
- ~ *Larsia* sp.3.
- ~ *Metapelopia* sp.
- ~ *Monopelopia* cf. *paranaense*
- ~ *Monopelopia* nr *adelie*

Procladiini

- ~ *Djalmabatista* sp.
- ~ *Procladius* sp.

Tanypodini

- ~ *Tanypus* sp.
- ~ *Tanypus* cf. *urzulae*



1. Cuerno torácico con una placa plastrón distintiva, o malla reticulada; cuerno torácico nunca ramificado; lóbulos anales con dos macrosetas anales laterales **Tanypodinae**, pág. 137



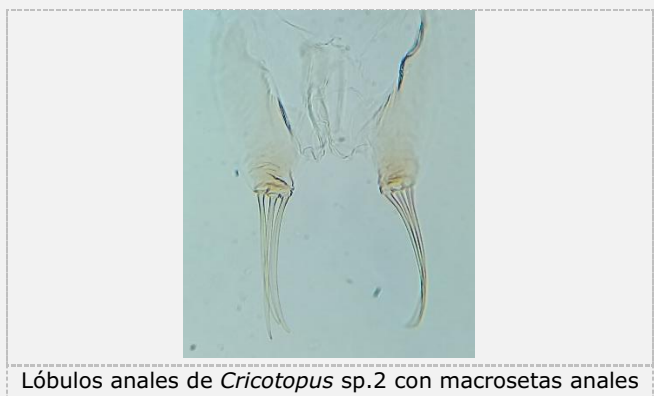
Cuerno torácico de *Larsia* sp.2

Cuerno torácico de *Ablabesmyia* sp.1

Lóbulos anales de *Ablabesmyia* sp.2

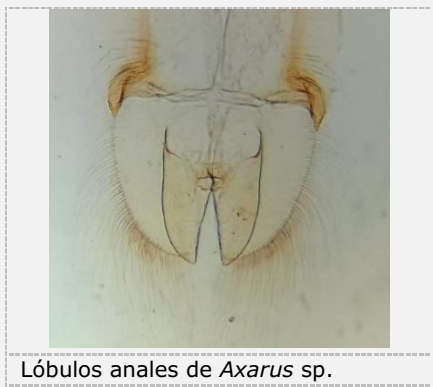
1'. Cuerno torácico, si está presente, sin una placa plastrón distintiva o una malla reticulada grande; cuerno torácico muchas veces ramificado; lóbulos anales nunca con dos macrosetas anales laterales **2**

2. Cuerno torácico nunca ramificado y frecuentemente ausente; margen caudolateral del segmento VIII sin espina o peine anal. Lóbulos anales muchas veces con macrosetas anales y en algunos con *fringe* de setas **Orthoclaadiinae**, pág. 146



Lóbulos anales de *Cricotopus* sp.2 con macrosetas anales

2'. Cuerno torácico simple, ramificado o plumoso; el margen caudolateral del segmento VIII usualmente con una espina o peine anal; lóbulos anales siempre con un *fringe* de setas **Chironominae**, pág. 151



Lóbulos anales de *Axarus* sp.

5.7.1. SUBFAMILIA TANYPODINAE

1. Cuerno torácico con una placa plastrón distintiva, algunas veces puede ser pequeña 2



Cuerno torácico de *Metapelopia* sp.

1'. Cuerno torácico sin una placa plastrón distintiva 6

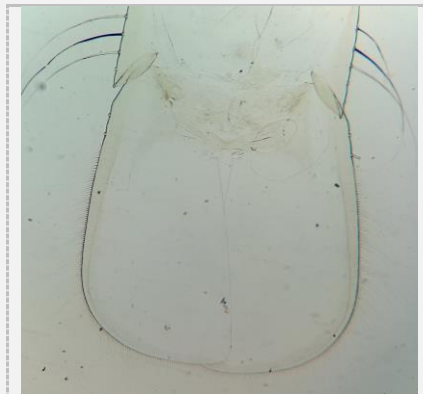
2. Lóbulos anales terminan en pronunciados tubérculos *Djalmabatista* sp.



Lóbulos anales de *Djalmabatista* sp.

2'. Lóbulos anales sin tubérculos terminales 3

3. Lóbulos anales con un margen de setas o espinas, redondeados con el borde interior recto
 *Coelotanypus* sp.



Lóbulos anales de *Coelotanypus* sp.

3'. Lóbulos anales sin un margen de setas o espinas. Solo presenta dos macrosetas laterales
 4

4. Atrio respiratorio con circunvoluciones en su superficie *Larsia*, pág. 142

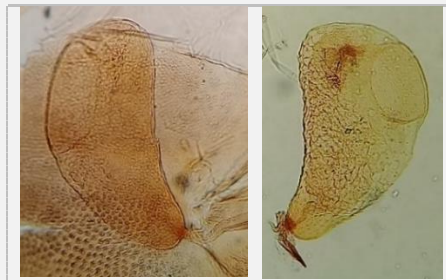


Cuerno torácico de *Larsia* sp.2 con circunvoluciones

4'. Atrio respiratorio sin circunvoluciones en su superficie 5

5. Cuerno torácico largo y robusto, placa plastrón ovalada, aproximadamente dos veces más larga que ancha. Corona ausente. Atrio respiratorio bien desarrollado alcanzando el 80% del volumen del cuerno torácico. Peine torácico ausente *Monopelopia*, pág. 143

5'. Cuerno torácico con placa de plastrón no es excepcionalmente grande, su diámetro máximo es aproximadamente la mitad del ancho máximo del cuerno. Atrio respiratorio bien desarrollado, que llena completamente el interior del cuerno. Corona presente. Cuerno torácico densamente espinoso *Metapelopia* sp.



Cuerno torácico de *Metapelopia* sp.

6. Lóbulos anales triangulares; tergito I con cicatriz y cuerno sin proyección 7



Monopelopia nr paranaense

6'. Lóbulos anales de forma variable, pero no triangular; tergito I sin cicatriz; cuerno torácico bulboso y con una proyección apical *Tanypus*, pág. 143



Cuerno torácico de *Tanypus* sp.1

7'. Cuerno torácico con malla gruesa. Lóbulos anales relativamente cortos y anchos
..... ***Ablabesmyia***, pág. 140



Cuerno torácico de *Ablabesmyia* sp.1

7. Cuerno torácico con malla fina. Lóbulo anal dos veces más largo que ancho, margen exterior de los lóbulos anales rectos ***Labrundinia***, pág. 141



Cuerno torácico de *Labrundinia* sp.2

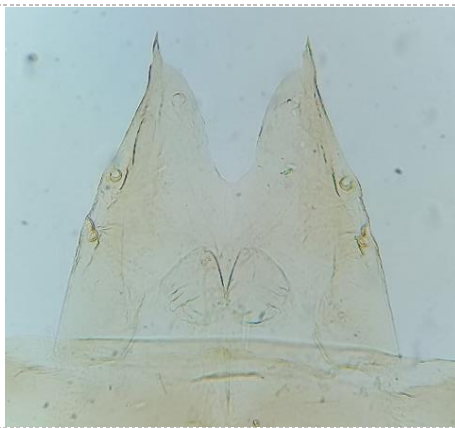
CLAVE DE LAS ESPECIES DE *ABLABESMYIA*

- 1. Lóbulos anal tres veces más largo que ancho, encorvado y sin espinas externas
..... *Ablabesmyia* cf. *fusariae*
- 1'. Lóbulos anales dos veces más largo que ancho y subtriangulares **2**

- 2. Margen exterior del lóbulo anal ligeramente cóncavo y espinoso en el tercio apical del margen, margen interior más o menos convexo y punta del lóbulo anal un poco divergente subdividida
..... *Ablabesmyia* sp.2
- 2'. Margen exterior del lóbulo anal liso y muy cóncavo en el tercio apical del margen, margen interior muy convexo y el punto de lóbulo anal muy divergente *Ablabesmyia* sp.1



Lóbulos anales de *Ablabesmyia* cf. *fusariae*



Lóbulos anales de *Ablabesmyia* sp.1

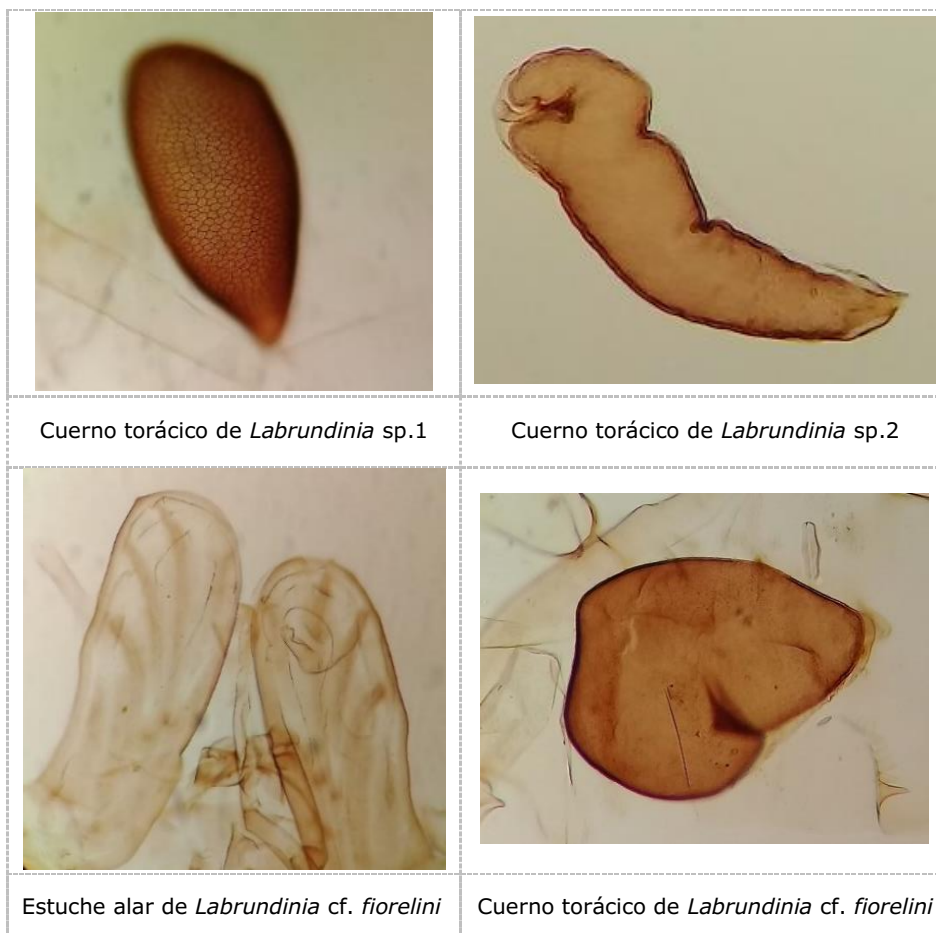


Lóbulos anales de *Ablabesmyia* sp.2

LABRUNDINIA

CLAVE DE LAS ESPECIES DE *LABRUNDINIA*

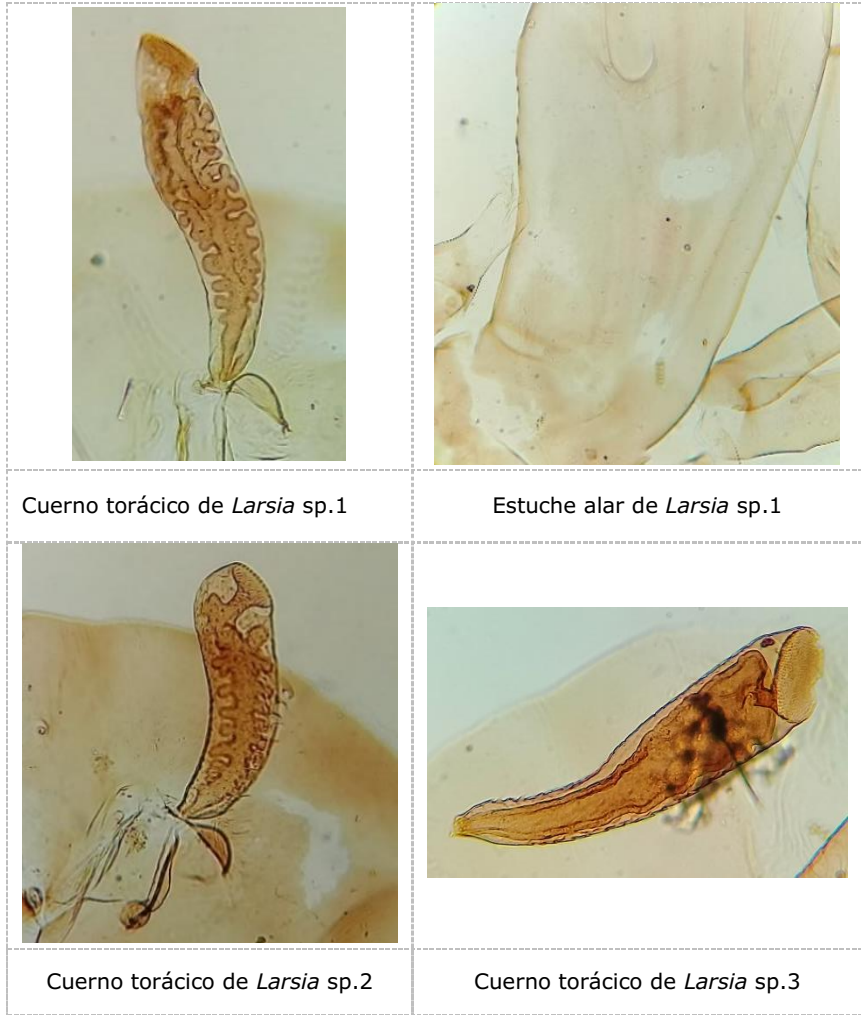
1. Segmento VII con 3 LS *Labrundinia* sp.1
1'. Segmento VII con 4 LS 2
2. Estuche alar de color uniforme, cuerno arriñonado *Labrundinia* sp.2
2'. Estuche alar marcado, cuerno globoso *Labrundinia* cf. *fiorelini*



CLAVE DE LAS ESPECIES DE LARSIA

- 1. Segmento VII con 4 LS. Cuerno sin corona y con lóbulos interconectados. Estuche alar con tres manchas *Larsia* sp.1
- 1'. Segmento VII con 3 LS 2

- 2. Cuerno con corona, cuerno con lóbulo bien aislados y redondeados. Estuche alar con dos manchas. Lóbulo anal con espinitas *Larsia* sp.2
- 2'. Estuche alar liso, cuerno en forma de trompeta *Larsia* sp.3

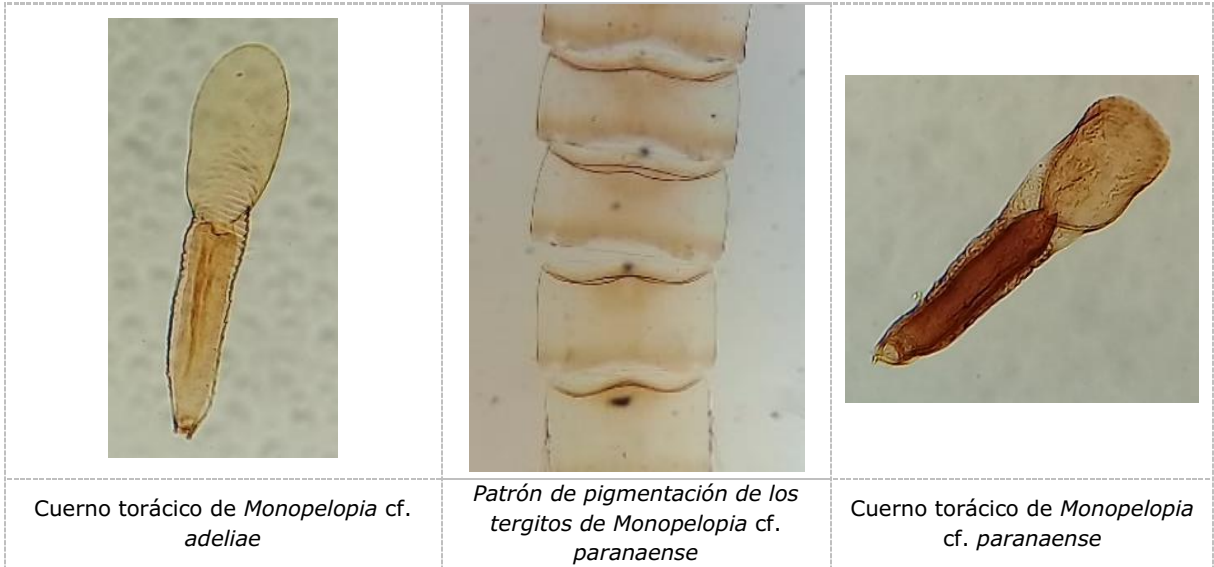


MONOPELOPIA

CLAVE DE LAS ESPECIES DE *MONOPELOPIA*

1. Parte terminal del cuerno redondeado, color uniforme en los tergitos
 *Monopelopia cf. adeliae*

1'. Parte terminal del cuerno truncada, manchas más claras a los lados de los segmentos
 *Monopelopia cf. paranaense*

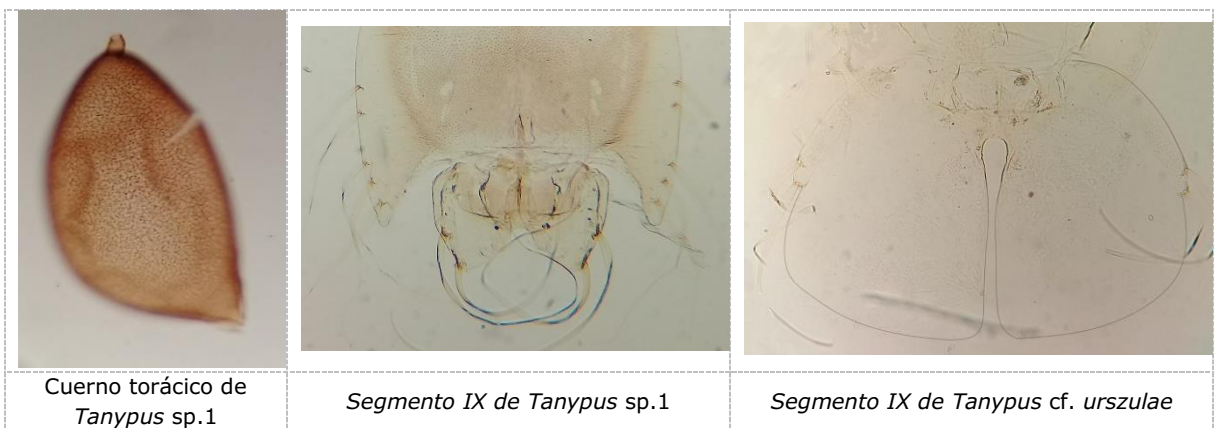


TANYPUS

CLAVE DE LAS ESPECIES DE *TANYPUS*

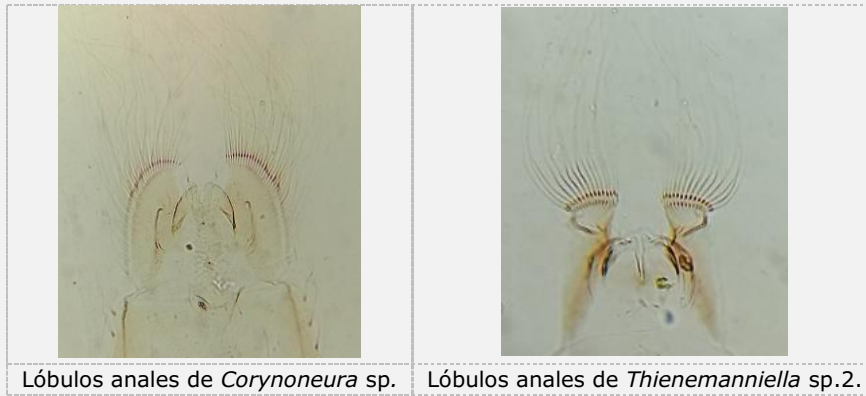
1. Lóbulos anales cuadrados, apicalmente redondeados; combinados, aproximadamente el doble de ancho que el largo; segmento VI con *fringe* de setas *Tanypus sp.1*

1'. Lóbulos anales con forma de paletas; segmento VI con LS *Tanypus cf. urszulae*



5.7.2. SUBFAMILIA ORTHOCLADIINAE

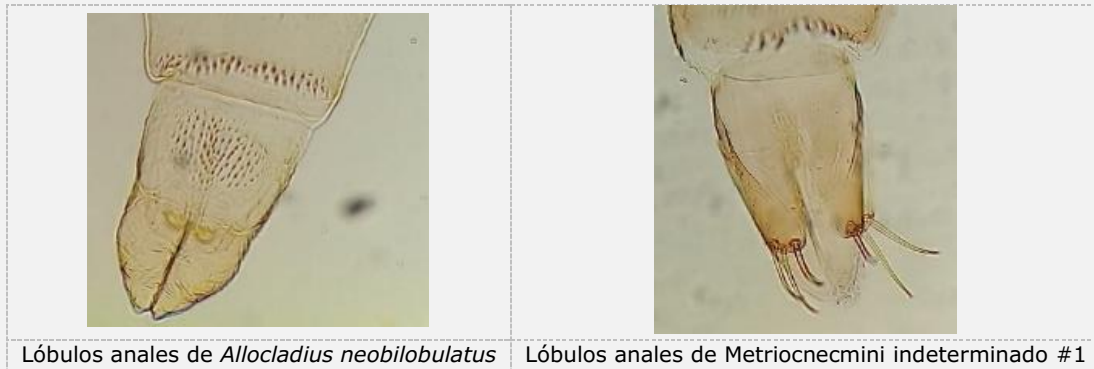
1. Lóbulos anales con margen completo o parcial de setas 2



Lóbulos anales de *Corynoneura* sp.

Lóbulos anales de *Thienemanniella* sp.2.

1'. Lóbulos anales sin margen completo o parcial de setas 6



Lóbulos anales de *Allocladius neobilobulatus*

Lóbulos anales de *Metriocnemini* indeterminado #1

2. Cuerno torácico presente 3

2'. Cuerno torácico ausente 4

3. Tergito II con *hooklet* posterior en una protuberancia distintiva *Nanocladius* sp.



Tergito II-III de *Nanocladius* sp.

3'. Sin *hooklet* posterior, pero presenta una fila posterior de espínulas en los tergitos II-VIII
 *Parametriocnemus cf lundbecki*

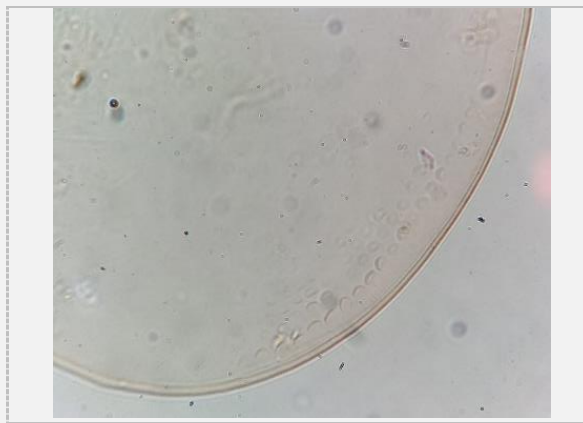
4. Con una sola macroseta en el lóbulo anal, franja de setas restringida al tercio apical, algunas setas laterales en forma de espina *Onconeura analiae* Donato *et al.*, 2012



Lóbulos anales de *Onconeura analiae*

4'. Con tres macrosetas en el lóbulo anal, parte media del lóbulo anal sin espinas, si las setas del lóbulo anal solo cubren 1/3 nunca tiene forma de espina 5

5. Presencia de filas de perlas en la vaina alar *Corynoneura* sp.



Fila de perlas en el estuche alar de *Corynoneura* sp.

5'. Sin filas de perlas en la vaina alar *Thienemanniella*, pág. 148

6. Lóbulo anal sin macrosetas. Si están presentes, son delgadas y cortas o bien en forma de espinas siempre más cortas que la mitad de la longitud de los lóbulos anales 7

6'. Lóbulo anal con macrosetas 9

7. Tergito VII-VIII con una fila de *shagreen* anterior y una fila de tubérculos posterior
 *Metriocnemus fasciventris* Edward, 1931



Tergitos de *Metriocnemus fasciventris*

7'. Tergito VII-VIII cubierto totalmente con fino *shagreen* 8

8. Tergito II-VIII con un fuerte *shagreen* anterior y posterior, con un shagreen más débil en medio de los tergitos que los une. Conjuntivo tergal III/IV, IV/V, V/VI, VI/VII con espínulas
 *Allocladius neobilobulatus* (Paggi 1993) Andersen *et al.*, 2010



Tergitos con *shagreen* anterior y posterior de *Allocladius neobilobulatus*



Conjuntivas con espínulas de *Allocladius neobilobulatus*

8'. Tergitos cubiertos completamente por fino *shagreen*, presenta fenestraciones. Conjuntivas sin espínulas
 *Pseudosmittia* sp.



Tergitos cubiertos *shagreen* con fenestraciones de *Pseudosmittia* sp.

9. *Pedes spurii* A y B presentes ***Cricotopus***, pág. 148
 9'. *Pedes spurii* A y B ausentes **10**

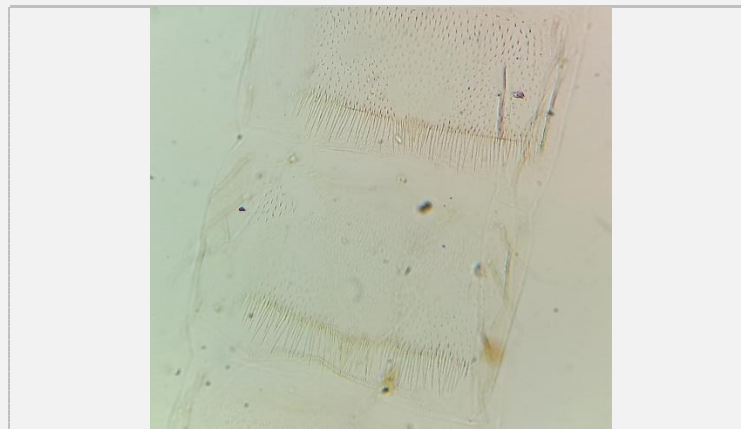
10. Lóbulos anales con una proyección apical larga, dorsalmente curvada, digitiforme y móvil
 ***Lopescladius* sp.**



Lóbulos anales de *Lopescladius* sp.

- 10'. Sin estas proyecciones en los lóbulos anales **11**

11. Terguito II cubierto completamente de fino *shagreen* con filas de espinas posteriores transversales ***Limnophyes natalensis*** Kieffer, 1914



Tergitos con filas de espinas posteriores de *Limnophyes natalensis*

- 11'. Terguito II con fino *shagreen* reducido al centro del terguito y con pocas espinas posteriores, entre 10-12 **Metriocnemiini indet. #1**

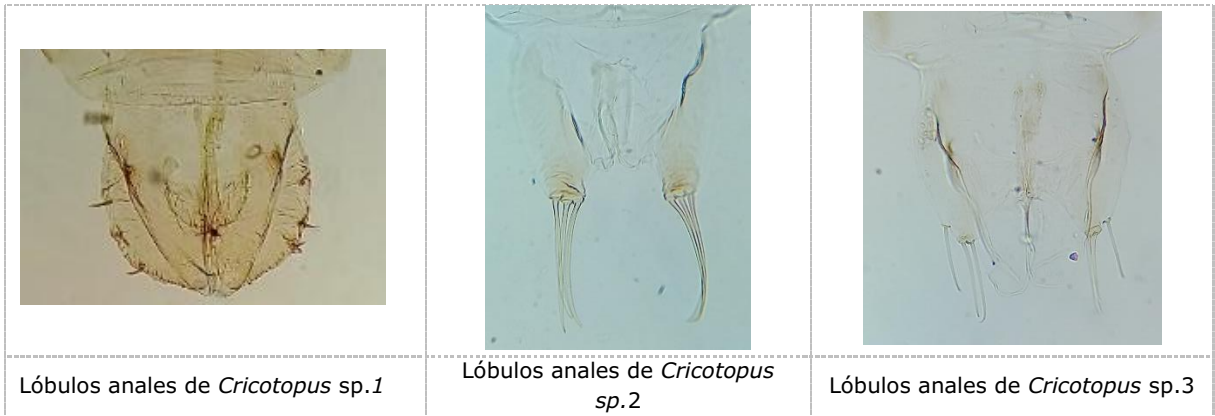


Tergitos de Metriocnemiini indet. #1

CRICOTOPUS

CLAVE DE LAS ESPECIES DE CRICOTOPUS

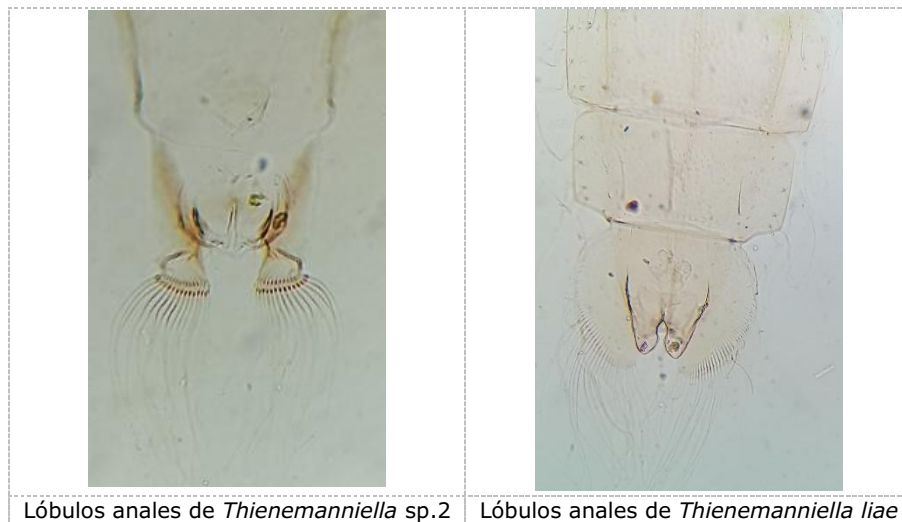
- 1. Lóbulos anales con tres macrosetas pequeñas insertadas en el tercio distal; en la parte apical de los lóbulos con pequeñas espinitas *Cricotopus* sp.1
- 1'. Lóbulos anales con tres macrosetas casi tan largas como los lóbulos anales 2
- 2. Lóbulos anales con tres macrosetas insertadas apicalmente *Cricotopus* sp.2
- 2'. Lóbulos anales con tres macrosetas, dos insertadas apicalmente y una subapical.....
.....*Cricotopus* sp.3



THIENEMANNIELLA

CLAVE DE LAS ESPECIES DE THIENEMANNIELLA

- 1. *Fringe* de setas completas *Thienemanniella liae* Paggi, 2007
- 1'. *Fringe* de setas en la parte terminal, restringido al tercio apical *Thienemanniella* sp.2



5.7.3. SUBFAMILIA CHIRONOMINAE

- 1. Vainas alares con *nose* presente 2
- 1'. Vainas alares casi siempre con *nose*; si está ausente, entonces al menos algún tergito con grupos de espinas conspicuas; cuerno torácico simple **Tanytarsini, 4**



Nose alar de Paratanytarsus corbi

- 2. Cuerno torácico con una rama, de forma tubular **Pseudochironomini, 3**
- 2'. Cuerno torácico ramificado **Chironomini, 6**

- 3. Segmento VIII con peine anal pequeño, con 3-4 dientes. Esternito I con cuatro tubérculos anteriores ***Pseudochironomus viridis* Kieffer, 1925**



Segmento I-II de Pseudochironomus viridis

- 3'. Segmento VIII con peine anal equipado con anchas espinas, dispuesto en ángulo recto en el margen distal, que ocupan 1/3 del ancho del segmento ***Aedokritus cf. sartis***



Segmento VIII y lóbulos anales de Aedokritus nr sartis

4. *Pedes spurii* A presente. Segmentos II-V (VI) con parches pareados pequeños de espínulas
 *Rheotanytarsus*, pág. 155



Parches pareados pequeños en tergitos de *Rheotanytarsus* sp.1

4'. *Pedes spurii* A ausente; Segmentos con parches pareados o no, pequeños y grandes de espinas o espínulas 4

5. Tergito IV con uno o dos parches pequeños de espinas largas anteromedial además de los parches grandes de espinas largas laterales *Paratanytarsus*, pág. 155



Parches pareados de espinas largas en tergitos de *Paratanytarsus corbi*

5'. Tergito IV no como arriba. Tergitos II-VI con combinaciones variables de pares de filas longitudinales o parches de espinas *Tanytarsus*, pág. 156

6. *Hooklet* del tergito II dividido 7



Hooklet dividido de *Einfeldia* sp.

6'. *Hooklet* continuo 8

7. Segmento anal con una proyección posteromedial bifurcada *Cryptochironomus*, pág. 157



Lóbulos anales de *Cryptochironomus* sp.1

7'. Segmento anal sin una proyección posteromedial bifurcada *Einfeldia* sp.

8. Terguito VII-VIII sin *shagreen*, lóbulo anal de aproximadamente 12-14 setas
..... *Chironomini* indet. #2



Lóbulos anales de *Chironomini* indet. #2

8'. Terguito VII-VIII con *shagreen* 9

9. Peine anal bien oscuro, con 1-4 dientes. Exuvia pequeña, transparente
 *Apedilum elachistus* Townes, 1945



Lóbulos anales de *Apedilum elachistus*

9'. Peine anal compuesto por muchos dientes. Exuvia grande de aproximadamente 5,7-6,4 mm
 **Chironomini indet. #3**



Lóbulos anales de Chironomini indet. #3

10. Cuerno torácico plumoso con menos de 20 ramas finas 11

10'. Cuerno torácico plumoso con más de 20 ramas finas 12

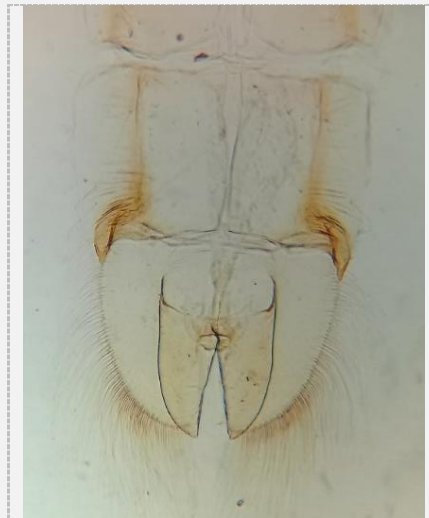
11. Tubérculos cefálicos largos y delgados con dos espínulas apicales; setas frontales largas y delgadas; tergitos IV-VIII con 4 setas LS *Paralauterborniella* sp.



Tubérculos cefálicos de *Paralauterborniella* sp.

11'. Tubérculos cefálicos variables desde ausentes hasta largos y delgados; setas frontales ausentes a largas; tergito IV con 0-3 setas LS y tergitos V-VIII con 3-5 setas LS *Polypedilum*, pág. 159

12. Tubérculos cefálicos ausentes. Lóbulo anal muy largo, aproximadamente la mitad del segmento anal *Axarus* sp.

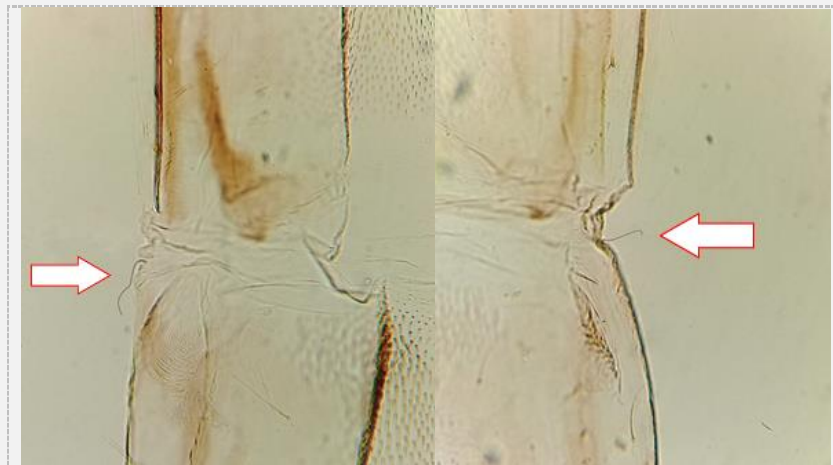


Lóbulos anales de *Axarus* sp.

12'. Tubérculos cefálicos presentes. Lóbulo anal menor que la mitad del segmento anal 13

13. Conjuntivas III/IV y IV/V con una seta L corta y fina

..... *Chironomus calligraphus* Goeldi, 1905



Conjuntivas con una seta L corta y fina de *Chironomus calligraphus*

13'. Sin setas en la conjuntiva 14

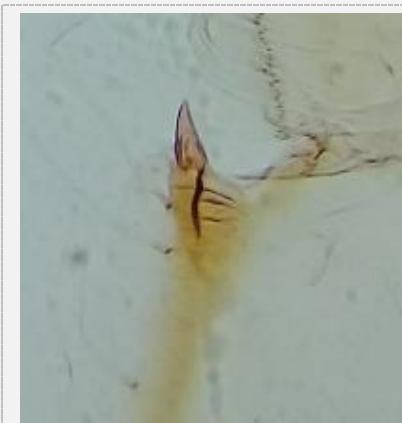
14. Segmento II con *hooklet* en solapa que sobresale posteriormente ...***Parachironomus***, pág. 158



Hooklet en solapa de *Parachironomus* sp.2

14'. Segmento II sin solapa que sobresale 15

15. Espina anal simple, larga y curva. Puede presentar tres puntas hacia su extremo distal (aunque puede verse como uno solo) ***Dicrotendipes***, pág. 157

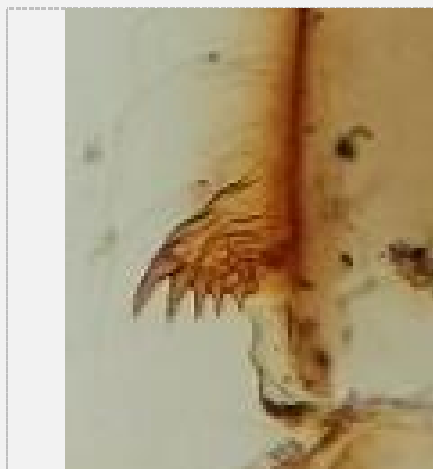


Espina anal de *Dicrotendipes nestori*



Espina anal de *Dicrotendipes embalsensis*

15'. Espina anal con varios dientes más pequeños ***Goeldichironomus***, pág. 158



Peine anal de *Goeldichironomus maculatus*



Peine anal de *Goeldichironomus* sp.1

PARATANYTARSUS

CLAVE DE LAS ESPECIES DE *PARATANYTARSUS*

1. Tergito IV con dos parches grandes laterales y dos parches más pequeños centrales. Vaina alar sin fila de perlas. Tubérculos cefálicos presentes *Paratanytarsus corbi* Trivinho-Strixino, 2010

1'. Tergito IV con dos parches grandes laterales y un parche central más pequeños. Vaina alar con perlas. Tubérculos cefálicos ausentes *Paratanytarsus grimmii* Schneider, 1885



Tergitos IV con parches de espinas de *Paratanytarsus corbi*



Tergitos IV con parches de espinas de *Paratanytarsus grimmii*

RHEOTANYTARSUS

CLAVE DE LAS ESPECIES DE *RHEOTANYTARSUS*

1. Parches pequeños presentes en los tergitos II-V, segmento VIII con 5 setas LS

..... *Rheotanytarsus* sp.1

1'. Parches presentes solo en los segmentos II-IV, segmento VIII con 4 setas LS

..... *Rheotanytarsus* sp.2



Tergitos con parches pequeños de *Rheotanytarsus* sp. 1

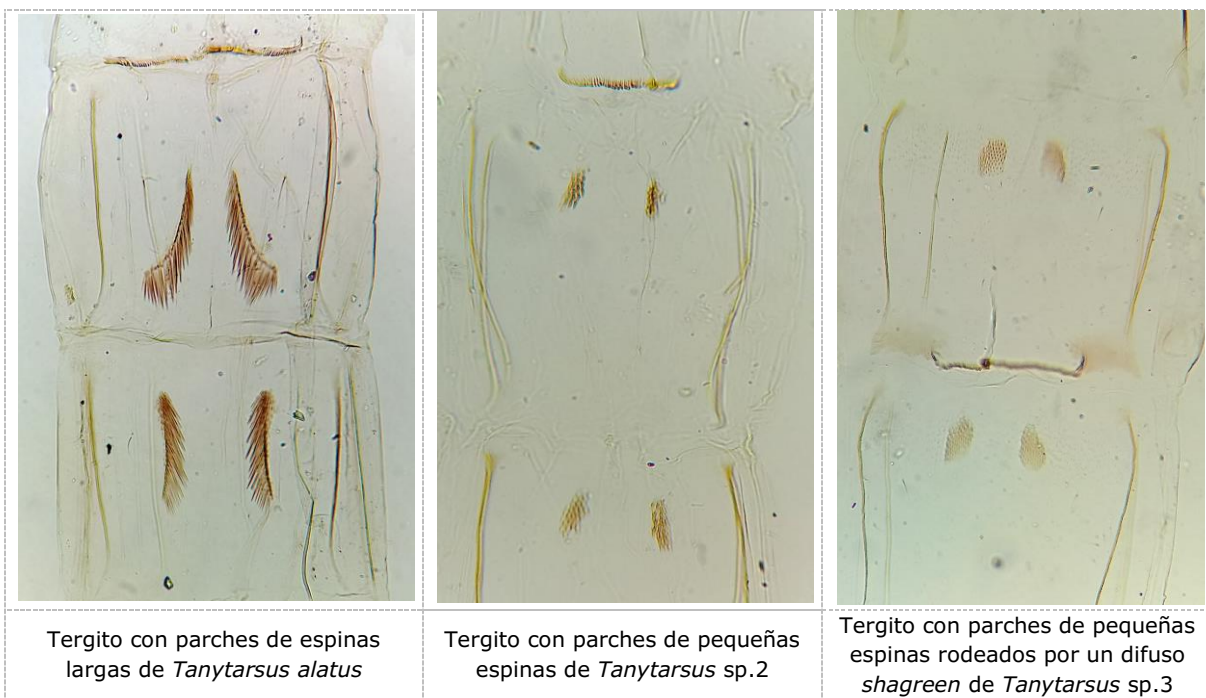
CLAVE DE LAS ESPECIES DE *TANYTARSUS*

- 1. Tergito III con 2 parches grandes de espinas largas 2
- 1'. Tergito III con 2 parches circulares pequeños 4

- 2. Tergito IV con 2 parches grandes de espinas largas *Tanytarsus alatus* Paggi, 1992
- 2'. Tergito IV con 2 parches pequeños de espinas cortas 3

- 3. Tergito VI con 2 parches pequeños de pequeñas espinas cortas *Tanytarsus* sp.4
- 3'. Tergito VI sin parches de espinas *Tanytarsus* sp.5

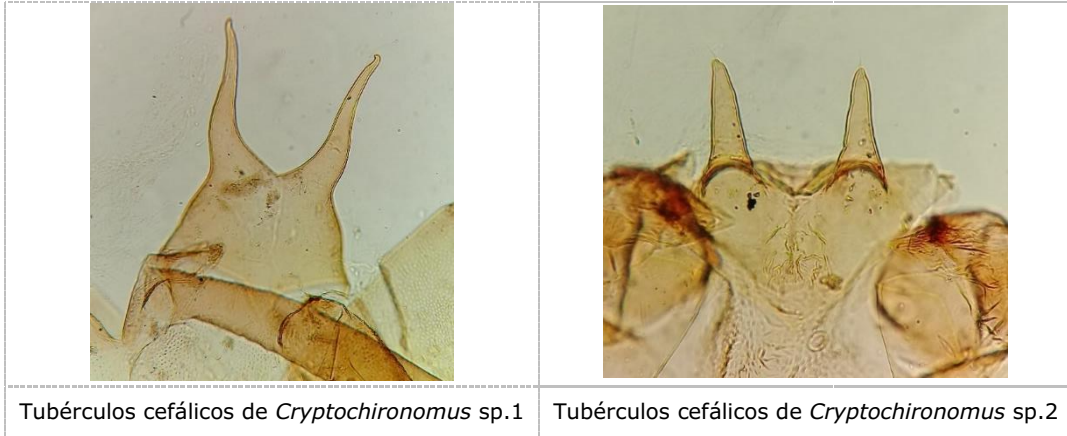
- 4. Tergito II- VI con parches pequeños rodeados de *shagreen* más difuso *Tanytarsus* sp.3
- 4'. Tergito III- VI con parches pequeños *Tanytarsus* sp.2



CRYPTOCHIRONOMUS

CLAVE DE LAS ESPECIES DE CRYPTOCHIRONOMUS

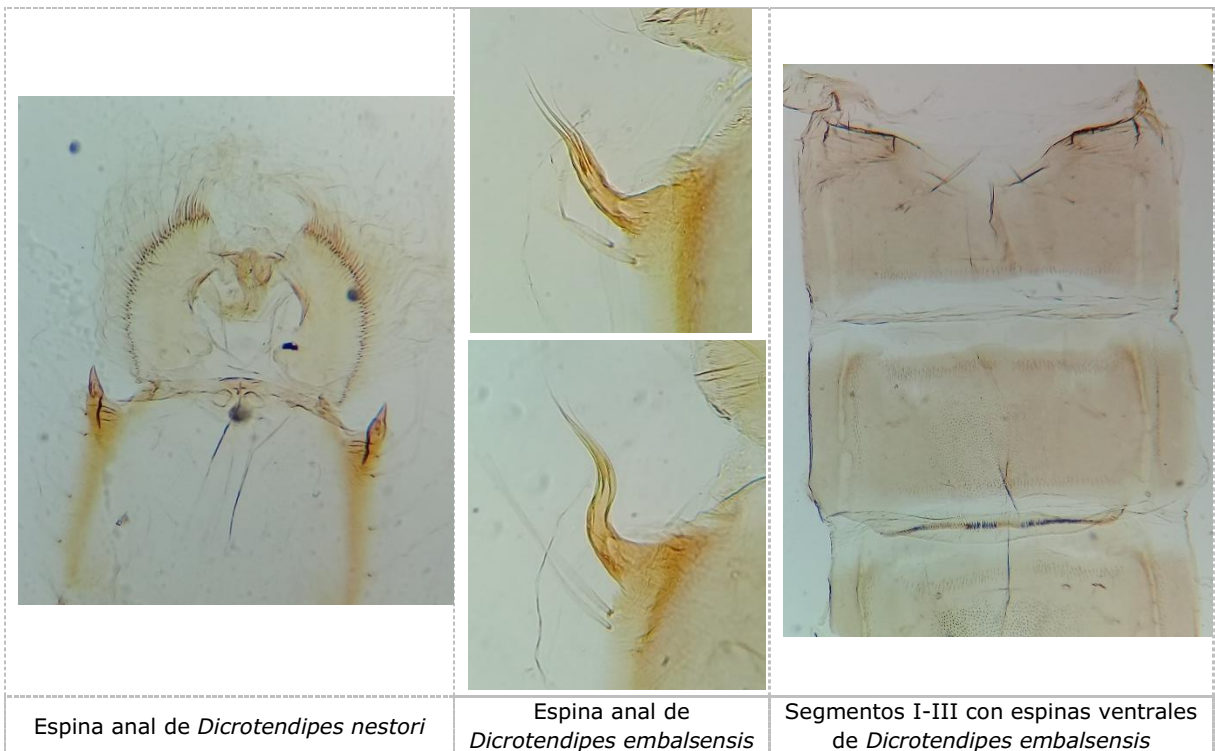
- 1. Tubérculos cefálicos fusionados en su base *Cryptochironomus* sp.1
- 1'. Tubérculos cefálicos separados en su base *Cryptochironomus* sp.2



DICROTENDIPES

CLAVE DE LAS ESPECIES DE DICROTENDIPES

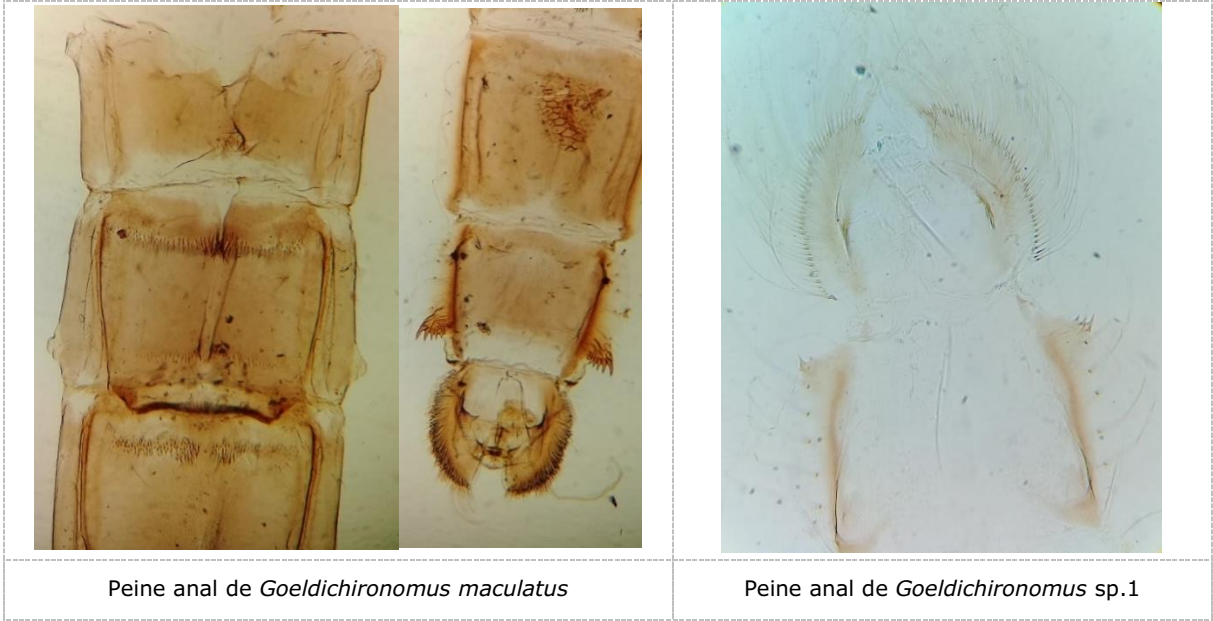
- 1. Espina anal simple *Dicrotendipes nestori* Paggi, 1978
- 1'. Espina anal fina recurvada con tres puntas; esternitos I-III con filas de espinas anteriores
..... *Dicrotendipes embalsensis* Paggi, 1975



GOELDICHIRONOMUS

CLAVE DE LAS ESPECIES DE GOELDICHIRONOMUS

1. Peine anal consiste en 4-6 dientes con una base común, esternito I-III con filas de espinas
..... *Goeldichironomus maculatus* Trivinho Strixino & Strixiho, 1991
- 1'. Peine anal con 4-5 dientes unidos basalmente, esternito sin filas de espinas
..... *Goeldichironomus* sp.1



PARACHIRONOMUS

CLAVE DE LAS ESPECIES DE PARACHIRONOMUS

1. Segmento VIII sin espina o peine anal *Parachironomus longistilus* Paggi, 1977
- 1'. Segmento VIII con espina o peine anal *Parachironomus* sp.2



CLAVE DE LAS ESPECIES DE *POLYPEDILUM*

- 1. Tergito II con filas anteriores de espínulas fuertes 2
- 1'. Tergito II sin espinas fuertes, pero pueden presentar *shagreen* 5

- 2. Segmento VIII sin peine anal *Polypedilum* sp.G
- 2'. Segmento VIII con espina o peine anal presente 3

- 3. Espina anal con un solo diente *Polypedilum* sp.D
- 3'. Peine anal con más de un diente 4

- 4. Peine anal con un diente principal y 2-3 dientes accesorios *Polypedilum* sp.F
- 4'. Peine anal multidentado *Polypedilum* sp.E

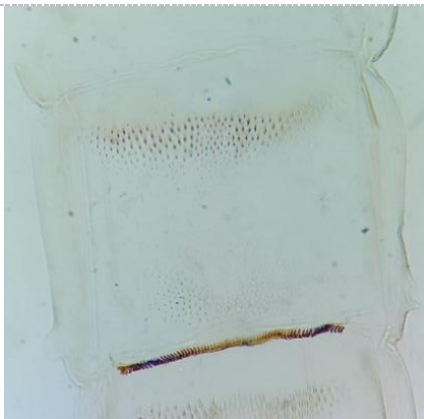
- 5. Tergito III solo con banda de espínulas débiles anteriores y posteriores *Polypedilum* sp.A
- 5'. Tergito III con *shagreen* con fenestraciones que cubre todo el segmento, puede remarcarse una banda de *shagreen* anterior *Polypedilum* sp.B



Tergito III de *Polypedilum* sp.A



Tergito III de *Polypedilum* sp.B



Tergito II de *Polypedilum* sp.D



Tergito II de *Polypedilum* sp.E



Peine anal de *Polypedilum* sp.E



Peine anal de *Polypedilum* sp.F

CAPÍTULO 6:



Los resultados del presente trabajo de tesis doctoral permitieron ampliar el conocimiento de la riqueza taxonómica de géneros y especies identificados para la región. De un total de 24 taxones registrados previamente se incrementó a 62 taxones correspondientes a las subfamilias Chironominae, Orthocladiinae y Tanypodinae y además se extendió la distribución de géneros y especies previamente registrados.

El análisis fenológico y del voltinismo permitió conocer cómo varían los ciclos de vida de las especies pampeanas y qué variables contribuyen con esta variación. Para la región de estudio se pudo registrar que el tiempo de desarrollo y emergencia en los quironómidos están determinados por las condiciones ambientales como las precipitaciones, el fotoperiodo y la temperatura del agua y aire y las respuestas específicas de las especies a estos factores. En este sentido, se observó que la subfamilia Chironominae emerge principalmente en el verano y Orthocladiinae a finales del invierno. Tanypodinae no presentó un comportamiento claro durante el ciclo anual bajo estudio. En cuanto al voltinismo, las especies presentes en los arroyos de la región Tributarios del río Paraná y Río de la Plata fueron mayormente univoltinas y en menor proporción bi y multivoltinas. Las univoltinas y multivoltinas estuvieron mayormente dominadas por la subfamilia Chironominae, en cambio en las bivoltinas, los Chironominae y Tanypodinae estuvieron igualmente representados. En Orthocladiinae todas sus especies presentaron ciclos univoltinos. Este conocimiento permitió aceptar la primera hipótesis planteada.

Conocer el patrón de emergencia de las especies de Chironomidae aporta información relevante sobre la abundancia y la riqueza de especies. El desconocimiento de esto puede causar sesgos importantes en la muestra, lo que conduce principalmente a una subestimación de estas variables en el sitio estudiado. Además, la identificación de los patrones de emergencia puede contribuir de manera fundamental en los programas de biomonitoreo, ya que muchas especies indicadoras emergen en diferentes estaciones del año. El conocimiento de esta información es esencial para minimizar esfuerzo y costos en los programas de conservación.

Comprender los cambios en la biodiversidad asociados con los impactos antropogénicos es crucial para los ecólogos, y será esencial para el éxito futuro de las

decisiones de conservación. En este sentido, se corroboró la segunda hipótesis ya que a través de la CPET se encontraron ensambles de especies indicadoras adecuadas para evaluar la calidad de aguas en arroyos urbanos permitiendo diferenciar los efectos de este uso sobre los sistemas acuáticos de la región Tributarios del río Paraná y Río de La Plata. Este estudio contribuye a la creciente evidencia internacional de que las especies de quironómidos son indicadores sensibles y robustos de contaminación.

Por otro lado, si hablamos de la densidad en respuesta a la contaminación orgánica, se observaron aumentos drásticos para los taxones tolerantes y la eliminación de taxones sensibles. En los arroyos estudiados, *Chironomus calligraphus* y *Cricotopus* sp.1 tienden a ocurrir comúnmente en bajas densidades, sin embargo, sus densidades aumentan notablemente cuando los hábitats en los que se encuentran están expuestos a mayor concentración de materia orgánica. La estructura de la comunidad de quironómidos en el arroyo Rodríguez fue muy diferente a la encontrada en los sitios de referencia. Se registraron menos especies de quironómidos en este sitio, pero con una mayor abundancia. Además, el índice de Valor Indicador nos muestra a *C. calligraphus*, *Cricotopus* sp.1 como especies indicadoras y a *Dicrotendipes embalsensis* como especie detectora de cambio. Estas especies son buenos indicadores de contaminación antrópica ya que aumentaron su abundancia al mismo tiempo que desaparecían otras especies más sensibles a la perturbación antrópica. Estos resultados permitieron corroborar la tercera hipótesis.

Con esta contribución se realiza un primer aporte al conocimiento de las preferencias ecológicas de las especies de Chironomidae en los arroyos pampeanos con respecto a variables fisicoquímicas. Estos óptimos y tolerancias contribuyen al conocimiento de la autoecología de las especies, requisito previo para comprender los efectos de la contaminación. Luego podremos agrupar especies con requerimientos ecológicos similares para evitar problemas taxonómicos y de costos, principalmente en términos de esfuerzo, permitiéndonos utilizar niveles taxonómicos más altos en los programas de biomonitorio.

Mediante esta contribución se recomienda trabajar al nivel de especie debido a que reduce los problemas asociados a concluir a partir de resultados que analicen taxones agrupados con tolerancias e historias de vida potencialmente diferentes. Aunque la especie es el nivel taxonómico apropiado para la mayoría de los trabajos de biomonitorio, el nivel

de identificación dependerá en última instancia de las metas y objetivos del estudio y de los recursos disponibles.

En el hemisferio sur, los estudios con Chironomidae en áreas disturbadas aún son escasos en comparación con Europa y América del Norte. Por lo tanto, los resultados de esta contribución son un avance en la investigación sobre el uso de la familia Chironomidae para el biomonitoreo de ecosistemas acuáticos. Esta información podrá contribuir con la aplicación de iniciativas de conservación adecuadas para la protección de la biodiversidad acuática neotropical.

La aplicación de la Técnica de Exuvias Pupales de Chironomidae para arroyos de la región Tributarios del Paraná y Río de la Plata permitió obtener resultados sobre la fenología y la ecología de Chironomidae y presentó ventajas relevantes durante el desarrollo de esta contribución ya que posibilitó una reducción del tiempo de muestreo, de separación del material biológico y de la identificación de exuvias pupales debido a que no requirió aclarado de los individuos y la mayoría de los especímenes fueron identificados de manera precisa a nivel de especie sin montaje o sólo con un montaje temporal e inspección bajo un microscopio estereoscópico.

Debido a lo anteriormente expuesto, este estudio basado en la CPET constituye una novedad para la región y una herramienta potencial para ser utilizada en diferentes ambientes acuáticos de nuestro país. Es un primer aporte al conocimiento de base para futuras aplicaciones en biomonitoreo mediante el reconocimiento de asociaciones de especies de Chironomidae indicadoras de diferentes condiciones ambientales. Asimismo, los estudios realizados contribuyen al conocimiento taxonómico y ecológico de esta familia.

PERSPECTIVAS FUTURAS

En base a la información aportada por esta contribución y a los interrogantes que permite plantear, se sugieren líneas de investigación futuras que complementarán los aportes realizados:

- ❖ Análisis de la fenología diaria de las especies pampeanas de Chironomidae en diferentes estaciones del año.
- ❖ Ampliación del conocimiento de los límites de tolerancia de las especies de Chironomidae contemplando un mayor rango de condiciones ambientales (mayor cantidad de arroyos con distintas condiciones de calidad del agua).
- ❖ Calibración y validación de la utilización de ensayos en laboratorio, tanto para la supervivencia como efectos subletales en Chironomidae. Esto permitirá generar una base de datos de la toxicidad de diferentes compuestos de las especies locales y abordar mejor los monitoreos de evaluación de la calidad del agua de arroyos pampeanos.

CAPÍTULO 7:



- AABA- ATLAS AMBIENTAL DE BUENOS AIRES. 2013. <http://www.atlasdebuenosaires.gov.ar>
- ADA- AUTORIDAD DEL AGUA. 2020. Monitoreo integral del arroyo Rodríguez. Gobierno de la Provincia de Buenos Aires. IF-2020-24953189-GDEBA-DPTGARHADA
- ALLAN, J.D. 1995. Stream ecology: structure and function of running waters. Chapman & Hall. 388 pp.
- ALLAN, J.D. 2004. Landscapes and riverscapes: the influence of land use on stream ecosystems. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 3:257–284.
- ALLAN, J.D. & M.M. CASTILLO. 2007. *Stream Ecology: Structure and Function of Running Waters*. 2nd Ed., Chapman and Hall. Springer Netherlands, Dordrecht.
- ALTERMATT, F. 2010. Climatic warming increases voltinism in European butterflies and moths. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 277: 1281–1287. <http://doi.org/10.1098/rspb.2009.1910>
- ALVES, R.G. & J.V. LUCCA. 2000. Oligochaeta (Annelida: Clitellata) como indicador de poluição orgânica em dois córregos pertencentes à Bacia do Ribeirão do Ouro Araraquara (São Paulo-Brasil). *Brazilian Journal of Ecology*, 4(1–2):112–117.
- ANDERSON, T. 2007. Contributions to the Systematics and Ecology of Aquatic Diptera-A Tribute to Ole A. Sæther. 99-105 Caddis Press.
- ANDERSON, A.M. & L.C. FERRINGTON. 2011. Proceedings of 18th International Symposium on Chironomidae on Fauna norvegica. 31
- ANDERSON, A.M. & L.C. FERRINGTON. 2012. Time-efficiency of sorting Chironomidae surface-floating pupal exuviae samples from urban trout streams in Northeast Minnesota, USA. In E. E. Stur & K. Aagaard (Eds.), 18th International Symposium on Chironomidae. Trondheim, Norway: Fauna norvegica.
- ANDERSEN, T.; O.A. SÆTHER & H.F. MENDES. 2010. Neotropical *Allocladius* Kieffer, 1913 and *Pseudosmittia* Edwards, 1932 (Diptera: Chironomidae). *Zootaxa* 2472: 1–77.
- ANDERSON, A.M.; P. KRANZFELDER; A.T. EGAN & L.C. FERRINGTON. 2014. Survey of Neotropical Chironomidae (Diptera) on San Salvador Island, Bahamas. *Florida Entomologist* 97: 304-308.
- ANDRADE, M.L. 1986. Factores de deterioro ambiental en la cuenca del Rio Lujan. En: *Contribución del Instituto de Geografía, Facultad de Filosofía y Letras (UBA), Buenos Aires*, 224 pp.
- ANJOS, A.F. & A.M. TAKEDA. 2010. Estrutura da comunidade das larvas de Chironomidae (Insecta: Diptera), em diferentes substratos artificiais e fases hídricas, no trecho superior do rio Paraná, Estado do Paraná, Brasil. *Acta Scientiarum Biological Sciences*, 32: 131-140. DOI: <http://dx.doi.org/10.4025/actascibiols.v32i2.5387>.
- AÑON SUAREZ, D. 2002. Life history and secondary production of *Ablabesmyia reissi* (Diptera: Chironomidae) from lake Escondido, Bariloche, Argentina. *Journal of the North American Benthological Society* 21(3):414–429
- APHA- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. 1998. In: Eaton AD, Clesceri LS, Rice EW and Greenberg AE (Eds), *Standard methods for the examination of water and wastewater* 20th edition, American Water Works Association; Water Pollution Control Federation, Washington DC, 1325 p
- ARIAS, M.; A. SCALISE; M. SOLIS; A. PARACAMPO; M. INDACO; S. FANELLI; H. MUGNI & C. BONETTO. 2020. Horticulture affects macroinvertebrate assemblages in adjacent streams (Buenos Aires, Argentina). *Knowledge & Management of Aquatic Ecosystems* 421(5): 1-10. <https://doi.org/10.1051/kmae/2019048>

- ARMITAGE, P.D. 1995. Behaviour and ecology of adults. In: Armitage, P.D.; P.S. Cranston & L.C.V. Pinder (Eds.). *The Chironomidae: The biology and ecology of non-biting midges*. Chapman & Hall. pp 194-224
- ARMITAGE, P.; P.S. CRANSTON & L.C.V. PINDER. 1995. *The Chironomidae: The biology and ecology of non-biting midges*. Chapman & Hall, London, New York.
- ASHE, P.; D.A. MURRAY & F. REISS. 1987. The zoogeographical distribution of Chironomidae (Insecta: Diptera). *Annales of Limnologie* 23:27–60.
- ATHOR, J. 2009. Parque Costero del Sur – Naturaleza, conservación y patrimonio cultural. Fundación de Historia Natural “Félix de Azara”. Buenos Aires. 528 pp
- BANDA NORIEGA, R.B. & V.A. RUIZ DE GALARRETA. 2002. Riesgo de contaminación hídrica subterránea por actividad industrial, cuenca de los arroyos Martín y Carnaval, Buenos Aires, Argentina.”. Congreso XXXII IAH & VI ALHSUD “Aguas Subterráneas y Desarrollo Humano”. Mar del Plata.
- BARBOUR, M.T.; J. GERRITSEN; B.D. SNYDER & J.B. STRIBLING. 1999. Rapid bioassessment protocols for use in streams and wadeable rivers: periphyton, benthic macroinvertebrates and fish. (2nd ed., Vol. EPA 841-B-99-002) (2nd ed.). Washington, D.C.: U.S. Environmental Protection Agency, Office of Water.
- BAUER, D.E., M.E. CONDE & N. GÓMEZ. 2002. Phytoplankton of a small lowland stream related to water quality and hydraulic discontinuities. *Archiv Fur Hydrobiologie* 153(3): 421-442.
- BEASLEY, G., & P. KNEALE. 2002. Reviewing the impact of metals and PAHs on macroinvertebrates in urban watercourses. *Progress in Physical Geography* 26(2): 236-270.
- BENEBERU, G.; S. MENGISTOU; H. EGGERMONT & D. VERSCHUREN. 2014. Chironomid distribution along a pollution gradient in Ethiopian rivers, and their potential for biological water quality monitoring. *African Journal of Aquatic Science*, 39(1): 45–56
- BENKE, A.C. & D.I. JACOBI. 1994. Production dynamics and resource utilization of snag dwelling mayflies in a blackwater river. *Ecology* 75: 1219-1232.
- BERG, M.B. & R.A. HELLENTHAL. 1992. The role of Chironomidae in energy flow of a lotic ecosystem. *Netherlands Journal of Aquatic Ecology* 26:471-476.
- BERGER, E.; P. HAASE; R.B. SCHÄFER & A. SUNDERMANN. 2018. Towards stressor-specific macroinvertebrate indices: which traits and taxonomic groups are associated with vulnerable and tolerant taxa?. *Science of the Total Environment* 619:144-154. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.11.022>
- BESSE, J.P. & J. GARRIC. 2009. Progestagens for human use, exposure and hazard assessment for the aquatic environment. *Environmental Pollution* 157:3485–3494.
- BINKLEY, D.; G.G. ICE; J. KAYE & C.A. WILLIAMS. 2004. Nitrogen and phosphorus concentrations in forest streams of the United States. *Journal of the American Water Resources Association* 40(5): 1277-1291.
- BIRKS, H.J.B.; J.M. LINE; S. JUGGINS; A.C. STEVENSON & C.J.F. TER BRAAK. 1990. Diatoms and pH reconstruction. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*. 327:263–278
- BJØRNSTAD O. N. & B.T. GRENFELL. 2001. Noisy clockwork: time series analysis of population fluctuations in animals. *Science* 293: 638–43.
- BLAKELY, T.J. & J.S. HARDING. 2005. Longitudinal patterns in benthic communities in an urban stream under restoration. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research* 39(1):17-28.

- BOCCOLINI, M. F.; A. M. OBERTO & M. C. CORIGLIANO. 2005. Calidad ambiental en un río urbano de llanura. *Biología acuática* 22: 59–69.
- BONADA, N.; N. PRAT; V.H. RESH & B. STATZNER. 2006. Developments in aquatic insect biomonitoring: a comparative analysis of recent approaches. *Annual Review of Entomology* 51:495–523. doi: 10.1146/annurev.ento.51.110104.151124
- BONAL, R.; M. HERNÁNDEZ; J.M. ESPELTA; A. MUÑOZ & J.M. APARICIO. 2015. Unexpected consequences of a drier world: evidence that delay in late summer rains biases the population sex ratio of an insect. *Royal Society Open Science* 2: 150-198. <https://doi.org/10.1098/rsos.150198>.
- BOUCHARD, R.W. 2007. Phenology and taxonomic composition of lotic Chironomidae (Diptera) communities in contrasting thermal regimes. Doctoral Thesis, University of Minnesota. 411 p.
- BOUCHARD, R.W. & L.C. FERRINGTON. 2009. Winter Growth, Development, and Emergence of *Diamesa mendotae* (Diptera: Chironomidae) in Minnesota Streams. *Environmental Entomology* 38:250-259.
- BOUCHARD, R.W. & L.C. FERRINGTON. 2011. The effects of subsampling and sampling frequency on the use of surface floating pupal exuviae to measure Chironomidae (Diptera) communities in wade able temperate streams. *Environmental Monitoring and Assessment* 181(1–4): 205–223.
- BRUNDIN, L. 1966. Transantartic relationships and their significance as evidenced by chironomid midges with a monograph of the subfamilies Podonominae and Aphroteniinae and the austral Heptagytiae. *Kungliga Svenska Vetenskapsakademien Handlingar* 11: 1-472.
- BUENO, A.A.; G. BOND-BUCKUP & B.D. FERREIRA. 2003. Estrutura da comunidade de invertebrados bentônicos em dois cursos d'água do Rio Grande do Sul, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia* 20(1):115–125.
- BUTLER, M.G. 1982. A 7-year life cycle for two *Chironomus* species in arctic Alaskan tundra ponds (Diptera: Chironomidae). *Canadian Journal of Zoology* 60: 58–70.
- CABRERA, A. 1971. Fitogeografía de América Latina. *Revista Sociedad Argentina de Botánica* 14:1-42.
- CABRERA, A. & A. WILLINK. 1980. Biogeografía de América Latina. OEA, Versión Corregida, Secretaría General de los Estados Americanos, Programa Regional de Desarrollo Científico y Tecnológico, Washington DC. Serie Biología, Monog. N° 13.
- CALINSKI, T. & J. HARABASZ. 1974. A Dendrite Method for Cluster Analysis. *Communications in Statistics* 3:1–27.
- CALLE-MARTÍNEZ, D. & J. J. CASAS. 2006. Chironomid species, stream classification, and water-quality assessment: the case of 2 Iberian Mediterranean Mountain regions. *Journal of the North American Benthological Society* 25(2): 465–476.
- CALLISTO, M.; P. MORENO & F. BARBOSA. 2001. Habitat diversity and benthic functional trophic groups at Serra do Cipó, Southeast Brazil. *Rev Bras Biol* 61: 259-266.
- CARPENTER, S.R.; N.F. CARACO; D.L. CORRELL; R.W. HOWARTH; A.N. SHARPLEY & V. H. SMITH. 1998. Nonpoint pollution of surface waters with phosphorus and nitrogen. *Ecological Applications*, 8:559-568. [https://doi.org/10.1890/1051-0761\(1998\)008\[0559:NPOSWW\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/1051-0761(1998)008[0559:NPOSWW]2.0.CO;2)
- CASADELLÀ, T. P. 2007. Ecología de les comunitats de quironomids en rius mediterranis de referencia. Departament d'Ecologia, Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona. Tesi doctoral.

- CAZENAIVE, J.; M.J. PARMA DE CROUX & A. LOTESTE. 2000. Normal values of plasmatic cholinesterase activity in *Prochilodus lineatus* (Pisces, Curimatidae). *Folia Zoologica -Praha-* 49(2):149-155
- CÉSAR, I.; C. OCÓN; A.C. PAGGI; A. RODRÍGUEZ CAPÍTULO; F. SPACCESI; M. TANGORRA, & M. TASSARA. 2000. Benthic invertebrate diversity of the Río de la Plata. *Biología Acuática*, 19:27-63.
- CHEN, I.; J.K. HILL; R. OHLEMULLER; D.B. ROY & C.D. THOMAS. 2011. Rapid range shifts of species associated with high levels of climate warming. *Science* 333:1024-1026.
- CHESSMAN, B.C. 1995. Rapid assessment of rivers using macroinvertebrates: A procedure based on habitat-specific sampling, family level identification and a biotic index. *Australian Journal of Ecology*. 20: 122-129.
- CHESSMAN, B.C. 2003. New sensitivity grades for Australian river macroinvertebrates. *Marine and Freshwater Research* 54: 95-103.
- CLAPCOTT, J.E.; K.J. COLLIER; R.G. DEATH; E.O. GOODWIN; J.S. HARDING; D. KELLY & R.G. YOUNG. 2012. Quantifying relationships between land-use gradients and structural and functional indicators of stream ecological integrity. *Freshwater Biology* 57:74-90.
- CLARKE, K.R. 1993. Non-parametric multivariate analyses of changes in community structure. *Australian Journal of Ecology*, 18, 117-143.
- CLARKE, K.R.; P.J. SOMERFIELD & M.G. CHAPMAN. 2006. On resemblance measures for ecological studies, including taxonomic dissimilarities and a zero-adjusted Bray-Curtis coefficient for denuded assemblages. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 330(1):55-80.
- COFFMAN, W.P. 1973. Energy flow in a woodland stream ecosystem: II. The taxonomic composition and phenology of the Chironomidae as determined by the collection of pupal exuviae. *Archiv fur Hydrobiologie*, 71: 281-322.
- COFFMAN, W.P. 1974. Seasonal differences in the diel emergence of a lotic chironomid community. *Entomologisk Tidskrift* 95: 42-48.
- COFFMAN, W.P. 1995. Conclusions. In: Armitage, P.D.; P.S. Cranston & L.C.V. Pinder (Eds.). *The Chironomidae: The biology and ecology of non-biting midges*. Chapman & Hall. Pp 436-447
- COFFMAN, W.P. & L.C. FERRINGTON, Jr. 1996. Chironomidae. In: Merritt, R.W. & K.W. Cummins (eds.), *An Introduction to the Aquatic Insects of North America*. Third edition. Kendal/Hunt, Dubuque, Iowa, USA. pp. 862.
- COFFMAN, W.P. & C.L. DE LA ROSA. 1998. Taxonomic composition and temporal organization of tropical and temperate species assemblages of lotic Chironomidae. *Journal of the Kansas Entomological Society* 71: 388-406.
- COFFMAN, W.P.; C.L. DE LA ROSA; K.W. CUMMINS & M.A. WILZBACH. 1992. Species Richness in some Neotropical (Costa Rica) and Afrotropical (west Africa) Lotic Communities of Chironomidae (Diptera). *Netherlands Journal of Aquatic Ecology* 26: 229-237.
- COLLINS, J.P.; A. KINZIG; N.B. GRIMM; W.F. FAGAN; D. HOPE; J. WU & W.T. BORER. 2000. A new urban ecology. *American Scientist* 88(5): 416-425.
- COLWELL, R.K.; G. BREHM; C.L. CARDELÚS; A.C. GILMAN & J.T. LONGINO. 2008. Global warming, elevational range shifts, and lowland biotic attrition in the wet tropics. *Science* 322: 258-261.

- CORBET, P.S. 1964. Temporal patterns of emergence in aquatic insects. *Canadian Entomologist* 96:264-279.
- CORIGLIANO, M.C. 1999. Índices bióticos: aplicaciones y alcances. *Revista Sociedad Entomológica Argentina* 58:193-201.
- CORTELEZZI, A. 2010. Hábitats funcionales y macroinvertebrados en cauces modificados de arroyos de la llanura pampeana: su impacto sobre la calidad ecológica. Tesis doctoral. Universidad Nacional de La Plata, 154 pp.
- CORTELEZZI, A.; A.C PAGGI; M. RODRÍGUEZ & A. RODRIGUES-CAPITULO. 2011. Taxonomic and nontaxonomic responses to ecological changes in an urban lowland stream through the use of Chironomidae (Diptera) larvae. *Science of the Total Environment* 409: 1344-1350.
- CORTELEZZI, A.; M.V. SIMOY; A. SÍRI; M. DONATO; R.E. CEPEDA; C.B. MARINELLI & I. BERKUNSKY, 2020. New insights on bioindicator value of Chironomids by using occupancy modelling. *Ecological Indicators* 117: 106619. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.106619>
- CORTESE, B.; J.P. ZANOTTO ARPELLINO; A.C. PAGGI & A. RODRIGUES CAPÍTULO. 2019. Chironomid genera distribution related to environmental characteristics of a highly impacted basin (Argentina, South America). *Environmental Science and Pollution Research*, 26: 8087-8097. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-04267-2>.
- COTTINGHAM, P.; C. WALSH; G. ROONEY & T. FLETCHER. 2004. Urbanization impacts on stream ecology - from syndrome to cure? Outcomes of workshops held at the Symposium on Urbanization and Stream Ecology Melbourne University, Melbourne, Australia 8-10 de Diciembre de 2003, CRCFE, Canberra.
- COUCEIRO, S.R.M.; N. HAMADA; S.L.B LUZ. B.R. FORSBERG & T.P. PIMENTEL. 2007. Deforestation and sewage effects on aquatic macroinvertebrates in urban streams in Manaus, Amazonas, Brazil. *Hydrobiologia* 575: 271-284.
- CRANSTON, P.S. 1995. Biogeography. In *The Chironomidae: Biology and ecology of non-biting midges.* (ed. by Armitage, P.D., Cranston, P.S. & Pinder, L.C. V.). Chapman & Hall, pp. 62-84.
- CRISTOBAL E.; S.V. AYUSO; A. JUSTEL & M. TORO. 2014. Robust optima and tolerance ranges of biological indicators: a new method to identify sentinels of global warming. *Ecological research* 29(1):55-68.
- CUFFNEY, T.F.; G. MCMAHON; R. KASHUBA; J.T. MAY & I.R. WAITE. 2010. Responses of benthic macroinvertebrates to environmental changes associated with urbanization in nine metropolitan areas. *Ecological Application* 20(5):1384-1401. <https://doi.org/10.1890/08-1311.1>.
- DANKS, H.V. 2007. How aquatic insects live in cold climates. *The Canadian Entomologist* 139:443-471.
- DAWSON, F.H.; E.M.F. CLINTON & M. LADLE. 1991. Invertebrates on cut weed removed during weed-cutting operations along an English river, the River Frome, Dorset. *Aquaculture and management* 22:113-121.
- DE LANGE, H.J., J. DE JONGE; P.J. DEN BESTEN; J.OOSTERBAAN & E.T.H.M. PEETERS. 2004. Sediment pollution and predation affect structure and production of benthic macroinvertebrate communities in the rhine-meuse delta, the netherlands. *Journal of the North American Benthological Society* 23(3):557-579.
- DE MENDIBURU, F. 2019. *Agricolae: Statistical Procedures for Agricultural Research.* R package version 1.3-1. <https://CRAN.R-project.org/package=agricolae>

- DIGGINS, T.P. 2000. Cluster analysis of the Chironomidae from the polluted Buffalo River, New York, USA. *Verhandlungen des Internationalen Verein Limnologie* 27: 2367–2373.
- DOMISCH, S.; S.C. JÄHNIG & P. HAASE. 2011. Climate-change winners and losers: stream macroinvertebrates of a submontane region in Central Europe. *Freshwater Biology* 56: 2009–2020. doi:[10.1111/j.1365-2427.2011.02631.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2011.02631.x)
- DONATO, M.; A. SIRI & M. MAUAD. 2012. Description of a new species of the genus *Onconeura* Andersen et Sæther (Diptera: Chironomidae) from Argentina with a cladistic analysis of the genus. *Zootaxa* 3580: 43–55.
- DOS SANTOS, D.A.; C. MOLINERI; M.C. REYNAGA; C. BASUALDO. 2011. Which index is the best to assess stream health? *Ecological Indicators* 11:582–589.
- DOW, C.L. & D.R. DEWALLE. 2000. Trends in evaporation and Bowen ratio on urbanizing watersheds in eastern United States. *Water Resources Research* 36: 1835–1843.
- DRAYSON, N.; P.S. CRANSTON, & M.N. KROSCHE. 2015. Taxonomic review of the chironomid genus *Cricotopus* v.d. Wulp (Diptera: Chironomidae) from Australia: keys to males, females, pupae and larvae, description of ten new species and comments on *Paratrichocladius* Santos Abreu. *Zootaxa* 3919(1):1. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.3919.1.1>
- DUFRENE, M. & P. LEGRENDRÉ. 1997. Species assemblages and indicator species: the need for a flexible asymmetrical approach. *Ecol Monogr* 67: 345–366.
- DURANCE, I. & S.J. ORMEROD. 2007. Climate change effects on upland stream macroinvertebrates over a 25-year period. *Global Change Biology* 13:942–957. doi:[10.1111/j.1365-2486.2007.01340.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2007.01340.x)
- DVORAK, J. 1996. An example of relationships between macrophytes, macroinvertebrates and their food resources in a shallow eutrophic lake. *Hydrobiologia* 339: 27–36.
- EDWARDS, F.W. 1931. Diptera of Patagonia and South Chile. Part II. Fascicle 5. Chironomidae. Trustees of the British Museum (Natural History), pp. 233–331.
- EDWARDS, M. & A. RICHARDSON. 2004. Impact of climate change on marine pelagic phenology and trophic mismatch. *Nature* 430: 881–884. <https://doi.org/10.1038/nature02808>
- ELOSEGI, A. & S. SABATER, Eds. 2009. *Conceptos y técnicas en ecología fluvial*. Rubes Editorial, España. 466 pp.
- EPLER, J.H. 2001. Identification manual for the larval Chironomidae (Diptera) of North and South Carolina: a guide to the taxonomy of the midges of the southeastern United States, including Florida. St. Johns River Water Management District.
- ESTACIÓN METEOROLÓGICA LA PLATA OBSERVATORIO. 2019. Boletín meteorológico mensual: octubre 2016 a septiembre 2017. Departamento de Sismología e Información Meteorológica. Facultad de Ciencias Astronómicas y Geofísicas, UNLP.
- FAWCETT, F. 2006. An introduction to ROC analysis. *Pattern Recognition Letters* 27:861–874.
- FEIJOÓ, C. & R.J. LOMBARDO. 2007. Baseline water quality and macrophyte assemblages in Pampean streams: A regional approach. *Water Research* 41:1399–1410.
- FEIJOÓ, C. & M. MENÉNDEZ. 2009. La biota de los ríos: los macrófitas. In *Conceptos y técnicas en ecología fluvial* (ed. by Elosegi, A. & Sabater, S.) Barcelona: Fundación BBVA, pp. 367–386.

- FELLOWS, C.S.; J.W. UDY; J.E. CLAPCOTT; B.D. HARCH, S.E. BUNN & P.M. DAVIES. 2003. Benthic metabolism as an indicator of streams ecosystem health. NABS Annual meeting, Georgia.
- FERNÁNDEZ, L. & J.A. SCHNACK. 1977. Estudio preliminar de la meiofauna bentónica en tramos poluidos de los arroyos Rodriguez y Carnaval (provincia de Buenos Aires). *Ecosur* 4(8):103-115
- FERRINGTON, L.C. Jr. 2008. Global diversity of non-biting midges (Chironomidae; Insecta-Diptera) in freshwater. *Hydrobiologia* 595: 447-455
- FERRINGTON, L.C. Jr. & N.H. CRISP. 1989. Water Chemistry Characteristics of Receiving Streams and the Occurrence of *Chironomus riparius* and Other Chironomidae in Kansas. *Acta Biologica Debrecina, Oecologica Hungarica* 3: 115-126.
- FERRINGTON, L.C. Jr.; W.P. COFFMAN & M.B. BERG. 2008. Chironomidae. In: An Introduction to the Aquatic Insects of North America (ed. by Merritt, R.W., Cummins, K.W. & Berg, M.B.). Kendall/Hunt, Dubuque, IA. pp. 847-1003.
- FERRINGTON, L.C. Jr., E.C. MASTELLER & J.A. SANTIAGO-BLAY. 2009. Comparison and significance of Chironomidae emergence from Lake Erie and Presque Isle Bay, Erie, Pennsylvania, U.S.A. In: Hughes, S. J., Khadem, M. and Carvalho, M. A. (eds.): Proceedings of the 16th International Chironomid Symposium, Boletim do Museu Municipal do Funchal Supplement 13: 21-28.
- FERRINGTON, L.C. Jr., M.A. BLACKWOOD; C.A. WRIGHT; N.H. CRISP; J.L. KAVANAUGH & F.J. SCHMIDT. 1991. Protocol for using surface-floating pupal exuviae of Chironomidae for rapid bioassessment of changing water quality. The 20th General Assembly of the International Union of Geodesy and Geophysics, Vienna, Austria. 181-190.
- FORREST, J.R.K. 2016. Complex responses of insect phenology to climate change. *Current Opinion in Insect Science* 17: 49-54. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2016.07.002>.
- FORREST, J. & A.J. MILLER-RUSHING. 2010. Toward a synthetic understanding of the role of phenology in ecology and evolution. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 365:3101-3112.
- FRENGUELLI, J. 1956. Rasgos generales de la hidrografía de la Provincia de Buenos Aires. Lemit, Buenos Aires.
- FRIBERG-JENSEN, U.; L. WENDT-RASCH; P. WOIN & K. CHRISTOFFERSEN. 2003. Effects of the pyrethroids insecticide, cypermethrin, on a freshwater community studied under field conditions. I. Direct and indirect effects on abundance measures of organisms at different trophic levels. *Aquatic Toxicology* 63: 357-371. [https://doi.org/10.1016/S0166-445X\(02\)00201-1](https://doi.org/10.1016/S0166-445X(02)00201-1)
- FUSARI, L.M. & A.A. FONSECA-GESSNER. 2006. Environmental assessment of two small reservoirs in southeastern Brazil, using macroinvertebrate community metrics. *Acta Limnologica Brasiliensia* 18: 89-99.
- GARCÍA, M.E. 2008. Estudio del efecto de la contaminación sobre invertebrados del complejo zoobentónico en arroyos de la llanura. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Naturales y Museo. Universidad Nacional de La Plata.
- GARCÍA, P.E. & D.A. AÑÓN SUAREZ. 2007. Community structure and phenology of chironomids (Insecta: Chironomidae) in a Patagonian Andean stream. *Limnologica* 37: 109-117.
- GIORGI, A. 1998. Factores reguladores del fitobentos en arroyos de llanura Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Naturales y Museo. Universidad Nacional de La Plata.

- GIORGI, A.; C. FEIJOÓ & G. TELL. 2005. Primary producers in a Pampean stream: Temporal variation and structuring role. *Biodiversity and Conservation* 14: 1699–1718.
- GOELDI, E.A. 1905. Os mosquitos no Pará. *Mémoires du Muséum National d'Histoire Naturelle Ethnographic* 4: 134-139.
- GÓMEZ, N. & A. RODRIGUES CAPÍTULO. 2001. Los bioindicadores y la salud de los ríos. *Actas del V Seminario Internacional Ingeniería y Ambiente. Serie Gestión Ambiental N° 3*, 109-118pp.
- GÓMEZ, N. & M. LICURSI. 2001. The pampean diatom index (IDP) for assessment of rivers and streams in argentina. *Aquatic Ecology* 35(2):173-181.
- GÓMEZ, N.; M. LICURSI; D.E. BAUER; P.R. HUALDE & M.V. SIERRA. 2003. Reseña sobre modalidades de estudio mediante la utilización de microalgas en la evaluación y monitoreo de algunos sistemas lóticos pampeanos bonaerenses. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 38 (1-2):93-103.
- GÓMEZ, N.; M.V. SIERRA; A. CORTELEZZI & A. RODRIGUES CAPÍTULO. 2008. Effects of discharges from the textile industry on the biotic integrity of benthic assemblages. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 69(3):472-479.
- GÓMEZ, N.; M.V. SIERRA; J. COCHERO; M. LICURSI & D.E. BAUER. 2011. Epipellic biofilms as indicators of environmental changes in lowland fluvial systems. In: *Biofilms: Formation, Development and Properties* William C. Bailey (Ed) 259-290.
- GORDON, N.D.; T.A. MCMAHON & B.L. FINLAYSON. 1994. *Stream hydrology, an introduction for ecologists*. Wiley and Sons, New York. 526 pp.
- GRAÇA, M.A.S.; A. RODRÍGUES CAPÍTULO; C. OCÓN & N. GÓMEZ. 2002. In situ tests for water quality assessment: A case study in pampean rivers. *Water Research* 36(16):4033-4040.
- HAMBURGER, K.; P.C. DALL & C. LINDEGAARD. 1994. Energy metabolism of *Chironomus anthracinus* (Diptera: Chironomidae) from the profundal zone of Lake Esrom, Denmark, as a function of body size, temperature and oxygen concentration. *Hydrobiologia* 294: 43–50.
- HAMMER, Ø.; D.A.T. HARPER & P.D. RYAN. 2001. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica* 4:1-9. http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm
- HARDWICK, R.A.; P.D. COOPER; P.S. CRANSTON; C.L. HUMPHREY & P.L. DOSTINE. 1995. Spatial and temporal distribution patterns of drifting pupal exuviae of Chironomidae (Diptera) in streams of tropical northern Australia. *Freshwater Biology* 34: 569–578.
- HARRELL, F.E. Jr., with contributions from Charles Dupont and many others. 2019. Hmisc: Harrell Miscellaneous. R package version 4.2-0. <https://CRAN.R-project.org/package=Hmisc>
- HARRISON, A.D. 1992. Chironomidae from Ethiopia. Part 2. Orthoclaadiinae, with two new species and a key to Thienemanniella Kieffer (Insecta: Diptera). *Spixiana* 15: 149–195.
- HAWKINS C.P. & R.H. NORRIS. 2000. Effects of taxonomic resolution and use of the subsets of the fauna on the performance of RIVPACS-type models. In: *Assessing the Biological Quality of Fresh Waters. RIVPACS and Other Techniques* (Eds J.F. Wright, D.W. Sutcliffe & M.T. Furse), pp. 217–228. Freshwater Biological Association, Ambleside.

- HEINO, J.; T. MUOTKA; R. PAAVOLA & L. PAASIVIRTA. 2003. Among taxon congruence in biodiversity patterns: can stream insect diversity be predicted using single taxonomic groups? *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 60: 1039–1049.
- HELSON, J.E.; D.D. WILLIAMS & D. TURNER. 2006. Larval Chironomid community organization in four tropical rivers: human impacts and longitudinal zonation. *Hydrobiologia* 559: 413–431.
- HOSE, G.C.; T. WALTER & A.J. BROOKS. 2007. Short-term colonisation by macroinvertebrates of cobbles in main channel and inundated stream bank habitats. *Hydrobiologia*, 592(1):513–522.
- HOUGH, M. 1995. *Cities and natural processes*. London: Routledge.
- HUGHES, R.M.; D.P. LARSEN & J.M. OMERNIK. 1986. Regional reference sites: a method for assessing stream potentials. *Environmental Management* 10: 629–635.
- HURTADO, M.A.; J.E. GIMÉNEZ, & M.G. CABRAL. 2006. Análisis ambiental del partido de La Plata: Aportes al ordenamiento territorial. Hurtado, M. A., Giménez, J. E., & Cabral, M., G. (eds.). Consejo Federal de Inversiones, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, 134 pp.
- INT PANIS, L.; B. GODDEERIS & R. VERHEYEN. 1996. On the relationship between vertical microdistribution and adaptations to oxygen stress in littoral Chironomidae (Diptera). *Hydrobiologia* 318: 61–67.
- JOHANSSON, O.E. 1980. Energy Dynamics of the Eutrophic Chironomid *Chironomus plumosus f. semireductus* from the Bay of Quinte, Lake Ontario. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 37:1254–1265.
- KAVANAUGH, J.L. & L.C. FERRINGTON, jr. 1986. Species composition and emergence phenology of Chironomidae in prairie streams of different flow regimes. NABS Bulletin, abstract published.
- KAVANAUGH, R.G.; A.T. EGAN & L.C. FERRINGTON, JR. 2014. Factors affecting decomposition rates of chironomid (Diptera) pupal exuviae. *Chironomus: Newsletter on Chironomidae Research* 27: 16-24.
- KEARNEY, M.R.; N.J. BRISCOE; D.J. KAROLY; W.P. PORTER; M. NORRIGATE & P. SUNNUCKS. 2010. Early emergence in a butterfly causally linked to anthropogenic warming. *Biology Letters* 6: 674–677.
- KIEFFER, J.J. 1914. South African Chironomidae (Diptera). *Annals of the South African Museum* 10:259-270
- KIEFFER, J.J. 1925. Chironomidae de la République Argentine. *Annals Société Scientifique Bruxelles*, 73–92.
- KÖVECSÉS, J. & D. J. MARCOGLIESE. 2005. Avermectins: potential environmental risks and impacts on freshwater ecosystems in Quebec Scientific and technical report ST-233E Environment Canada. St Lawrence Centre, Montreal
- KRANZFELDER, P.; A.M. ANDERSON; A.T. EGAN; J.E. MAZACK; R.W. BOUCHARD, Jr; M.M. RUFER & L.C. FERRINGTON, Jr. 2015. Use of Chironomidae (Diptera) Surface-Floating Pupal Exuviae as a Rapid Bioassessment Protocol for Water Bodies. *Journal of visualized experiments: JoVE* 101, e52558. Doi:10.3791/52558.
- LANGTON, P.H. 1991. A key to pupal exuviae of West Palaearctic Chironomidae. Privately published, Huntington, Cambridgeshire, pp. 1–386.

- LAURENCENA, P. & E. KRUSE. 1993. Procesos hidrológicos y la actividad antrópica en una Cuenca del noreste de la provincia de Buenos Aires (Argentina). X Simposio Brasileiro de Recursos Hídricos Anais 2.
- LEGENDRE, P. 2005. Species associations: The Kendall coefficient of concordance revisited. *Journal of Agricultural, Biological and Environmental Statistics* 10:226–245.
- LENCIONI, V.; P. BERNABÒ; S. VANIN; P. MURO & M. BELTRAMINI. 2008. Respiration rate and oxy-regulatory capacity in cold stenothermal chironomids. *Journal of Insect Physiology* 54: 1337–1342.
- LENCIONI, V.; L. MARZIALI, & B. ROSSARO. 2012. Chironomids as bioindicators of environmental quality in mountain springs. *Freshwater Science* 31:525–541.
- LICURSI, M. & N. GÓMEZ. 2003. Aplicación de índices bióticos en la evaluación de la calidad del agua en sistemas lóticos de la llanura pampeana Argentina a partir del empleo de diatomeas. *Biología Acuática* 21:31–49.
- LICURSI, M. & N. GÓMEZ. 2009. Effects of dredging on benthic diatom assemblages in a lowland stream. *Journal of Environment Management* 90:973-982.
- LINDEGAARD, C. 1995. Classification of water-bodies and pollution. In: Armitage, P.D.; P.S. Cranston & L.C.V. Pinder (Eds.). *The Chironomidae: The biology and ecology of non-biting midges*. Chapman & Hall, pp. 385-404.
- LÓPEZ VAN OOSTEROM, M.V. 2014. Relaciones tróficas de los principales macroinvertebrados en sistemas lóticos de la llanura pampeana: su relación con la calidad del agua". Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Naturales y Museo. Universidad Nacional de La Plata.
- LYTLE, D.A. 2001. Disturbance regimes and life-history evolution. *The American Naturalist* 157(5): 525–36.
- MAGURRAN, A.E. 1988. *Ecological diversity and its measurement*. Princeton, NJ: Princeton University.
- MAGURRAN, A.E. 2004. *Measuring biological diversity*, Blackwell, Oxford, 256 p.
- MANASSERO, M.; C. CAMILIÓN & A. RONCO. 2010. Texturas argilominerales y metales en sedimentos de fondo de arroyos de la franja costera sur del Río de la Plata. *Revista de la Asociación Geológica Argentina* 67(1):105 – 111.
- MARAN, A.M. & S.L. PELINI. 2016. Insect Communities. In *Climate Change (Second Edition) Observed Impacts on Planet Earth* (ed. by Letcher, T.M.). Elsevier. 153-166 pp.
- MARCHESE, M. & A.C. PAGGI. 2004. Diversidad de Oligochaeta (Annelida) y Chironomidae (Diptera) del Litoral Fluvial Argentino. En: Aceñolaza, F. C. (ed.), *Temas de la Biodiversidad del Litoral fluvial argentino*, INSUGEO 2: 217-224.
- MARGALEF, R. 1983. *Limnología*. Barcelona, 1010 p.
- MARKERT, B.A.; A.M. BREURE & H.G. ZECHMEISTER. 2003. Definitions, strategies and principles for bioindication/biomonitoring of the environment. *Trace Metals and other Contaminants in the Environment* 6: 3-39.
- MARQUES, M.M.; F.A. BARBOSA & M. CALLISTO. 1999. Distribution and abundance of Chironomidae (Diptera, Insecta) in an impacted watershed in south-east Brazil. *Revista Brasileira de Biologia* 59(4): 553–561.
- MARZIALI, L.; V. LENCIONI & B. ROSSARO. 2006. Chironomid species as indicators of freshwater habitat quality. *Verhandlungen des Internationalen Verein Limnologie* 29: 1553–1555.

- MARZIALI, L.; D.G. ARMANINI; M. CAZZOLA; S. ERBA; E. TOPPI; A. BUFFAGNI & B. ROSSARO. 2009. Responses of Chironomid larvae (insecta, Diptera) to ecological quality in Mediterranean river mesohabitats (South Italy). *River Research and Applications* 26(8):1036–1051. <https://doi.org/10.1002/rra.1303>
- MATTEUCCI, S.D. 2012. Cap 13: Ecorregión Pampa. Ecorregiones y complejos ecosistémicos argentinos. 1º ed. Buenos Aires: 441-500.
- MAUAD, M.; A. SIRI, & M. DONATO. 2017. Does Type of Substratum Affects Chironomid Larvae Assemblage Composition? A Study in a River Catchment in Northern Patagonia, Argentina. *Neotropical Entomology* 46:18–28.
- MCGEOCH, M.A., B.J VAN RENSBURG & A. BOTES. 2002. The verification and application of bioindicators: a case study of dung beetles in a savanna ecosystem. *Journal of Applied Ecology* 39:661-72.
- MCGILL, J.D.; R.S. WILSON & A.M. BRAKE. 1979. The use of chironomid pupal exuviae in the surveillance of sewerage pollution within a drainage system. *Water Research* 13: 887–894.
- MCKIE, B.G.; P.S. CRANSTON & R.G. PEARSON. 2004. Gondwanan mesotherms and cosmopolitan eurytherms: effects of temperature on the development and survival of Australian Chironomidae (Diptera) from tropical and temperate populations. *Marine and Freshwater Research* 55:759–768.
- MCKINNEY, M.L. 2006. Urbanization as a major cause of biotic homogenization. *Biological Conservation* 127: 247–260.
- MCKINNEY, M.L. 2008. Effects of urbanization on species richness: A review of plants and animals. *Urban Ecosystems* 11: 161–176.
- MEDINA, A.I.; E. SCHEIBLER & A. PAGGI. 2008. Distribución de Chironomidae (Diptera) en dos sistemas fluviales ritrónicos (Andino-serrano) de Argentina. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina* 67: 69–79.
- MERRITT, R.W.; K.W. CUMMINS & M.B. BERG. 2008. An introduction to the aquatic insects of North America. Kendall-Hunt. Dubuque, Iowa, 1214 pp.
- MESA L.M.; L. LINDT; L. NEGRO; M.F. GUTIÉRREZ; G. MAYORA; L. MONTALTO; M. BALLENT, A. LIFSCHITZ. 2017. Aquatic toxicity of ivermectin in cattle dung assessed using microcosms. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 144:422–429
- MESA L.M.; J. HÖRLER; L. LINDT; M.F. GUTIÉRREZ; L. NEGRO; G. MAYORA; L. MONTALTO; M. BALLENT, A. LIFSCHITZ. 2018. Effects of the Antiparasitic Drug Moxidectin in Cattle Dung on Zooplankton and Benthic Invertebrates and its Accumulation in a Water–Sediment System. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 75:316–326. <https://doi.org/10.1007/s00244-018-0539-5>
- MESA, L.M.; M.F. GUTIÉRREZ; L. MONTALTO; V. PEREZ; A. LIFSCHITZ. 2020. Concentration and environmental fate of ivermectin in floodplain wetlands: An ecosystem approach. *Science of The Total Environment* 706, 1. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135692>
- MESTRE, A.P., A.C. PAGGI & L. MONTALTO. 2018. The Application of Chironomid Pupal Exuvial Technique (CPET) for Ecological Analysis in a Neotropical Large River System. *Neotropical Entomology* 47:619–627.
- MEYER, J.L.; M.J. PAUL; W.K. TAULBEE. 2005. Stream ecosystem function in urbanizing landscapes. *Journal of the North American Benthological Society* 24:602–612. <https://doi.org/10.1899/04-021.1>

- MEZGEBU, A; A. LAKEW; B. LEMMA & G. BENEBERU. 2019. The potential use of chironomids (Insecta: Diptera) as bioindicators in streams and rivers around Sebeta, Ethiopia, African Journal of Aquatic Science 44:369-376. 10.2989/16085914.2019.1650711
- MISERENDINO, M.L. 2001. Macroinvertebrate assemblages in Andean Patagonian rivers and streams: environmental relationships. Hydrobiologia 444: 147-158.
- MOLINERI, C.; E.G. TEJERINA; S.E. TORREJÓN; E.J.I. PERO & G.E. HANKEL. 2020. Indicative value of different taxonomic levels of Chironomidae for assessing the water quality. Ecological Indicators 108: 105703. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2019.105703>.
- MOLLER-PILLOT, H.K.M. 2009. Chironomidae Larvae. Biology and Ecology of the Chironomi. KNNV Publishing, Zeist, The Netherlands.
- MONAHAN, C. & J.M. CAFFREY. 1996. The effect of weed control practices on macroinvertebrate communities in Irish Canals. Hydrobiologia 340:205-211.
- MONTALTO L. & A.C. PAGGI. 2006. Diversity of chironomid larvae in a marginal fluvial wetland of the Middle Paraná River floodplain, Argentina. Annales de Limnologie 42: 289-300.
- MONTALTO, L. 2008. Dinámica espacio-temporal de asociaciones de invertebrados en un humedal marginal fluvial de la llanura aluvial del río Paraná Medio. FCEyN. UBA.
- MONTALTO, L.; S. CAPELLO & A.C. PAGGI. 2012. First record and ecological features of *Goeldichironomus petiolicola* (Diptera: Chironomidae) mining *Eichhornia crassipes* in the Middle Paraná River floodplain, Argentina. Revista de la Sociedad Entomológica Argentina 71:137-144
- MOSS, J. & M. TVETEN. 2019. kdensity: An R package for kernel density estimation with parametric starts and asymmetric kernels. Journal of Open Source Software 4(42): 1566. <https://doi.org/10.21105/joss.01566>
- MUGNI, H.D. 2009. Concentración de nutrientes y toxicidad de pesticidas en aguas superficiales de cuencas rurales. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Naturales y Museo. Universidad Nacional de La Plata.
- MUGNI, H.; A. PARACAMPO; N. MARROCHI & C. BONETTO. 2013. Acute toxicity of cypermethrin to the non-target organism *Hyaella curvispina*. Environmental Toxicology and Pharmacology 35:88-92.
- MUNDIE, J.H. 1957. The ecology of Chironomidae in Storage Reservoirs. Transactions of the Royal Entomological Society of London 109:149-232.
- NAVEH, Z. & A. LIEBERMAN. 1994. Landscape ecology: theory and application. Segunda edición. Springer-Verlag, New York, Berlin.
- NICACIO, G. & L. JUAN. 2015. Chironomids as indicators in freshwater ecosystems: an assessment of the literature. Insect Conservation and Diversity 8:393-403.
- NORRIS, H.R.; S. LINKE; I. PROSSER; W.J. YOUNG; P. LISTON; N. BAUER, & M. THOMS. 2007. Very-broad-scale assessment of human impacts on river condition. Freshwater Biology 52:959-976.
- OBUCHOWSKI, N.A. 2003. Receiver operating characteristic curves and their use in radiology. Radiology 229, 3-8.
- OCON, C.S. & A. RODRIGUES CAPÍTULO. 2004. Presence and abundance of Ephemeroptera and other sensitive macroinvertebrates in relation with habitat conditions in pampean streams (Buenos Aires, Argentina). Archiv Fur Hydrobiologie 159(4):473-487.

- OCON, C.S. & A. RODRIGUES CAPÍTULO. 2012. Assessment of water quality in temperate-plain streams (Argentina, South America) using a multiple approach. *Ecología Austral* 22: 81–91.
- OKSANEN, J.; R. KINDT; P. LEGENDRE & R.B. O'HARA. 2005. Vegan: Community Ecology Package. Version 1.7-81. [Cited 31 september 2019.] Available from URL: <http://cran.r-project.org/>
- OLIVEIRA, V.; R. MARTINS & R. ALVES. 2010. Evaluation of Water Quality of an Urban Stream in Southeastern Brazil using Chironomidae Larvae (Insecta: Diptera). *Neotropical Entomology* 39(6):873-878
- PAAVOLA, R.; T. MUOTKA; R. VIRTANEN; J. HEINO; D. JACKSON & A. MAKI-PETAYS. 2006. Spatial scale affects community concordance among fishes, benthic macroinvertebrates, and bryophytes in streams. *Ecological Applications* 16(1):368–379.
- PAGGI, A.C. 1975. Formas imáginales y preimaginales de *Chironomus (Dicrotendipes) alsinensis* sp. nov. (Diptera, Chironomidae). *Neotrópica* 21(66):149-156.
- PAGGI, A.C. 1977. Formas imaginales y preimaginales de quironómidos (Diptera) II. *Parachironomus longistilus* sp. nov. *Limnobiós* 1:200–206.
- PAGGI, A.C. 1978. Formas imaginales y preimaginales de quironómidos (Diptera) IV. *Dicrotendipes nestori* sp. nov. *Limnobiós* 1:235–241.
- PAGGI, A.C. 1992. Two new species of genus *Tanytarsus* from Argentina (Diptera, Chironomidae). *Fragmenta Entomologica* 23(2):299- 306.
- PAGGI, A.C. 1993. Redescription of *Pseudosmittia bilobulata* (Edw.) comb. n. (= *Spaniotoma (Smittia) bilobulata* Edwards 1931) and description of *P. neobilobulata* sp. n. (Diptera: Chironomidae) from Argentina. *Annales de Limnologie* 29:171–174.
- PAGGI, A.C. 1998. Chironomidae. In: Morrone, J. J. & S. Coscarón (eds.), *Biodiversidad de Artrópodos Argentinos: Una perspectiva biotaxonómica*, Ediciones Sur, La Plata, Argentina, pp. 327-337.
- PAGGI, A.C. 1999. Los Chironomidae como indicadores de calidad de ambientes dulceacuícolas. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina* 58 (1-2): 202-207.
- PAGGI, A.C. 2003. Los Quironómidos (Diptera) y su empleo como bioindicadores. *Biología Acuática* 21: 50-57.
- PAGGI, A.C. 2007. A new Neotropical species of the genus *Thienemanniella* Kieffer, 1911 (Diptera: Chironomidae, Orthoclaadiinae). In *Contributions to the systematics and ecology of aquatic Diptera. A Festschrift honoring Ole A. Sæther*. (ed. by Andersen, T.). The Caddis Press Columbus, Ohio. pp. 247- 254.
- PAGGI, A.C. & G.N. RODRIGUEZ GARAY. 2015. The presence of species of *Pseudochironomus Malloch* 1915 (Diptera: Chironomidae) in watercourses of Chaco Serrano Ecoregion (Argentina, South America). *Zootaxa* 3957:334.
- PAGGI, A.C.; C.S. OCON; M. TANGORRA, & A. RODRIGUES CAPÍTULO. 2006. Response of the zoobenthos community along the dispersion plume of a highly polluted stream in the receiving waters of a large river (Rio de la Plata, Argentina). *Hydrobiologia* 568:1-14.
- PARACAMPO, A. 2012. Relación entre la estructura de las comunidades ícticas y la calidad del agua en arroyos de cuencas con diferentes usos del suelo. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Naturales y Museo. Universidad Nacional de La Plata.
- PASCOE, D.; A. WENZEL; C. JANSSEN; A.E. GIRLING; I. JÜTTNER; A. FLIEDNER; S. BLOCKWELL; S. MAUND; E. TAYLOR; M. DIEDRICH; G. PERSOONE; P. VERHELST; R. STEPHENSON; N.

- CROSSLAND; G. MITCHELL; N. PEARSON; L. TATTERSFIELD; J. LAY; A. PEITHER; B. NEUMEIER & A. VELLETTI. 2000. The development of toxicity tests for freshwater pollutants and their validation in stream and pond mesocosms. *Water Research* 34(8): 2323-2329.
- PAUL, M.J. & J.L. MEYER. 2001. Streams in the urban landscape. *Annual Review of Ecology and Systematics* 32:333–365. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.32.081501.114040>
- PAVÉ, P.J. & M. MARCHESI. 2005. Invertebrados bentónicos como indicadores de calidad del agua en ríos urbanos (Paraná-Entre Ríos, Argentina). *Ecología Austral* 15(2): 183-197.
- PECKARSKY B.L., B.W. TAYLOR; A.R. MCINTOSH; M.A. MCPEEK & D.A. LYTLE. 2001. Variation in mayfly size at metamorphosis as a developmental response to risk of predation. *Ecology* 82:740–57.
- PINDER, L.C.V. 1974. The Chironomidae of a small chalk-stream in southern England. *Entomologisk Tidskrift (Supplementum)* 95:195-202.
- PINDER, L.C.V. 1995. The habitats of Chironomidae larvae. In: Armitage, P.D.; P.S. Cranston & L.C.V. Pinder (Eds.). *The Chironomidae: The biology and ecology of non-biting midges*. Chapman & Hall. pp. 107–133.
- POTAPOVA, M. & D. F. CHARLES. 2003. Distribution of benthic diatoms in US rivers in relation to conductivity and ionic composition. *Freshwater Biology* 48(8): 1311-1328.
- PÖYRY J.; R. LEINONEN; G. SÖDERMAN; M. NIEMINEN; R.K. HEIKKINEN & T.R. CARTER. 2011. Climate-induced increase of moth multivoltinism in boreal regions. *Global Ecology and Biogeography* 20: 289-298
- PRAT, N.; J.D. GONZALEZ-TRUJILLO & R. OSPINA-TORRES. 2014. Clave para la determinación de exuvias pupales de los quironómidos (Diptera: Chironomidae) de ríos altoandinos tropicales. *Revista de Biología Tropical* 62:1385-1406.
- PRINCIPE, R.E.; M.F. BOCCOLINI & M.C. CORIGLIANO. 2008. Structure and Spatial-Temporal Dynamics of Chironomidae Fauna (Diptera) in Upland and Lowland Fluvial Habitats of the Chocancharava River Basin (Argentina). *International Review of Hydrobiology* 93(3):342–357.
- RAE, J.G. 1989. Chironomid midges as indicators of organic pollution in the Scioto River Basin, Ohio. *The Ohio Journal of Science* 89: 5-9.
- RAND, G.M. (Ed.). (1995). *Fundamentals of Aquatic Toxicology: Effects, Environmental Fate, and Risk Assessment* (2nd ed.). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781003075363>
- RAUNIO, J. & T. MUOTKA. 2005. The use of chironomid pupal exuviae in river biomonitoring: the importance of sampling strategy. *Archiv für Hydrobiologie* 164:529–545.
- RAUNIO, J.; T. IHAESI; A. HAAPALA & T. MUOTKA. 2007a. Within- and among-lake variation in benthic macroinvertebrate communities—comparison of profundal grab sampling and the chironomid pupal exuvial technique. *Journal of the North American Benthological Society* 26:708–718.
- RAUNIO, J.; R. PAAVOLA & T. MUOTKA. 2007b. Effects of emergence phenology, taxa tolerances and taxonomic resolution on the use of the Chironomid Pupal Exuvial Technique in river biomonitoring. *Freshwater Biology* 52: 165–176.
- REISS, F. 1977. Chironomidae: 277-280. En S.H. Hulbert (ed.), *Biota Acuática de Sudamérica Austral*. San Diego State Univ. San Diego, California.
- REISS, F. & F. KOHMANN. 1982. Die Chironomidenfauna (Diptera, Insecta) des unteren Inn. *Mitteilungen der Zoologischen Gesellschaft Braunau* 4:77-88.

- RELYEA, R. 2004. Synergistic impacts of Malathion and predatory stress on six species of North American tadpoles. *Environmental Toxicology and Chemistry* 23: 1080–1084.
- REMES LENICOV, M.; D.C. COLAUTTI & H.L. LÓPEZ. 2005. Ictiofauna de un Ambiente Lótico Suburbano: El Arroyo Rodríguez (Buenos Aires, Argentina). *Biología Acuática* 22: 223-230.
- RESH, V.H. 1994. Variability, accuracy, and taxonomic costs of rapid assessment approaches in benthic macroinvertebrate biomonitoring. *Bolletino di Zoologia* 61: 375–383.
- RESH, V.H. & D.M. ROSENBERG. 1984. *The Ecology of Aquatic Insects*. Praeger, NewYork.
- RESH, V.H. & D.M. ROSENBERG. 2008. Water pollution and insects. *Encyclopedia of Entomology* (ed. by J. Capinera), pp. 4158– 4168. Springer Science. Business Media B.V., Dordrecht, The Netherlands.
- RINGUELET, R.A. 1962. *Ecología acuática continental*. Manuales de EUDEBA. Ciencias naturales. 166pp.
- ROACH, A.C.; A.R. JONES & A. MURRAY. 2001. Using benthic recruitment to assess the significance of contaminated sediments: the influence of taxonomic resolution. *Environmental Pollution* 112:131–143.
- ROBACK, S.S. 1960. Results of the Catherwood Peruvian- Amazon Expedition. New species of South American Tendipedidae (Diptera). *Transactions of American Entomological Society* 86:87–107.
- ROBERTS, D.W. 2016. labdsv: Ordination and multivariate analysis for ecology. R package version 1.8-0. <https://CRAN.R-project.org/package=labdsv>
- ROBIN, X.; N. TURCK; A. HAINARD; N. TIBERTI; F. LISACEK, J.C. SANCHEZ & M. MÜLLER. 2011. pROC: an open-source package for R and S to analyze and compare ROC curves. *BMC Bioinformatics* 12, p. 77. DOI: 10.1186/1471-2105-12-77. <http://www.biomedcentral.com/1471-2105/12/77/>
- RODRIGUES CAPITULO, A. 1999. Los macroinvertebrados como indicadores de la calidad de ambientes lóticos en el área pampeana. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina* 58, 208-217.
- RODRIGUES CAPÍTULO, A.; M. TANGORRA, & C. OCÓN. 2001. Use of benthic macroinvertebrates to assess the biological status of Pampean streams in Argentina. *Aquatic Ecology* 35: 109–119.
- RODRIGUES CAPÍTULO, A.; A.C. PAGGI & C. OCÓN. 2002. Zoobenthic communities in relation with the slope, substrate heterogeneity and urban disturbs on pampean hills streams (Argentina). *Verhein Internationale Verein Limnologie* 28: 1267- 1273.
- RODRIGUES CAPÍTULO, A.; C.S. OCON & M. TANGORRA. 2004. Una visión bentónica de arroyos y ríos pampeanos. *Biología acuática* 21:1–18.
- RODRÍGUEZ CATANZARO, L.N.S.; J.P. ZANOTTO ARPELLINO; L. BACCARO; L.C. GONZÁLEZ CASTAÑO; M. DONATO & A. SIRI. 2018. Estudio preliminar de la diversidad de Chironomidae (Insecta: Diptera) en diferentes hábitats del río Quequén Salado, Provincia de Buenos Aires". VIII Congreso Argentino de Limnología. Instituto de Ecología y Desarrollo Sustentable (CONICET-UNLu).
- RONCO, A.E.; P. CARRIQUIRIBORDE; G.S. NATALE; M.L. MARTIN; H. MUGNI & C. BONETTO. 2008. Integrated approach for the assessment of biotech soybean pesticides impact on low order stream ecosystems of the Pampasic Region. In: Chen J, Guo C (eds) *Ecosystem ecology research trends*, pp. 209–239.

- ROQUE, F.O.; J.J. CORBI & S. TRIVINHO-STRIXINO. 2000. Considerações sobre a utilização de larvas de Chironomidae (Diptera) na avaliação da qualidade da água de córregos do Estado de São Paulo. In: E.L.G. Espíndola, C.M.R.B. Paschoal, O. Rocha, M.B.C. Bohrer, & A.L. Oliveira Neto (Eds.). *Ecotoxicologia, perspectivas para o século 21*. pp.115-126.
- ROQUE, F.O.; T. SIQUEIRA; L.M. BINI; M.C. RIBEIRO; L.R. TAMBOSI; G. CIOCHETTI & S. TRIVINHO-STRIXINO. 2010. Untangling associations between chironomid taxa in Neotropical streams using local and landscape filters. *Freshwater Biology* 55: 847–865.
- ROSA, B.J.F.V.; L.F.T. RODRIGUES; G.S. DE OLIVEIRA & R. DA GAMA ALVES. 2014. Chironomidae and Oligochaeta for water quality evaluation in an urban river in southeastern Brazil. *Environmental Monitoring and Assessment* 186: 7771–7779. DOI 10.1007/s10661-014-3965-5
- ROSENBERG, D. 1992. Freshwater biomonitoring and Chironomidae. *Netherlands Journal of Aquatic Ecology* 26: 101–122. <https://doi.org/10.1007/BF02255231>
- ROSENBERG, D.M.; V.H. RESH & R.S. KING. 2008. Chapter 7. Use of aquatic insects in biomonitoring. En: Merritt, R.W., Cummins, K.W. & Berg, M.B. (2008) *An introduction to the aquatic insects of North America*. Kendall-Hunt. Dubuque, Iowa, 123:138 pp.
- RUFER, M.R. & L.C. FERRINGTON jr. 2008. Sampling Frequency Required for Chironomid Community Resolution in Urban Lakes with Contrasting Trophic States. *Boletim do Museu Municipal do Funchal (História Natural) Supplement*. 13:77-84.
- RUSE, L.P. 1995. Chironomid community structure deduced from larvae and pupal exuviae of a chalk stream. *Hydrobiologia* 315, 135–142.
- RUSE, L.P. 2011. Lake Acidification Assessed using Chironomid Pupal Exuviae. *Fundamental and Applied Limnology* 178: 267-286.
- SÆTHER, O.A. 1980. Glossary of Chironomid Morphology Terminology (Chironomidae Diptera). *Entomologica Scandinavica Supplement* 14, 51.
- SALA, J.M., E.E. KRUSE; A. ROJO; P. LAURENCENA & L. VARELA. 1998. Condiciones hidrológicas en la Provincia de Buenos Aires y su problemática. Cátedra de Hidrología General, Facultad de Ciencias Naturales y Museo, UNLP, Publicación Especial N° 1, 17 p.
- SALIBIAN, A. 2006. Ecotoxicological assessment of the highly polluted Reconquista river of Argentina. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* 185: 35-65
- SAMPONS, M.R. 1989. Oligoquetos bentónicos del arroyo Rodríguez (Provincia de Buenos Aires). *Neotrópica* 35(94): 101-102.
- SATHICQ, M.B.; M.M. NICOLOSI GELIS & J. COCHERO. 2020. Calculating autoecological data (optima and tolerance range) for multiple species with the 'optimos.prime' R package. *Austral Ecology* 45:845–850. <https://doi.org/10.1111/aec.12868>
- SAUNDERS, D.S. 1976. *Insect Clocks*. International Series in Pure and Applied Biology, Zoology Division, Vol. 54, Pergamon Press, NewYork.
- SAULINO, H.H.L.; M. CAÑEDO-ARGÜELLE; S. TRIVINHO-STRIXINO; G. ROSSI GORNI; J.J. CORBI. 2021. Chironomid pupal exuviae communities support the “field of dreams” hypothesis after the riparian vegetation recovery in headwater urban streams
- SCHIEBLER, E.E.; V.POZO, & A.C. PAGGI. 2008. Distribución espacio-temporal de larvas de Chironomidae (Diptera) en un arroyo andino (Uspallata, Mendoza, Argentina). *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina* 67:45–58.

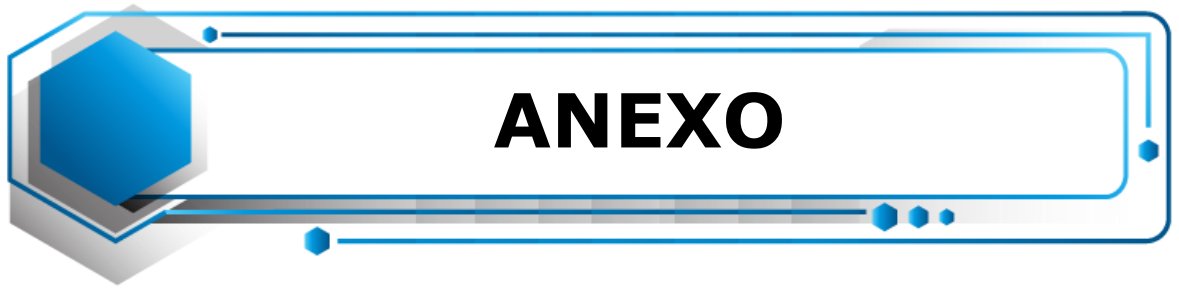
- SCHNACK, J.A.; E.A. DOMIZI,; A.L. ESTEVEZ & G.R. SPINELLI. 1978. Ecología de las comunidades y su estudio relativo a diversidad, estructura e información. Consideraciones generales y referencia a la mesofauna del pleuston. *Ecosur* 5(10): 131-155
- SCHNEIDER, A. 1885. *Chironomus Grimmii* und seine Parthenogenesis. *Zoologische Beitrage* 1: 301-302.
- SCOTT, J.A. & M.E. Epstein. 1987. Factors Affecting Phenology in a Temperate Insect Community. *American Midland Naturalist* 117:103-118.
- SIMIÃO-FERREIRA, J.; P. DEMARCO Jr.; G. R. MAZÃO & A.R. CARVALHO. 2009. Chironomidae assemblage structure in relation to organic enrichment of an aquatic environment. *Neotropical Entomology* 38(4):464-471. <https://doi.org/10.1590/s1519-566x2009000400004>
- SIMPSON, K.W.; R.W. BODE & P. ALBU. 1982. Keys for the genus *Cricotopus* adapted from "Revision der Gattung *Cricotopus* van der Wulp und ihrer Verwandten (Diptera, Chironomidae)" by M. Hirvenoja. *New York State Museum Bulletin*, 450:1-133.
- SIQUEIRA, T.; F. DE OLIVEIRA ROQUE & S. TRIVINHO-STRIXINO. 2008. Phenological patterns of neotropical lotic chironomids: Is emergence constrained by environmental factors? *Austral Ecology* 33:902-910.
- SMITH, V.H., S.B. JOYE & R.W. HOWARTH. 2006. Eutrophication of freshwater and marine ecosystems. *Limnology and Oceanography* 51:351-355.
- SMITH T.M. & R.L. SMITH. 2009. *Elements of ecology*. Cummings, San Francisco.
- SODRÉ, F.F.; M.A.F. LOCATELLI & W. F. JARDIM. 2010. Occurrence of Emerging Contaminants in Brazilian Drinking Waters: A Sewage-To-Tap Issue. *Water, Air and Soil Pollution* 206:57-67.
- SOLIS, M.; C. BONETTO; N. MARROCHI; A. PARACAMPO & H. MUGNI. 2018. Aquatic macroinvertebrate assemblages are affected by insecticide applications on the Argentine Pampas. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 148: 11-16
- SOLIS, M.; A. PARACAMPO; C. BONETTO & H. MUGNI. 2019. Acute Toxicity of Chlorpyrifos to *Hyalella curvispina*: Comparison of Species Sensitivity and Assessment of Environmental Risk. *Environmental Processes* 6:107-117. <https://doi.org/10.1007/s40710-019-00352-3>
- SONODA, K.C. & S. TRIVINHO-STRIXINO. 2000. Dinâmica da emergência de Chironomidae (Díptera) da fitofauna de Cabomba piauhyensis Gardner, 1844, na Lagoa do Infernã (Estação Ecológica de Jataí, Luiz Antônio, SP). In: Santos J.E. & J.S.R. Pires, eds. *Estação Ecológica de Jataí*. RiMa Editora, São Carlos, v.2, p.743-754.
- SOPONIS, A.R. 1977. A revision of the nearctic species of *Orthocladius* (*Orthocladius*) van der Wulp (Diptera: Chironomidae). *Memoirs of the Entomological Society of Canada* 102: 187 pp.
- STAGLIANO, D.M.; A.C. BENKE, & D.H. ANDERSON. 1998. Emergence of Aquatic Insects from 2 Habitats in a Small Wetland of the Southeastern USA: Temporal Patterns of Numbers and Biomass. *Journal of the North American Benthological Society* 17:37-53.
- STEEL, J.W. & K.G. WARDHAUGH. 2002. Ecological impact of macrocyclic lactones on dung fauna. In: Vercruyse J, Rew RS (eds) *Macrocyclic lactones and antiparasitic therapy*. CAB International, Wallingford, pp 141-162
- STENSETH, N.C.; A. MYSTERUD; G. OTTERSEN; J.W. HURREL; K.S. CHAN & M. LIMA. 2002. Ecological effects of climate fluctuations. *Science* 297:1292-6.

- STILES, F.G. 1977. Coadapted competitors: the flowering seasons of hummingbird-pollinated plants in a tropical forest. *Science* 198:1177–8.
- STRAYER, D.L.; R.E. BEIGHLEY; L.C. Thompson; S. Brooks; C. Nilsson; G. Pinay & R. Naiman. 2003. Effects of land cover on stream ecosystems: roles of empirical models and scaling issues. *Ecosystems* 6: 407-423.
- TAEBI, A. & R.L. DROSTE. 2004. Pollution loads in urban runoff and sanitary wastewater. *Science of The Total Environment* 327:175–184.
- TANG, H.; M.Y. SONG; W.S. CHO; Y.S. PARK & T.S. CHON. 2009. Species abundance distribution of benthic chironomids and other macroinvertebrates across different levels of pollution in streams. *International Journal of Limnology* 46: 53–66.
- TARSITANO, E. 2006. Interaction between the environment and animals in urban settings: Integrated and participatory planning. *Environmental Management* 38: 799–809.
- TEJEDA-CRUZ, C.; K. MEHLTRETER & V.J. SOSA. 2008. Indicadores ecológicos multi-taxonómicos. Pp. 123– 134. In: R. H. Manson, V. Hernández-Ortiz, S. Gallina y K. Mehlreter (Eds.). *Agroecosistemas cafetaleros de Veracruz: biodiversidad, manejo y conservación*. Instituto Nacional de Ecología A. C., México.
- TEJERINA, E. & C. MOLINERI. 2007. Comunidades de Chironomidae (Diptera) en arroyos de montaña del NOA: comparación entre Yungas y Monte. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina* 66 (3-4): 169- 177.
- TER BRAAK, C.F.J. 1986. Canonical correspondence analysis: a new eigenvector technique for multivariate direct gradient analysis. *Ecology* 67(5):1167–1179
- TER BRAAK, C.J.F. & P. SMILAUER. 1998. CANOCO Reference manual and User's guide to Canoco for Windows: software for Canonical Community Ordination (version 4). – Microcomputer power, Ithaca, New York. 352 pp.
- THACKERAY, S.J.; T.H. SPARKS; M. FREDERIKSEN; S. BURTHE; P.J. BACON; J.R. BELL; M.S. BOTHAM; T.M. BRERETON; P.W. BRIGHT; L. CARVALHO; T. CLUTTON-BROCK; A. DAWSON, M. EDWARDS; J. MALCOLM ELLIOTT; R. HARRINGTON; D. JOHNS; I.D. JONES; J.T. JONES; D.I. LEECH; D.B. ROY; W. ANDY SCOTT; M. SMITH; R.J. SMITHERS; I.J. WINFIELD & S. WANLESS. 2010. Trophic level asynchrony in rates of phenological change for marine, freshwater and terrestrial environments. *Global Change Biology* 16:3304–3313.
- THIENEMANN, A. 1910. Das Sammeln von Puppenhäuten der Chironomiden. Eine Bitte um Mitarbeit. *Archiv für Hydrobiologie* 6: 213-214.
- THIENEMANN, A. 1954. Chironomus. Leben, Verbreitung und wirtschaftliche Bedeutung der Chironomiden. *Binnengewässer* 20, pp. 834.
- TOKESHI, M. 1995. Life cycles and population dynamics. In *The Chironomidae: Biology and ecology of non-biting midges*. (ed. by Armitage, P.D., Cranston, P.S. & Pinder, L.C. V.). Chapman & Hall, pp. 225-268
- TOLLS, J. 2001. Sorption of veterinary pharmaceuticals in soils: a review. *Environ Sci Technol* 35:3397–3406
- TOWNES, H.K. 1945. The Nearctic species of Tendipedini. *The American Midland Naturalist Journal* 34:1–206.
- TOWNSEND, C.R.; A.G. HILDREW & K. SCHOFIELD. 1987. Persistence of stream invertebrate communities in relation to environmental variability. *Journal of Animal Ecology* 56:597–614.

- TOWNSEND, C.R.; S. DOLÉDEC; R. NORRIS; K. PEACOCK & C. ARBUCKLE. 2003. The influence of scale and geography on relationships between stream community composition and landscape variables: description and prediction. *Freshwater Biology* 48: 768–785.
- TRIVINHO-STRIXINO, S. 2010. Two new species of *Paratanytarsus* (Diptera: Chironomidae) from southeast of Brazil. *Zootaxa* 2726: 59–67.
- TRIVINHO-STRIXINO, S. & G. STRIXIHO. 1991. Nova especie de *Goeldichironomus* Fittkau (Diptera, Chironomidae) do Brasil. *Revista Brasileira de Entomologia* 35(3): 593-602.
- TUR, N.M. 1995. Hydrophyta. En: Lopretto E. C. & Tell G. (Eds.) *Ecosistemas de aguas continentals. Metodologías para su estudio*. Sur, La Plata: 443-477.
- VALTONEN, A.; F. MOLLEMAN; C.A. CHAPMAN; J.R. CAREY; M.P. AYRES & H. ROININEN. 2013. Tropical phenology: bi-annual rhythms and interannual variation in an Afrotropical butterfly assemblage. *Ecosphere* 4: 36
- VERBITSKY, V.V.B. & T.T.I. VERBITSKAYA. 2007. Ecological optimum of ectothermic organisms: static-dynamical approach. *Nature Precedings*. doi:10.1038/NPRE.2007.1324.1
- VOELZ, N.J.; R.E. ZUELLIG; S. SHIEH & J.V. WARD. 2005. The effects of urban areas on benthic macroinvertebrates in two Colorado plains rivers. *Environmental Monitoring and Assessment* 101(1-3):175-202.
- VOS, J.H.; M.A.G. OOIJEVAAR; J.F. POSTMA & W. ADMIRAAL. 2000. Interactions between food availability and food quality during growth of early instar chironomid larvae. *Journal of the North American Benthological Society* 191: 58–168.
- WAITE, I.R.; A.T. HERLIHY; D.P. LARSEN; N.S. URQUHART & D.J. KLEMM. 2004. The effects of macroinvertebrate taxonomic resolution in large landscape bioassessments: an example from the Mid-Atlantic Highlands, USA. *Freshwater Biology* 49(4): 474–489.
- WALSH, C.J.; A.H. ROY; J.W. FEMINELLA; P.D. COTTINGHAM; P.M. GROFFMAN & R.P. MORGAN. 2005. The urban stream syndrome: current knowledge and the search for a cure. *Journal of the North American Benthological Society* 24:706–723. <https://doi.org/10.1899/04-028.1>.
- WARTINBEE, D.C. 1979. Diel emergence patterns of lotic Chironomidae. *Freshwater Biology* 9: 147-156.
- WARTINBEE, D.C. & W.P. COFFMAN. 1976. Quantitative determination of chironomid emergence from enclosed channels in a small lotic ecosystem. *American Midland Naturalist* 95:479-485.
- WATSON, R.T.; I.R. NOBLE; B. BOLIN; N.H. RAVINDRANATH; D.J. VERARDO & D.J. DOKKEN. 2000. *Land Use, Land-Use Change, and Forestry: A Special Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge University Press, 388pp.
- WEBER, R.E. & S.N. VINOGRADOV. 2001. Non-vertebrate haemoglobins: functions and molecular adaptations. *Physiology Reviews* 81:569–628.
- WHITTAKER, R.H. 1962. Classification of natural communities. *The Botanical Review* 28:1–239.
- WIEDENBRUG, S. 2000. Studie zur Chironomidenfauna aus Bergbächen von Rio Grande do Sul, Brasilien. Gedruckt mit Unterstützung des Deutschen Akademischen Austauschdienstes. München. 445 p.
- WIEDENBRUG, S. & R. OSPINA-TORRES. 2005. A key to pupal exuviae of Neotropical Tanytarsini (Diptera: Chironomidae). *Amazoniana* 18: 317- 371.

- WIEDERHOLM, T. 1986. Chironomidae of the Holarctic Region-Keys and diagnoses. Part 2. Pupae- Entomologica Scandinavica Supplement 28: 1-482.
- WILLIAMS, R.J.; B.A. MYERS; D. EAMUS & G.A. DUFF. 1999. Reproductive phenology of woody species in a north Australian tropical savana. *Biotropica* 31:626-36.
- WILSON, R.S. 1980. Classifying rivers using chironomid pupal exuviae. 209-216 pp. En: Murray, D. A. (ed.), *Chironomidae- Ecology, systematics, cytology and physiology* Pergamon Press, Oxford, 354 pp.
- WILSON, R.S. 1987. Chironomid communities in the River Trent in relation to water chemistry. *Entomologica Scandinavica Supplement* 29: 387-193.
- WILSON, R.S. 1994. Monitoring the effect of sewage effluent on the Oxford Canal using chironomid pupal exuviae. *Water and Environmental Management* 8:171-182.
- WILSON, R.S. & P.L. BRIGHT. 1973. The use of chironomid pupal exuviae for characterizing streams. *Freshwater Biology* 3:283-302.
- WILSON, R.S. & J.D. MCGILL. 1977. A new method of monitoring water quality in a stream receiving sewage effluent, using chironomid pupal exuviae. *Water Research* 11:959-962.
- WILSON, R.S & J.D. MCGILL. 1979. The use of chironomid pupal exuviae for biological surveillance of water quality. Department of the Environment, Water Data Unit, Technical Memorandum 18. 20 p.
- WILSON, R.S. & S.E. WILSON. 1984. A survey of the distribution of Chironomidae (Diptera, insecta) of the river Rhine by sampling pupal exuviae. *Hydrobiological Bulletin* 18(2): 119:132
- WOODWARD, G.; N. BONADA; L.E. BROWN; R.G. DEATH; I. DURANCE; C. GRAY; S. HLADYZ; M.E. LEDGER; A.M. MILNER; S.J. ORMEROD; R.M. THOMPSON & S. PAWAR. 2016. The effects of climatic fluctuations and extreme events on running water ecosystems. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 371(1694):1-15. <http://doi.org/10.1098/rstb.2015.0274>.
- WRIGHT, C.A.; L.C. FERRINGTON & N.H. CRISP. 1996. Analysis of chlordaneimpacted streams using chironomid pupal exuviae (Diptera: Chironomidae). *Hydrobiologia* 318: 69-77.
- WÜRDIG, N.L.; C.S.S. CENZANO; D. MOTTA MARQUES. 2007. Macroinvertebrate communities structure in different environments of the Taim Hydrological System in the state of Rio Grande do Sul. *Acta Limnologica Brasileira* 19:427-438.
- ZANOTTO ARPELLINO, J.P.; L.N.S. RODRÍGUEZ CATANZARO; L. MONTALTO; A. SIRI; M. DONATO. *En prensa*. Diversity, Phenology and Voltinism of Chironomidae (Diptera). Neotropical Streams as a study model. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*.
- ZANOTTO ARPELLINO, J.P.; R.E. PRINCIPE; A.M. OBERTO & C.M. GUALDONI. 2015. Variación espacio-temporal de Chironomidae (Diptera) bentónicos y derivantes en un arroyo serrano en Córdoba, Argentina. *Iheringia. Série Zoologia* 105: 41-52.
- ZILLI, F.L. 2010. Bentos en ambientes leníticos con diferente grado de conectividad en la llanura aluvial del Río Paraná Medio. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Naturales y Museo. Universidad Nacional de La Plata.
- ZILLI, F.L. & A.C. PAGGI. 2013. Ecological Responses to Different Degrees of Hydrologic Connectivity: Assessing Patterns in the Bionomy of Benthic Chironomids in a Large River-Floodplain System. *Wetlands* 33:837-845. <https://doi.org/10.1007/s13157-013-0440-y>

- ZILLI, F.; M. MARCHESE & A. C. PAGGI. 2009. Life Cycle of *Goeldichironomus holoprasinus* Goeldi (Diptera: Chironomidae) in Laboratory. *Neotropical Entomology* 38(4):472-476.
- ZILLI, F.L.; L. MONTALTO; A.C. PAGGI & M.R. MARCHESE. 2008. Biometry and life cycle of *Chironomus calligraphus* Goeldi 1905 (Diptera, Chironomidae) in laboratory conditions. *Interciencia* 33(10): 767-770
- ZURLINI G. & P. GIRARDIN. 2008. Introduction to the special issue on "Ecological indicators at multiple scales". *Ecological Indicators* 8: 781-782.

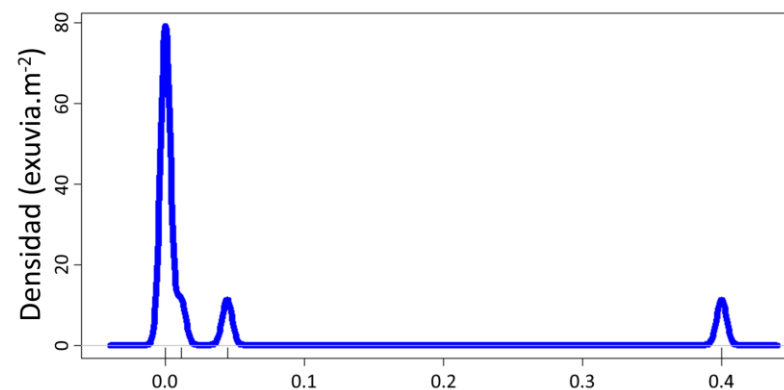
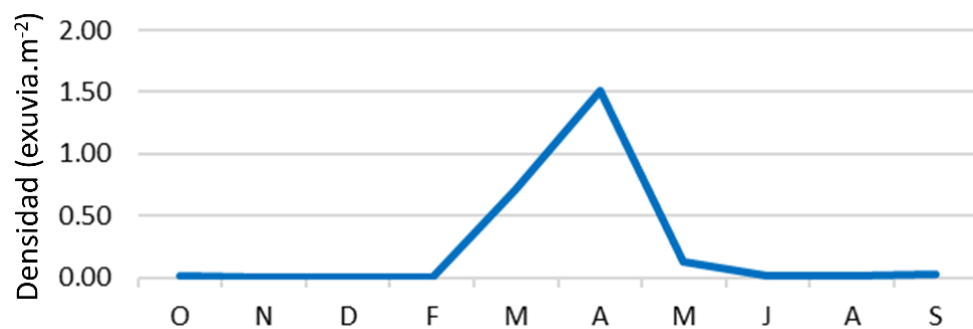


ANEXO

Anexo 1. Análisis de voltinismo de las especies de Chironomidae la región Tributarios de los ríos Paraná y Río de la Plata. Ejemplos de los criterios utilizados para clasificar el tipo de voltinismo, utilizando los gráficos XY.plot (izquierda) y de estimación de densidad de Kernel (derecha).

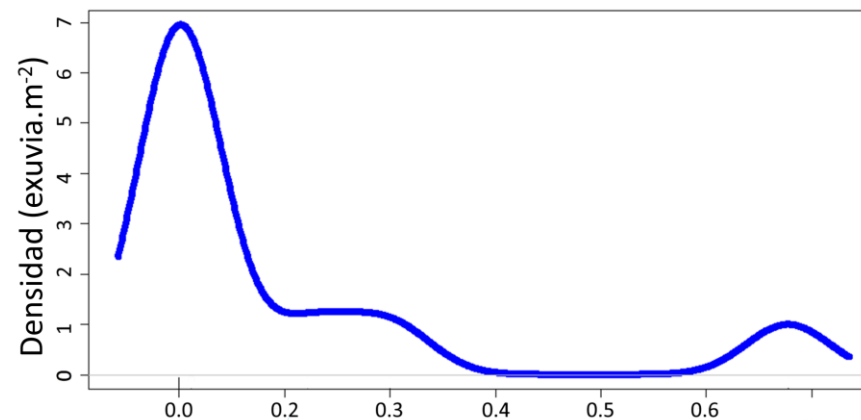
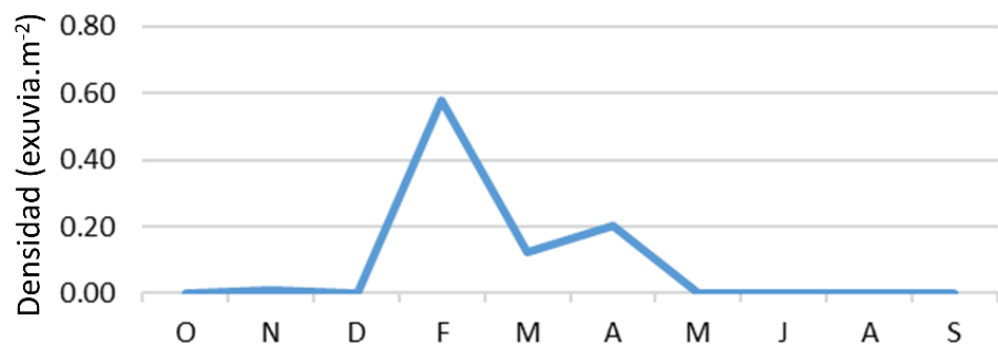
Apedilum elaschistus: Especie univoltina con su óptimo en otoño

	O	N	D	F	M	A	M	J	A	S
Buñi					0.04	0.40				
Caja										
JB				0.01						
Pes										
Tubi										
	0.00	0.00	0.00	0.01	0.04	0.40	0.00	0.00	0.00	0.00



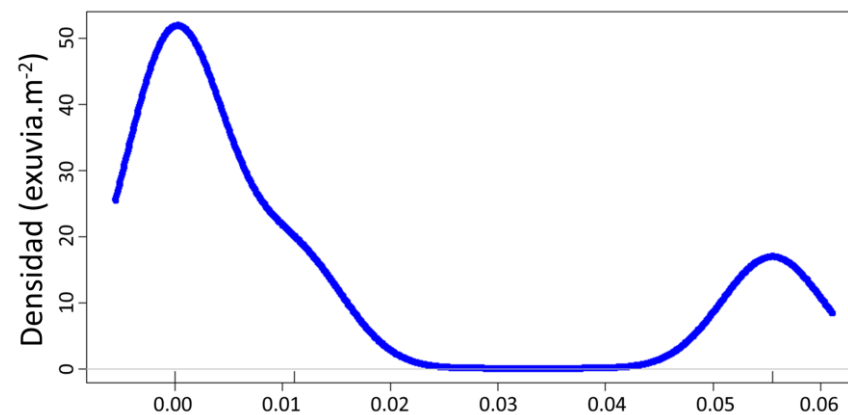
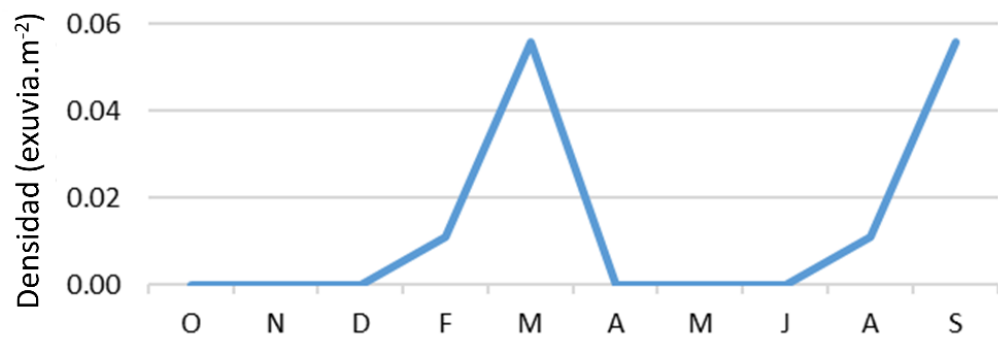
Tanytarsus sp.2: especie univoltina o bivoltina facultativa con su óptimo en verano y subóptimo en otoño.

	O	N	D	F	M	A	M	J	A	S
Buñi					0.11	0.18				
Caja										
JB		0.01				0.01				
Pes				0.58	0.01	0.01				
Tubi										
	0.00	0.01	0.00	0.58	0.12	0.20	0.00	0.00	0.00	0.00



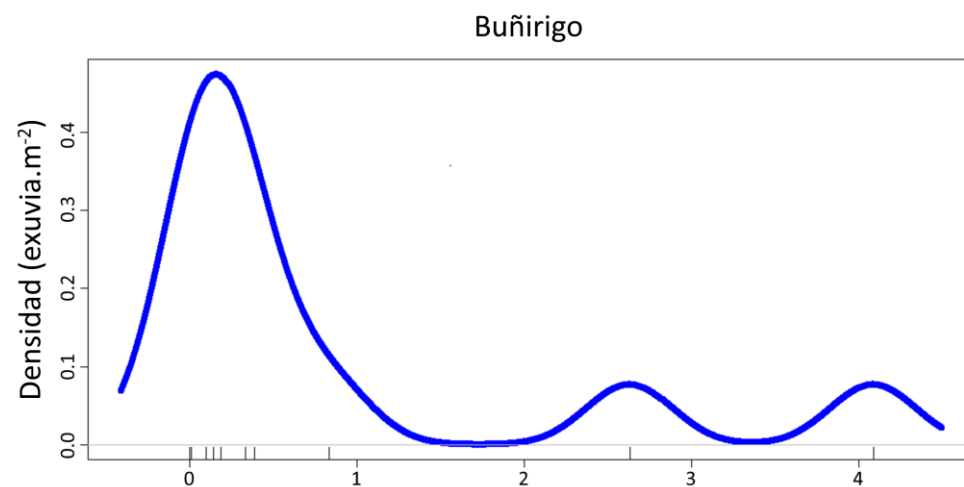
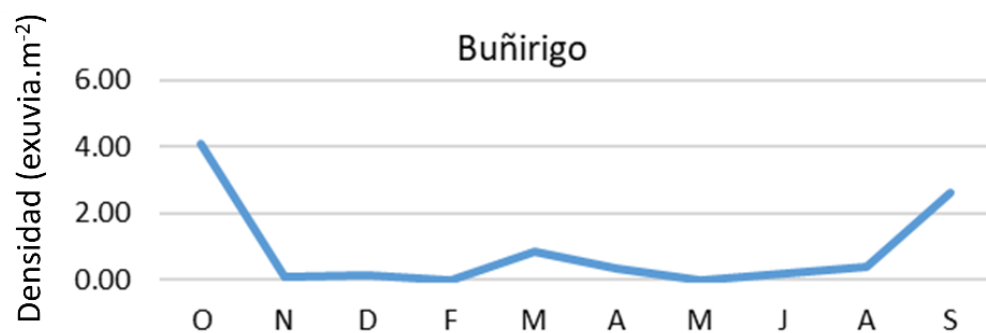
Ablablesmyia sp.2: especie bivoltina con emergencias en verano e invierno

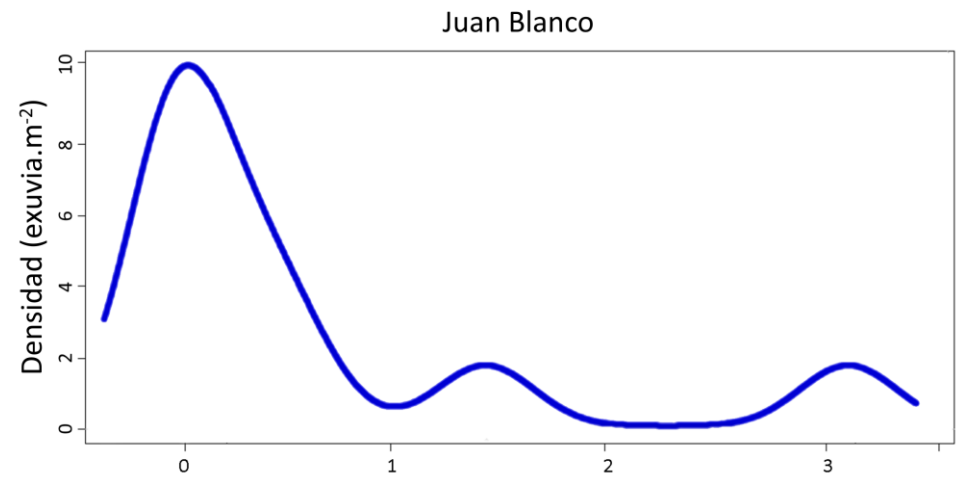
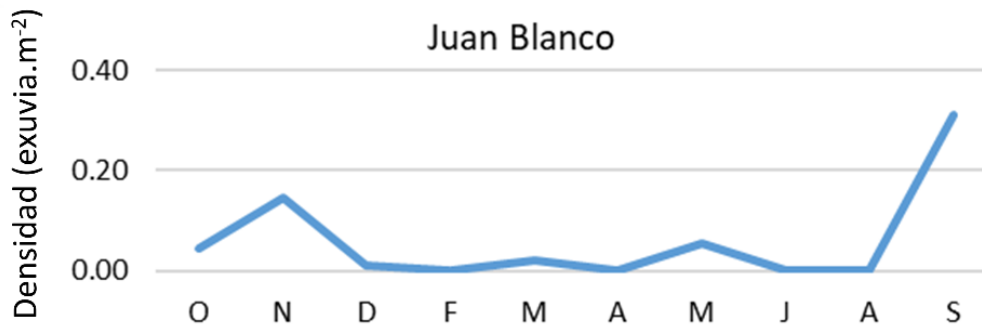
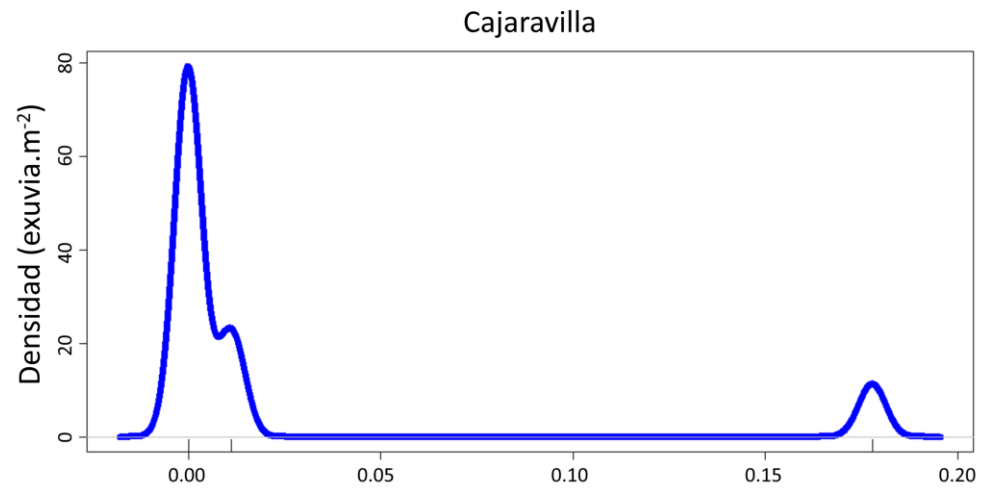
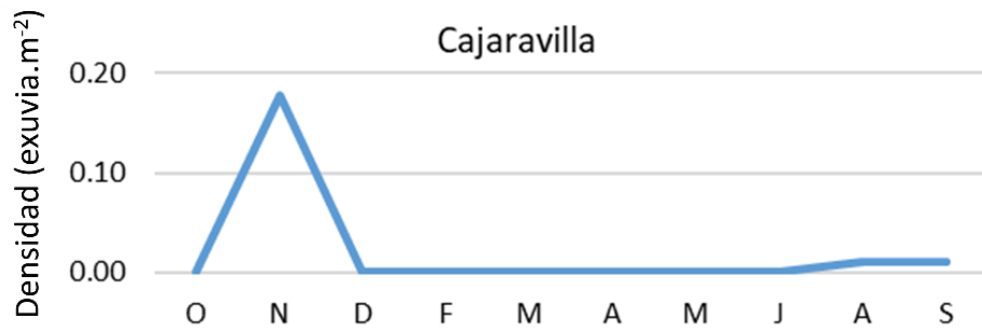
	O	N	D	F	M	A	M	J	A	S
Buñi					0.04				0.01	
Caja										
JB										0.06
Pes				0.01	0.01					
Tubi										

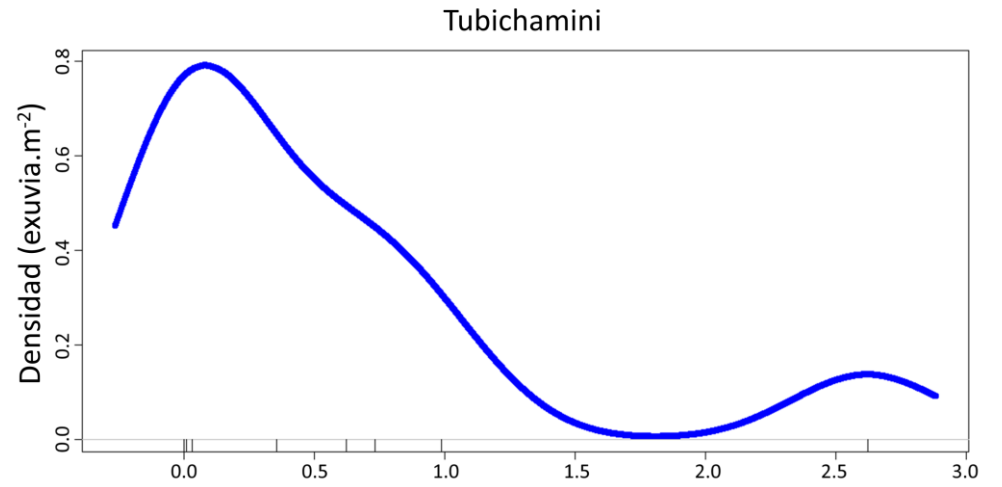
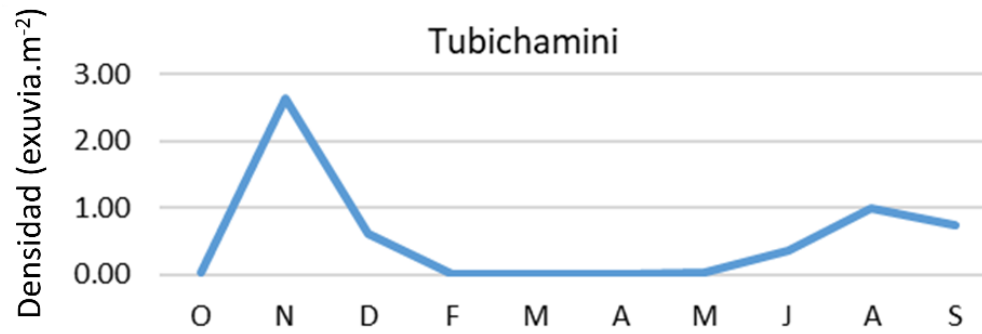
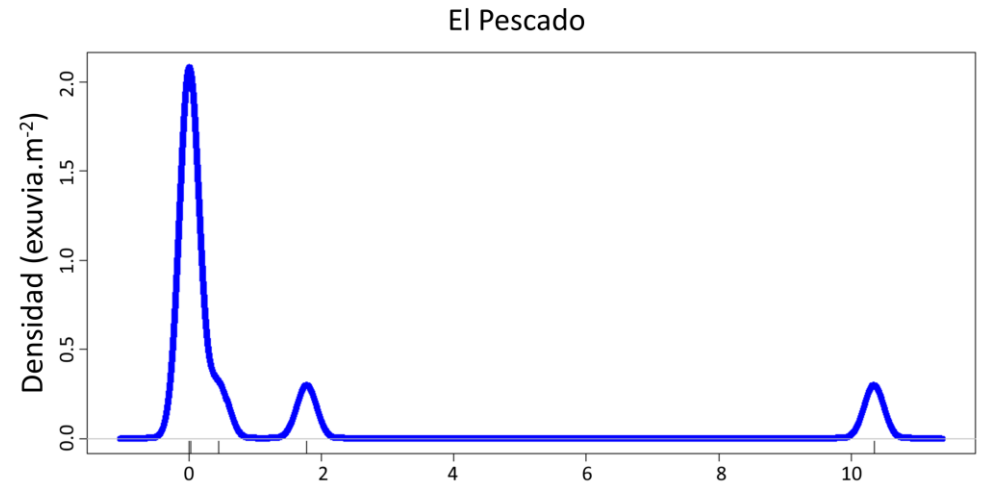
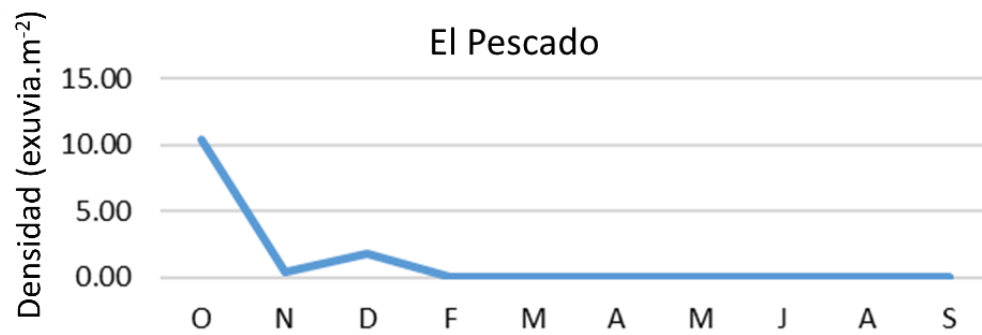


Polypedilum sp.B: especie bivoltina o multivoltina facultativa con su óptimo en primavera y valores de densidades relativamente bajos durante el resto del año.

	O	N	D	F	M	A	M	J	A	S
Buñi	4.09	0.10	0.14		0.83	0.33	0.01	0.19	0.39	2.63
Caja		0.18							0.01	0.01
JB	0.04	0.14	0.01		0.02		0.06			0.31
Pes	10.34	0.46	1.78		0.03	0.03				0.03
Tubi	0.03	2.62	0.62			0.01	0.03	0.36	0.99	0.73







***Tanytarsus* sp.1:** especie multivoltina con emergencias durante todo el año y óptimos a fines del invierno - principios de la primavera.

	O	N	D	F	M	A	M	J	A	S
Buñi	8.72	3.54	0.10		4.31	4.84	0.22	2.40	10.30	2.74
Caja		0.06								
JB	2.79	1.72	0.03	0.03	0.02	0.06	0.36	0.13	0.32	1.19
Pes	1.89	1.53	5.48	0.16	0.06			0.01	0.03	0.01
Tubi	0.01	0.02	0.06						0.04	
	13.41	6.88	5.67	0.19	4.39	4.90	0.58	2.54	10.70	3.94

