



# UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

---

---

## CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN BIODIVERSIDAD Y CONSERVACIÓN

ANÁLISIS DE DEFORMIDADES EN EL MENTÓN DE LARVAS DE QUIRONÓMIDOS

(DIPTERA, CHIRONOMIDAE) EN UNA CUENCA RICA EN METALES

### TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN BIOLOGÍA INTEGRATIVA DE  
LA BIODIVERSIDAD Y LA CONSERVACIÓN

PRESENTA:

Biól. Orestes Carlos Bello González

DIRECTOR: Dr. Norman Mercado Silva

CODIRECTORA: Dra. Perla Alonso EguíaLis



CUERNAVACA, MORELOS.

Mayo, 2020

Sobre la naturaleza...

...nunca hace nada superfluo, nada inútil, y sabe sacar múltiples efectos de una sola causa

Nicolás Copérnico (1473 - 1543)

...es siempre más sutil, más compleja y más elegante que lo que somos capaces de imaginar.

Carl Sagan (1934 - 1996)

## **Agradecimientos**

A la Dra. Perla Alonso EguíaLis porque sin su capacidad incansable y poco común de maravillarse por la naturaleza y de lanzarle preguntas en racimos, sin su liderazgo, capacidad de trabajo y empeño, mis probabilidades de desembarcar en México y de llevar adelante esta investigación habrían tendido a cero. Porque casi siempre supo equilibrar comprensión y exigencia (y eso se escribe más fácil de lo que se hace). Por involucrarme en el proyecto del río Sonora y tener confianza en mi capacidad para desarrollar un trabajo sin precedentes en México. Y por otras muchas razones que sería demasiado largo enumerar. Muchas gracias.

A los biólogos Vania Ramírez, Fabio Avilés, Raúl Ojeda, Sonia González, Leonardo González, Fabiola Bravo y al M. en C. Camilo Vázquez. Mi trabajo habría sido imposible sin sus esfuerzos previos en el campo y los meses posteriores que dedicaron a doblar el cuello en el microscopio. También por tolerar estoicamente mis enfurruñamientos cuando el estrés me desbordaba, perdón por eso.

Al Dr. Norman Mercado Silva por asumir el reto de guiarme en esta investigación en un tema algo distante de sus habituales, por siempre estar disponible cuando era preciso y por confiar en mí, permitiéndome marcar mi ritmo de trabajo.

A la Dra. Norma Ramírez Salinas por su esfuerzo y permanente disposición, imprescindibles para sobrepasar las dificultades en el camino que me trajo a estas tierras.

Al M. en BByC Aaron Chávez Ramírez por sus sugerencias oportunas a mi investigación y por las pausas que me permitieron respirar, hacer balance y reenfocarme en momentos en que estaba tan inmerso en el trabajo y otros varios asuntos que apenas veía lo que tenía frente a mi cara. Gracias tigre.

A la C.P. Claudia Avilés por su exigencia constante en que todo estuviera como, donde y cuando tenía que estar. Sin su trabajo y su forma de llevarlo me habría dejado arrastrar por mis oscuros sentimientos hacia los trámites y nada estaría como, donde y cuando debería estar.

A la M. en C. Lorena Orozco por su gran capacidad de resolver problemas sobre la marcha. A la generación de la MBByC que ahora se gradúa le tocaron cambios importantes en la plataforma CONACyT. Cambios que habrían sido mucho más difíciles para nosotros sin su incansable trabajo y constante guía.

Al comité tutorial y comisión revisora de esta tesis, los Drs. Norman Mercado, Perla Alonso, Cesar Ilizaliturri, Angélica Corona, Elsay Arce y Rodolfo Novelo por ser oportunos e indulgentes en sus comentarios y sugerencias a mi trabajo a la vez de rápidos en entregarlos. Me dio mucho gusto compartirles mis resultados. Aprendí mucho de ustedes.

## **Dedicatoria**

A mi papá por inculcarme la capacidad de adaptarme y la fuerza para hacer lo que es preciso hacer en cada circunstancia en concordancia con mis objetivos y mis principios. Me fue bien siempre que así hice.

A mi mamá porque no hay mar tan ancho que su cariño no sobrepase ni circunstancia tan adversa o complicada que le impidan estar allí donde sus hijos la necesitan.

A ambos por demostrarme con su ejemplo, el valor del esfuerzo enfocado con inteligencia.

Al Peto y a Perlita por la inmensa confianza y cariño que depositaron en mí y que tan sólida y espontáneamente me demostraron en su momento. Ojalá tuviera algo más que ofrecerles que unas palabras en esta tesis y un agradecimiento sincero. Independientemente de las circunstancias actuales, cuenten con ello.

Al Sr. Juvenal y la Sra. Virginia por las consideraciones, el respeto y el afecto que me han demostrado en los dos años y cacho que llevamos compartiendo el mismo techo.

A los que sin saber de quironómidos, ni de deformidades, no contuvieron su sed de querer entender y preguntaron, preguntaron y volvieron a preguntar, haciéndome entender mejor a mí mismo, en el proceso de intentar contestarles, la esencia y el propósito de mi trabajo.

Con especial aprecio, a los afortunadamente pocos, que dé propia voluntad o como consecuencia colateral me retaron poniendo obstáculos en mi camino. Heme aquí.

## Resumen

Un incremento en las deformidades morfológicas en estructuras de la capsula cefálica de las larvas de quironómidos (Diptera, Chironomidae), ha sido asociado con la presencia y concentración de metales en el sedimento en ecosistemas de agua dulce. La frecuencia y severidad de estas deformidades podría representar una respuesta subletal a la contaminación y su análisis tendría el potencial de una herramienta efectiva en el biomonitoreo y alerta temprana frente a perturbaciones. Sin embargo, antes es necesario conocer ¿cuál es el nivel “normal” de incidencia de deformidades en sitios de referencia? ¿cómo varía la incidencia de deformidades en el espacio y en el tiempo y con qué variables ambientales se relaciona esta variación? ¿responden de manera semejante las larvas de diferentes taxones? Contribuir a resolver estas interrogantes es la meta de esta investigación, pionera en México en abordar la temática. Hipotetizamos entonces, que la frecuencia y severidad de las deformidades en el mentón de las larvas de quironómidos en el área de estudio estaría relacionada a través del espacio y el tiempo con la concentración de metales en el sedimento. Para evaluar dicha hipótesis, a lo largo de 15 sitios distribuidos por la cuenca del río Sonora (una cuenca naturalmente rica en metales al norte de México), analizamos el mentón (estructura fuertemente esclerotizada de la cápsula cefálica) de 9897 larvas de quironómidos a lo largo de dos años de muestreos (dos periodos de seca y dos de lluvia), cuantificamos y evaluamos la severidad de las deformidades encontradas. Paralelamente evaluamos la concentración de metales (Al, As, Cu, Mn, Fe, Pb y Zn), materia orgánica (MO) y estructura granulométrica del sedimento, así como la temperatura, salinidad-conductividad y pH del agua. Como mostró el análisis de componentes principales (ACP) cuyos dos primeros componentes explican el 66.5 % de la variación en los datos, todos los metales siguieron un gradiente de mayor a menor concentración desde la cuenca alta a la baja. Este comportamiento de los metales se corresponde con lo que cabría esperar de la distribución de las zonas naturalmente mineralizadas y de procesos geomorfológicos naturales a escala de cuenca. Los valores de los metales no superaron las concentraciones indicativas de riesgo ecológico reportadas en la literatura. El ACP también mostró una tendencia al incremento hacia la cuenca baja de la MO, la salinidad-conductividad, la temperatura del agua y la proporción de limos y arcillas en el sedimento. En el 70 % del total de larvas con deformidades estas fueron ligeras (Tipo 1 en este estudio) y solo el 30 % de las larvas que presentaron deformidades las mostraron severas (Tipo 2 y 3 en este estudio). El Toxic Score Index (TSI), calculado a partir de la frecuencia y severidad de las deformidades, mostró que la mayoría de los sitios en la mayoría de las fechas de muestreo tenía “aguas limpias” (60 % de los sitios y fechas) o “estrés no tóxico” (38 % de los sitios y fechas), solo un caso mostró evidencias de toxicidad. Las deformidades severas (DS) estuvieron presentes hasta en el 6.3 % de las larvas en los sitios y fechas estudiados. El análisis PERMANOVA, evidenció que solo las DS mostraron una variación espacial y temporal, no así las deformidades ligeras ni los valores del TSI. Las DS resultaron significativamente más frecuentes en la cuenca baja que en las

cuenca media ( $p=0.0193^*$ ) y alta ( $p=0.0376^*$ ) y durante el primer año de muestreos los niveles de DS resultaron significativamente superiores al segundo año ( $p=0.0183^*$ ). El modelo obtenido a partir del árbol de regresiones (costo relativo = 0.273) predice correctamente el 86.35 % de los valores de DS y sugiere que es la variación espacial en MO, salinidad-conductividad, temperatura, altura sobre el nivel del mar y la variación temporal entre el primer año de muestreo y el segundo las variables más relevantes para explicar la incidencia de DS. No lo es por tanto la concentración de metales en el sedimento. El presente estudio encontró diferencias significativas en la incidencia de deformidades entre los taxones estudiados (*Tanytarsus* sp., *Polypedilum* sp. y *Dicrotendipes* sp.), estas diferencias parecen debidas a diferentes tolerancias al estrés ambiental. La prueba U de Mann-Whitney mostró, entre *Tanytarsus* sp. y *Polypedilum* sp., diferencias significativas en el TSI ( $p=0.02^*$ ), deformidades totales ( $p=0.02^*$ ) y ligeras ( $p=0.009^{**}$ ), pero no en las DS. Entre *Tanytarsus* sp. y *Dicrotendipes* sp. solo se encontraron diferencias significativas en la incidencia de DS ( $p=0.006^{**}$ ). Entre *Polypedilum* sp. y *Dicrotendipes* sp. no se encontraron diferencias estadísticamente significativas, aunque gráficamente se aprecia una mayor incidencia de DS en el primer taxón respecto al segundo. Las incongruencias en la incidencia de los diferentes tipos de deformidades y el TSI pueden estar relacionadas con la ambigüedad de la identificación de las deformidades ligeras y el pequeño tamaño de muestra en la mayoría de los estudios previos con los que contrastamos nuestros resultados. Las DS resultan las más adecuadas para evaluar la respuesta de las larvas de quironómidos y basándonos en ellas se obtuvo un orden de tolerancia: *Dicrotendipes* sp. > *Tanytarsus* sp.  $\approx$  *Polypedilum* sp. La mayor parte de la variación en la incidencia de deformidades, específicamente de las DS, es explicada por la variación a escala de cuenca en variables ambientales (proporción de materia orgánica y de limos y arcillas en el sedimento, temperatura y salinidad-conductividad del agua) que fluctúan dentro de rangos semejantes a los que cabría esperar como resultado de procesos geomorfológicos y gradientes geográficos naturales. Considerando además que no se aprecia una relación entre las DS y las concentraciones de los metales en el sedimento, se rechaza la hipótesis propuesta inicialmente en la presente investigación. Existe una fuerte variación intertaxonómica en la incidencia de deformidades que parece responder a las sensibilidades respectivas a las condiciones ambientales de cada taxón. El rango de esta variación depende de la métrica utilizada para caracterizar la incidencia de deformidades y las DS muestran los resultados más consistentes a este respecto. Los resultados sugieren que, cuando las concentraciones de metales en el sedimento no superan determinados valores umbrales asociados a efectos ecológicos, la incidencia de DS puede variar de manera medible a escala de cuenca como resultado de procesos naturales. Dicha variación debe ser tomada en cuenta a la hora de aplicar el estudio de las deformidades como medida de impacto de perturbaciones antropogénicas.

## Contenido

Índice de figuras .....	VIII
Índice de cuadros .....	X
Principales abreviaturas utilizadas .....	XII
Introducción .....	1
1 Marco teórico .....	4
1.1 Biomonitorio en ecosistemas de aguas interiores empleando macroinvertebrados acuáticos .....	4
1.2 Uso de las deformidades morfológicas en larvas de quironómidos para evaluar estrés ambiental (con énfasis en metales pesados) .....	6
1.2.1 Metales como agentes causales de deformidades .....	6
1.2.2 Mecanismos de generación de deformidades por los metales .....	8
1.2.3 ¿Mutágenos o teratógenos? .....	8
1.2.4 Taxones estudiados .....	9
1.2.5 Estructuras morfológicas evaluadas .....	9
1.2.6 Empleo de métricas .....	10
1.2.7 Consideraciones adicionales relacionadas con el uso práctico de las deformidades .....	11
2 Hipótesis y objetivos .....	12
3 Materiales y Métodos .....	13
3.1 Área de estudio .....	13
3.2 Selección de sitios y frecuencia de muestreo .....	14
3.3 Toma de datos químico-físicos, muestras biológicas y de sedimento en el campo .....	15
3.4 Metales, materia orgánica y estructura granulométrica del sedimento .....	15
3.5 Procesamiento de muestras biológicas .....	16
3.6 Análisis de deformidades .....	18
3.7 Variación espacio-temporal en la concentración de metales y parámetros químico-físicos. ....	22
3.8 Variación espacio-temporal en la incidencia de deformidades en el mentón de larvas de quironómidos .....	22
3.9 Relación entre la incidencia de deformidades en el mentón de larvas de quironómidos, la concentración de metales en el sedimento y parámetros químico-físicos. ....	23
3.10 Variaciones intertaxonómicas en la incidencia de deformidades .....	24
4 Resultados .....	25
4.1 Metales y parámetros químico-físicos. Valores y variación espacio-temporal .....	25
4.2 Incidencia de deformidades. Patrones espacio-temporales .....	40
4.3 Relación entre la incidencia de deformidades, concentración de metales en el sedimento y las variables ambientales evaluadas .....	47

4.4	Variaciones intertaxonómicas.....	52
5	Discusión .....	59
5.1	Patrones en la concentración de metales en el sedimento y variables químico-físicas .....	59
5.2	Patrones en la incidencia de deformidades .....	62
5.3	Variaciones intertaxonómicas.....	69
6	Conclusiones.....	72
7	Recomendaciones y futuras líneas de trabajo .....	73
8	Referencias bibliográficas .....	74

## Índice de figuras

Figura 1. Cuenca del río Sonora con la ubicación de los sitios de trabajo .....	13
Figura 2. Disposición de las cápsulas cefálicas de las larvas de quironómidos en el portaobjetos para el estudio de las deformidades bajo el microscopio.....	17
Figura 3. Mentón típico de <i>Tanytarsus</i> sp. Chironomidae, Diptera.....	19
Figura 4. Mentón típico de <i>Polypedilum</i> sp. Chironomidae, Diptera.....	19
Figura 5. Mentón típico de <i>Dicrotendipes</i> sp. Chironomidae, Diptera. ....	20
Figura 6. Mentón de <i>Polypedilum</i> sp. mostrando una deformidad ligera (Tipo 1).....	20
Figura 7. Mentón de <i>Polypedilum</i> sp. mostrando una deformidad severa (Tipo 2). ....	20
Figura 8. Mentón de <i>Polypedilum</i> sp. mostrando deformidades severas (Tipo 3). ....	21
Figura. 9 Análisis de componentes principales de los metales y parámetros químico-físicos evaluados en la cuenca del río Sonora, México. ....	28
Figura. 10 Aporte de cada variable (metales y parámetros químico-físicos evaluados en la cuenca del río Sonora, México, desde noviembre de 2016 hasta mayo de 2018) al componente 1 del ACP.. ....	29
Figura. 11 Aporte de cada variable (metales y parámetros químico-físicos evaluados en la cuenca del río Sonora, México, desde noviembre de 2016 hasta mayo de 2018) al componente 2 del ACP.. ....	29
Figura 12. Tendencia a lo largo del gradiente altitudinal de la cuenca en la concentración de Al.....	36
Figura. 13 Tendencia a lo largo del gradiente altitudinal de la cuenca en la concentración de As .....	37
Figura. 14 Tendencia a lo largo del gradiente altitudinal de la cuenca en la concentración de Cu.....	37
Figura 15. Tendencia a lo largo del gradiente altitudinal de la cuenca en la concentración de Mn. ....	38
Figura 16. Tendencia a lo largo del gradiente altitudinal de la cuenca en la concentración de Fe .....	38
Figura 17. Tendencia a lo largo del gradiente altitudinal de la cuenca en la concentración de Zn.....	39
Figura 18. Tendencia a lo largo del gradiente altitudinal de la cuenca en la concentración de Pb.....	39
Figura 19. Número de larvas con cada tipo de deformidad y porcentaje de cada tipo de deformidad respecto al total de larvas deformadas. T1: deformidades Tipo 1; T2: deformidades Tipo 2; T3: deformidades Tipo 3	40
Figura 20. Número de casos (combinaciones de sitio/fecha) y porcentaje respecto al total de casos estudiados en cada categoría del TSI.....	41
Figura 21. % DS en cada sector de cuenca. ....	45
Figura 22. % DS en el primer y segundo año de muestreo. ....	45
Figura 23. % DS en los sectores de cuenca durante la época de secas.....	46
Figura 24. % DS en los sectores de cuenca durante la época de lluvias.. ....	46
Figura 25. % DS en época de lluvias y secas para cada sector de cuenca.....	47

Figura 26. Árbol de regresiones con el porcentaje de deformidades severas (% DS) como variable de respuesta. .....	51
Figura 27. Porcentaje del total de sitios y fechas en las que estuvieron presentes los taxones de Chironomidae estudiados en la cuenca del río Sonora, Mexico.....	52
Figura. 28 Comparación de los valores del Toxic Score Index (TSI), porcentaje de deformidades totales (% DT), porcentaje de deformidades ligeras (% DL) y el porcentaje de deformidades severas (% DS) entre <i>Tanytarsus</i> sp. y <i>Polypedilum</i> sp.....	54
Figura 29. Comparación del aporte del porcentaje de deformidades ligeras (% DL) y del porcentaje de deformidades severas (% DS) entre <i>Tanytarsus</i> sp. y <i>Polypedilum</i> sp.....	54
Figura. 30 Comparación de los valores del Toxic Score Index (TSI), porcentaje de deformidades totales (% DT), porcentaje de deformidades ligeras (% DL) y el porcentaje de deformidades severas (% DS) entre <i>Tanytarsus</i> sp. y <i>Dicrotendipes</i> sp.....	55
Figura. 31 Comparación del aporte del porcentaje de deformidades ligeras (% DL) y del porcentaje de deformidades severas (% DS) entre <i>Tanytarsus</i> sp. y <i>Dicrotendipes</i> sp.....	55
Figura. 32 Comparación de los valores del Toxic Score Index (TSI), porcentaje de deformidades totales (% DT), porcentaje de deformidades ligeras (% DL) y el porcentaje de deformidades severas (% DS) entre <i>Polypedilum</i> sp. y <i>Dicrotendipes</i> sp.....	56
Figura 33. Comparación del aporte del porcentaje de deformidades ligeras (% DL) y del porcentaje de deformidades severas (% DS) entre <i>Polypedilum</i> sp. y <i>Dicrotendipes</i> sp.. .....	56

## Índice de cuadros

Cuadro 1. Clasificación de sedimento proveniente de localidades ubicadas en el río Sonora, México. ....	16
Cuadro 2. Clasificación de la calidad del agua con base en el Toxic Score Index (Lenat 1993). ....	21
Cuadro 3. Parámetros y opciones seleccionadas en la configuración del árbol de regresiones en CART. ....	23
Cuadro 4. Valores de los metales aluminio, arsénico, cobre y hierro medidos en sedimento en cada uno de los sitios durante el primer año de muestreos en la cuenca del río Sonora. ....	30
Cuadro 5. Valores de los metales aluminio, arsénico, cobre y hierro medidos en sedimento en cada uno de los sitios durante el segundo año de muestreos en la cuenca del río Sonora. ....	31
Cuadro 6. Valores de los metales manganeso, plomo y zinc medidos en sedimento en cada uno de los sitios durante el primer año de muestreos en la cuenca del río Sonora. ....	32
Cuadro 7. Valores de los metales manganeso, plomo y zinc medidos en sedimento en cada uno de los sitios durante el segundo año de muestreos en la cuenca del río Sonora. ....	33
Cuadro 8. Valores de los parámetros químico-físicos medidos en cada uno de los sitios durante el primer año de muestreos en la cuenca del río Sonora. ....	34
Cuadro 9. Valores de los parámetros químico-físicos medidos en cada uno de los sitios durante el segundo año de muestreos en la cuenca del río Sonora. ....	35
Cuadro 10. Eigenvectores identificados por el Análisis de Componentes Principales. ....	36
Cuadro 11. Incidencia de deformidades en ejemplares de Chironomidae en cada sitio y fecha de muestreo en la cuenca del río Sonora, Mexico. ....	42
Cuadro 12. Resultados del PERMANOVA con los datos de la incidencia de deformidades en ejemplares de Chironomidae en cada sitio y fecha de muestreo en la cuenca del río Sonora, Mexico. ....	43
Cuadro 13. Resultados del análisis por pares de PERMANOVA con los datos de la incidencia de deformidades en ejemplares de Chironomidae en cada sitio y fecha de muestreo en la cuenca del río Sonora, Mexico. ....	44
Cuadro 14. Respuesta del porcentaje de deformidades severas (% DS) a las variaciones en las variables predictoras (variables continuas) o sus estados (variables categóricas). ....	48
Cuadro 15. Características, combinación de valores o estados de las variables que definen los nodos y promedio del porcentaje de deformidades severas (% DS) correspondiente a cada nodo parental del árbol de regresiones. ....	49
Cuadro 16. Características, combinación de valores o estados de las variables que definen los nodos y promedio del porcentaje de deformidades severas (% DS) correspondiente a cada nodo terminal del árbol de regresiones. ....	50

Cuadro 17. Incidencia de deformidades en <i>Tanytarsus</i> sp. (T), <i>Polypedilum</i> sp. (P) y <i>Dicrotendipes</i> sp. (Di) en los sitios y fechas en las que estuvieron presentes los tres o al menos dos de ellos en la cuenca del río Sonora, Mexico.....	53
Cuadro 18. Variaciones porcentuales de la incidencia de deformidades entre los taxones..	58

## Principales abreviaturas utilizadas

Abreviatura	Significado
D <sub>c</sub>	Diente(s) central(es) del mentón
D <sub>L</sub>	Dientes laterales del mentón
% DT	Porcentaje de deformidades totales
% DL	Porcentaje de deformidades ligeras
% DS	Porcentaje de deformidades severas
TSI	Toxic Score Index
Al	Aluminio
As	Arsénico
Cu	Cobre
Fe	Hierro
Mn	Manganeso
Pb	Plomo
Zn	Zinc
% MO	Porcentaje de materia orgánica en el sedimento
% de limos + arcillas	Porcentaje de limos y arcillas
TDS	Sólidos totales en suspensión
ACP	Análisis de Componentes Principales
PAST	PAleontological STatistics
CART	Classification and Regression Trees
TEL	Nivel umbral de efecto (Threshold Effect Level)
EPA	Agencia de Protección Ambiental (Environmental Protection Agency) de los Estados Unidos de Norteamérica
NOAA	Administración Oceánica y Atmosférica Nacional (National Oceanic and Atmospheric Administration) de los Estados Unidos de Norteamérica

## Introducción

El incremento y la naturaleza diversa de los contaminantes que llegan a las aguas interiores resulta en una amenaza principal para la biodiversidad (Richardson et al. 2007) y la causa de enfermedades y muerte para muchas personas alrededor del mundo (Haseena et al. 2017). Entre los contaminantes, los metales representan un peligro espacialmente importante, ya que no son biodegradables, pueden tener una elevada capacidad de bioacumulación y alta toxicidad (Reeve 2002; Lu et al. 2015; Su et al. 2017; Kalita, Sarma, y Devi 2019; Fu et al. 2019; Saleem, Iqbal, y Shah 2019). Las fuentes de origen industrial o los residuales de la actividad minera destacan entre los principales emisores de metales a los ecosistemas acuáticos (Bradl 2005; Rehman et al. 2018). En este contexto, se han desarrollado diversas aproximaciones para evaluar y monitorear la calidad de las aguas y el estado de salud de los ecosistemas acuáticos. El empleo de elementos de la biota para medir y dar seguimiento a los cambios ambientales, conocido en términos generales como “biomonitoreo”, destaca en este sentido (Friberg et al. 2011). En el caso de los ecosistemas lóticos, el biomonitoreo ocupa un lugar especialmente relevante, debido a que los cambios hidrológicos son rápidos y difíciles de estimar. Esta intensa dinámica dificulta la interpretación de los resultados de indicadores clásicamente empleados, como los análisis químico-físicos y bacteriológicos (Li, Zheng, y Liu 2010).

Entre los grupos más utilizados en el biomonitoreo se encuentran los quironómidos (Paggi 1999; Morais et al. 2010; Rosa Vescovi et al. 2014; Hirabayashi et al. 2018; Lencioni et al. 2018; Villa et al. 2018). Esta familia de dípteros holometábolos con larvas principalmente acuáticas, incluye a un estimado de 15000 especies en el mundo (Cranston 1995). La mayoría de las especies de quironómidos tienen larvas que viven estrechamente asociadas a los sedimentos, ingiriendo materia orgánica y partículas minerales depositadas y están, por tanto, fuertemente expuestas a los contaminantes ligados al sustrato (Heinis, Timmermans, y Swain 1990; Vermeulen 1995). La presencia de contaminantes en sedimentos, especialmente de metales pesados, hidrocarburos aromáticos y pesticidas ha sido fuertemente correlacionada con la frecuencia y severidad de deformidades morfológicas en estructuras de la cabeza de larvas de varias especies de quironómidos (Di Veroli, Selvaggi, y Goretti 2012; Di Veroli et al. 2014; Žunić et al. 2015; Gagliardi et al. 2016 ; Bozanic et al. 2019). Estos contaminantes actúan principalmente como teratógenos (Groenendijk, Zeinstra, y Postma 1998) provocando un incremento en las deformidades en estructuras (ej: el mentón) de las larvas presentes en sitios contaminados respecto a aquellas en sitios de referencia. El análisis de las deformidades de determinados grupos de quironómidos puede ilustrar efectos subletales y brindar señales tempranas de degradación ambiental por contaminación química (Warwick 1990; Janssens De Bisthoven, Timmermans, y Ollevier 1992; Ochieng, De Ruyter Van Steveninck, y Wanda 2008) relativamente independientes de las variaciones naturales del ambiente (Burt 1998). Debido a esto, la frecuencia y severidad de las deformidades morfológicas en las larvas de

quironómidos (especialmente del mentón) han sido empleadas como indicadoras de estrés antropogénico en sistemas acuáticos y utilizadas frecuentemente en evaluaciones de riesgo ecológico (Canfield et al. 1994; Watts y Pascoe 1996; Weerapran et al. 2018; Bozanic et al. 2019)

Existen una serie de aspectos críticos para obtener e interpretar adecuadamente los resultados del estudio de las deformidades y que parten de la posibilidad de comparar los datos de los sitios potencialmente impactados con aquellos procedentes de sitios en condiciones de referencia. En primer lugar y debido a los variables conceptos de “deformidad” (Salmelin, Vuori, y Hämäläinen 2015) los niveles “normales” de deformidades han sido reportados desde 0.0 % (Hamilton y Saether 1971; Bird 1994) hasta superiores al 40 % (Warwick 1990; Janssens De Bisthoven, Timmermans, y Ollevier 1992). Si se pretende explotar las potencialidades de este procedimiento es necesario obtener información sobre los niveles básicos de incidencia de deformidades (Burt, Ciborowski, y Reynoldson 2003). Los estudios de deformidades en larvas de quironómidos han estado caracterizados, con muy pocas excepciones (Majumdar y Saha 2013; Akyildiz et al. 2018), por pocos puntos de muestreo y/o un tamaño de muestra pequeño. Por otra parte, debido a la gran diversidad taxonómica y ecológica dentro de la familia Chironomidae, es importante evaluar la variabilidad en la susceptibilidad a la incidencia de deformidades entre taxones (Hudson y Ciborowski 1996) en aras de encontrar aquellos que reúnan las mejores condiciones para su empleo (ej: amplia distribución, alta abundancia, poca incidencia de deformidades en condiciones de referencia, incidencia de deformidades en proporción a la intensidad del estrés, etc.). Otro aspecto fundamental, explorado en muy pocos estudios (Jeyasingham y Ling 1997; Servia, Cobo, y González 2000; 2004) es la variación natural de la incidencia de deformidades en relación a la estacionalidad (lluvias/secas) o las condiciones del sustrato (incluyendo niveles naturalmente elevados de metales), a pesar de ser estos aspectos muy dinámicos en los ecosistemas lóticos y por tanto potencialmente relevantes para la comprensión de los resultados de estudios de biomonitoreo, especialmente a escala de cuenca.

El río Sonora se extiende por aproximadamente 421 km (CONAGUA 2019), con bajos niveles de contaminación orgánica, según se interpreta a partir de los datos de DBO y DQO publicados por CONAGUA (2017). La cuenca del Sonora se caracteriza por presentar amplias áreas con alto grado de mineralización natural, especialmente hacia la parte alta y media de la misma (ver mapas en Calmus et al. 2016). Esta mineralización se refleja en el contenido de metales de los sedimentos fluviales (Calmus et al. 2016) que se muestra mayor hacia la cuenca alta y disminuye hacia la baja. La variación espacial en la distribución de los metales en el contexto de un río relativamente limpio, brinda una oportunidad extraordinaria para analizar los valores y rangos de variación en la frecuencia de deformidades en las larvas de quironómidos, en relación con las concentraciones naturales de metales en el sedimento a través de numerosos puntos distribuidos por la cuenca del Sonora. También para analizar estas variaciones a la luz de otros factores ambientales (ej: materia orgánica y diámetro

de partículas del sedimento) que varían como resultado de procesos geomorfológicos y biológicos naturales, empleando para ello técnicas modernas de análisis de datos complejos, como las derivadas de “machine learning”, que permitan el análisis de posibles relaciones causales no lineales.

## 1 Marco teórico

### 1.1 Biomonitorio en ecosistemas de aguas interiores empleando macroinvertebrados acuáticos

El biomonitorio puede definirse como “el empleo sistemático de organismos vivos o sus respuestas para determinar la condición o cambios del ambiente” (Oertel y Salánki 2003). Entre los grupos más utilizados en el biomonitorio de los ecosistemas de aguas interiores se encuentran los macroinvertebrados. Este conjunto agrupa a los invertebrados que desarrollan total o parcialmente su ciclo de vida en un ecosistema acuático y que tienen una talla igual o superior a 0.5 mm (Hauer y Resh 2007). Debido a los resultados generalmente satisfactorios del empleo de los macroinvertebrados en el biomonitorio acuático y los avances sostenidos en este campo, cientos de artículos científicos, libros o capítulos se han publicado al respecto. Solo referiré aquí algunos que considero marcaron tendencia y me parecen más relevantes en el contexto específico de esta investigación. Para revisiones exhaustivas pueden consultarse los trabajos de Hynes (1960); Rosenberg y Resh (1993); Bonada et al. (2006); Menezes, Baird, y Soares (2010), Li et al. (2010) y Friberg et al. (2011). Entre las principales ventajas que han permitido el amplio uso en el biomonitorio de los macroinvertebrados, se encuentran su gran abundancia y amplia distribución, condiciones que facilitan realizar estudios comparativos. La gran diversidad taxonómica y ecológica del grupo permite que abarque un abanico muy amplio de condiciones ecológicas que pueden ser discriminadas por taxones específicos. Su ciclo de vida relativamente largo combinado con un modo de vida predominantemente sedentario propicia que las condiciones recientes y presentes del ambiente se reflejen en la estructura de la comunidad. Otras consideraciones de índole práctica, tienen que ver con la existencia de técnicas de recolecta estandarizadas y el relativamente bajo costo de su implementación (Rosenberg y Resh 1993; Bonada et al. 2006). Tales ventajas han favorecido la inclusión de criterios fundamentados en estos indicadores en el marco legal de numerosos países, incluyendo Costa Rica, EUA, Canadá, los integrantes de la Unión Europea, Sudáfrica y Australia, entre otros (Buss et al. 2015).

El empleo de los macroinvertebrados acuáticos en el biomonitorio tiene su origen en el trabajo de Kolwitz y Marsson (1902) que unos años después, sería planteado como el sistema de los saprobios (Kolwitz y Marsson 1908). El sistema estaba enfocado en el efecto de reducción del oxígeno disuelto que tiene la contaminación orgánica, identificada como la causa fundamental de los cambios en la composición taxonómica en las comunidades acuáticas.

Mucho se ha hecho desde ese entonces a la actualidad. A escala de ensamblaje o comunidad el empleo de los macroinvertebrados se ha desarrollado en tres enfoques principales: índices bióticos, índices multimétricos y modelos predictivos (Prat, Acosta, y Rieradevall 2009; Springer 2010).

Los índices bióticos típicamente asignan un “valor de tolerancia” a los taxones. Estos valores de tolerancia se basan en la probabilidad de hallazgo de determinado taxón (generalmente a nivel de familia o

género) en un gradiente de deterioro ambiental. Así, un taxón será “más tolerante” mientras pueda ser encontrado en condiciones más deterioradas y otro será “menos tolerante” si, para esas mismas condiciones, ya sus poblaciones se han reducido tanto que es poco probable su hallazgo. Típicamente los valores de tolerancia se suman y se obtiene un puntaje para el sitio en cuestión. A dicho puntaje le corresponde una categoría de calidad del agua prefijada. Entre los más utilizados de estos índices se encuentran el Family Biotic Index o Índice Biótico de Hilsenhoff (Hilsenhoff 1987, 1988) que además de los valores de tolerancia de los taxones pondera sus abundancias. Otro, el Biological Monitoring Working Party (BMWP) (Hellawell 1978; Armitage et al. 1983), ha sido adaptado a Sudáfrica, España, Costa Rica y otros países (Alba-Tercedor y Sánchez-Ortega 1988; Chutter 1995) que solo considera los valores de tolerancia de las familias de macroinvertebrados presentes sin dar peso a sus abundancias.

Lo índices multimétricos consolidan en un valor los resultados de una variedad de métricas evaluadas directamente en el campo o derivadas directamente de las muestras tomadas allí. Estas métricas pueden brindar información sobre la calidad del hábitat, relaciones tróficas, diversidad, etc. (Segnini 2003), así como incluir a alguno de los índices bióticos previamente mencionados. Entre los más utilizados se encuentran los índices de integridad biótica (IBI) derivados del trabajo de Karr (1991). La mayoría de estos IBIs están enfocados en peces y, a diferencia del caso anterior, no existen muchos ejemplos con macroinvertebrados. Sin embargo tienen mucho potencial, como demuestra el trabajo de Barbour et al. (1996).

Los modelos predictivos incorporan como elemento fundamental un fuerte aparato estadístico multivariado así como procedimientos como redes neuronales (Gutierrez, Riss, y Ospina 2004; 2006). Entre los modelos predictivos destaca el RIVPAC (Wright et al. 1984). Este modelo básicamente parte de un gran set de datos químico-físicos, geográficos y de macroinvertebrados obtenidos en numerosos sitios con condiciones de referencia. Con estos datos se establece una clasificación de los cuerpos de agua para un área geográfica determinada. Cuando se quiere evaluar la condición de un nuevo sitio en dicha área geográfica, primeramente, se analiza a que categoría de las preestablecidas por la clasificación corresponde, de acuerdo a los parámetros químico-físicos y geográficos que lo caracterizan. La condición del sitio se establece entonces en función de la relación entre los parámetros de la comunidad de macroinvertebrados obtenidos con los esperados para esos parámetros químico-físicos y geográficos. Mientras más semejantes mejor será el sitio estudiado, ya que tendrá una mejor correspondencia con lo que debería existir si estuviera bien conservado.

Más recientemente han surgido enfoques novedosos que, aunque no alcanzan una amplia aplicación resultan interesantes. Entre ellos debemos mencionar el empleo de los “rasgos biológicos” (biological traits) como el tamaño, forma del cuerpo y aspectos de la historia natural que responden a condiciones ambientales específicas. Siguiendo este proceder no se analizan listados de taxones, sino más bien la estructura de estos rasgos biológicos con relación a sitios de referencia (Dolédec y Statzner 2008; Prat et al. 2009).

A pesar de la gran utilidad que ha demostrado el uso de los ensamblajes de macroinvertebrados en el biomonitoreo el empleo de este nivel organizacional tiene varios inconvenientes. Entre ellos destaca la susceptibilidad de las comunidades a variar su estructura en función de eventos naturales (estaciones del año, posición en la cuenca, estructura del hábitat, etc.) (Diggins y Stewart 1993; Springer 2010). Para que sea medible la influencia de una perturbación a nivel de comunidad, generalmente es preciso que el impacto sea lo suficientemente fuerte como para eliminar un taxón del sitio en cuestión. Esta situación limita hace poco práctico el uso de los ensamblajes de macroinvertebrados para detectar señales tempranas de deterioro ambiental. En este contexto las investigaciones a nivel de individuo son de interés principal (Petersen y Petersen 1983; Diggins y Stewart 1993; Admiraal et al. 2000; Arambourou et al. 2012).

## 1.2 Uso de las deformidades morfológicas en larvas de quironómidos para evaluar estrés ambiental (con énfasis en metales pesados)

La relación entre la incidencia de deformidades morfológicas y la degradación ambiental comienza a establecerse principalmente a partir del trabajo de Hamilton y Saether (1971). Numerosos estudios han establecido una relación entre la mayor incidencia de deformidades morfológicas y la presencia y/o concentración de contaminantes, metales pesados en muchos casos, tal y como muestran las revisiones de Rosenberg (1992); Vermeulen (1995); Servia (2002) y Gagliardi et al. (2016).

### 1.2.1 Metales como agentes causales de deformidades.

A lo largo de las últimas cinco décadas numerosos estudios han sugerido que las deformidades se originan como respuesta al estrés ocasionado por la presencia de sustancias tóxicas, en especial metales. Estos estudios han sido tanto de naturaleza observacional (Hare y Carter 1976; Koehn y Frank 1980; Warwick 1980; Wiederholm 1984; Warwick et al. 1987; Pettigrove 1989; Warwick 1990, 1991; Dermott 1991; Janssens De Bisthoven et al. 1992; Urk, Kerkum, y Smit 1992; Diggins y Stewart 1993; Lenat 1993) como experimental (Cushman 1984; Kosalwat y Knight 1987; Dickman y Rygiel 1996; Groenendijk et al. 1998). En la gran mayoría de ellos, se ha encontrado una probable relación de causalidad de las deformidades con la presencia y concentración en el sedimento de metales como cobre (Cu), plomo (Pb), zinc (Zn), hierro (Fe), arsénico (As), mercurio (Hg) y cadmio (Cd).

En los últimos cinco años se han publicado una serie de trabajos que, en su mayoría, brindan evidencias adicionales a esta probable relación de causalidad. Entre ellos se encuentran los trabajos de Riani, Sudarso, y Cordova (2014) quienes encuentran una relación directa entre la incidencia de deformidades en varias estructuras de la cápsula cefálica de larvas de *Dicrotendipes simpsoni* y la concentración de Cr, Pb y Cu en un embalse en Indonesia. Saha y Mazumdar (2014) encuentran, en un estudio experimental y observacional, una mayor incidencia de deformidades en el mentón de larvas de *Chironomus* sp. provenientes o criadas en los sedimentos provenientes de sitios con mayores aportes de pesticidas y vertimientos industriales. Di Veroli et al.

(2014) encontraron una mayor incidencia de deformidades en larvas de *Chironomus riparius* procedentes de sitios con mayores niveles de Cu y Zn en un estudio en el río Genna, Italia. Arimoro, Odume, y Meme (2015) encontraron una mayor incidencia de deformidades en el mentón de las larvas de *Chironomus* sp recolectadas en varios sitios de un río en Nigeria, que se relacionan con mayores niveles de Ni, Pb, Cu, Fe, Zn y Cr. Adham et al. (2016) refieren una mayor incidencia de deformidades en las larvas de quironómidos con mayor concentración corporal de Cd, Cu, Zn y Fe procedentes de dos localidades en el Río Nilo, Egipto. Mohamed Lotfi et al. (2016) realizaron un estudio en el Lago Manzala, Egipto y encontraron una mayor incidencia de deformidades en larvas de *Chironomus transvaalensis* en relación con mayores niveles de Fe, Cd y Pb. Akyildiz et al. (2018) refieren una mayor incidencia de deformidades en el mentón de larvas de *Chironomus* sp. en los sitios con mayores niveles de contaminación por residuos industriales en un estudio de cuenca en Turquía. Deliberalli et al. (2018) encuentran una relación entre el incremento de la incidencia de deformidades en el mentón de larvas de *Chironomus* sp. y la concentración de Cu y Zn en los sedimentos de un río brasileño. Nyakeya, Nyamora, y Kerich (2018) demuestran experimentalmente un incremento en la incidencia de deformidades en larvas de *Chironomus* sp. sometidas a residuales industriales. Weeraprapan et al. (2018) registran un incremento de las deformidades en el mentón de larvas de varias especies de quironómidos en relación con contaminación con Cd en un río al norte de Tailandia. Bozanic et al. (2019) encuentran un incremento en la incidencia de deformidades en el mentón de larvas de *Chironomus plumosus* a medida que aumenta la concentración de Cu en el sedimento. Montaña-Campaz et al. (2019) encuentran que varios tóxicos, entre ellos los relacionados a actividades mineras, producen un incremento en las deformidades en el mentón de larvas de *Chironomus columbiensis* y también modifican la forma de las alas de los adultos de esta especie.

Sin embargo, no todos los estudios refuerzan la idea de una relación causa-efecto entre los metales y las deformidades, por ejemplo Arambourou et al. (2014, 2019) no encuentran diferencia en la incidencia de deformidades en un estudio experimental donde comparan larvas de *Chironomus riparius* criadas en sedimentos con diferente concentración de contaminantes, entre ellos metales pesados. Otros estudios resultan aparentemente contradictorios como el de Žunić et al. (2015) donde obtienen como resultado experimental, una mayor incidencia de deformidades en las larvas de *Chironomus* sp. expuestas a sedimentos con Pb mientras que en los sedimentos con mayores concentraciones de Cu reportan una incidencia menor de deformidades. Los autores atribuyen este resultado con el Cu a la elevada mortalidad de las larvas en los tratamientos con mayores concentraciones del metal. Esta mortalidad habría provocado que aquellas más susceptibles, con mayor incidencia de deformidades, murieran prevaleciendo solo las que por algún mecanismo resultaron menos susceptibles.

### 1.2.2 *Mecanismos de generación de deformidades por los metales*

El mecanismo fisiológico causal de las deformidades en las larvas de quironómidos es complejo y no está bien establecido (Planelló et al. 2015; Deliberalli et al. 2018). Varios autores han propuesto y tratado de probar posibles mecanismos. Frank (1981) exploró una posible acción inhibitoria de los metales en la gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa (GAPDH), una enzima involucrada en la degradación del glicógeno. Sin embargo, al comparar larvas con deformidades con aquellas que no las tenían no encontró diferencias significativas en la actividad de la enzima. Janssens De Bisthoven et al. (1992) compararon las concentraciones de Cd, Cu, Pb y Zn en el cuerpo de larvas de *Chironomus thummi* con y sin deformidades en el mentón. Describieron varios resultados interesantes. En primer lugar, dentro de cada estadio, la frecuencia y tipo de deformidad no cambia con la edad, lo que indica que, al momento de concluir la muda, ya las deformidades en cuestión están presentes y que como tal permanecen durante toda la duración del estadio. Este resultado es claramente diferente de las anomalías causadas por desgaste mecánico, que sí se agudizan a lo largo del tiempo en cada estadio (Janssens de Bisthoven y Ollevier 1989) y lo que es más importante, sugiere que las deformidades en el mentón surgen como resultado de alguna alteración fisiológica durante el proceso de la muda de un estadio al siguiente. Esta alteración podría estar relacionada a interferencias en la regulación por la hormona ecdisona del proceso de muda (Vermeulen et al. 2000; Meregalli, Pluymers, y Ollevier 2001).

Una serie de estudios han demostrado un incremento en la incidencia de deformidades en larvas de quironómidos sometidas a sustancias que, por su similar composición y estructura, podrían interferir con la acción de la hormona ecdisona, por ejemplo 4-n-nonylfenol (Meregalli et al. 2001), 17a-ethinylestradiol y bisfenol A (Watts, Pascoe, y Carroll 2003), Tebufenozide (Kwak y Lee 2005); y productos farmacéuticos (Planelló et al. 2015). La interferencia de metales pesados en la liberación y metabolismo de hormonas ha sido demostrada en peces de agua dulce (Kime 1998) y en invertebrados como crustáceos y equinodermos (Oetken et al. 2004). Así que, si bien no están esclarecidos los mecanismos de inducción de deformidades morfológicas por metales, estos podrían estar interfiriendo en los procesos hormonales, especialmente durante la muda.

### 1.2.3 *¿Mutágenos o teratógenos?*

La cuestión de si las deformidades son heredables o no es fundamental desde la perspectiva del biomonitoreo; de eso depende saber si las deformidades en un ejemplar determinado provienen de su interacción con las condiciones inmediatas de su entorno o son el reflejo de interacciones en generaciones previas. La mayoría de los estudios coinciden en señalar un efecto esencialmente teratogénico. Dickman, Brindle, y Benson (1992) detectan una reducción en la incidencia de deformidades en la descendencia (criada en sedimentos limpios) de larvas de quironómidos provenientes de un sector fuertemente contaminado del río Niagara. Hudson y Ciborowski (1996b) encuentran que las variaciones en el diámetro relativo del nucleolo (evaluado como medida de efecto genotóxico) no estuvieron relacionadas con la incidencia de deformidades en

larvas de quironómidos sometidas a diferentes concentraciones de sedimentos contaminados. Groenendijk et al. (1998) reportan que la incidencia de deformidades se redujo drásticamente en la siguiente generación, criada en sedimentos limpios, sugiriendo una acción básicamente teratogénica y no mutagénica de los metales. Una reducción semejante en la incidencia de deformidades fue encontrada en un experimento utilizando Zn como contaminante, confirmando la naturaleza básicamente teratogénica de estas deformidades (Martinez et al. 2004). Sin embargo en el mismo estudio se encontró una estabilidad intergeneracional en la incidencia de deformidades debidas a la contaminación por Pb, lo que sugiere que en el caso de este metal si puede existir efecto genotóxico (Martinez et al. 2004).

#### 1.2.4 Taxones estudiados

Debido a su distribución cosmopolita, el tamaño relativamente grande de sus larvas y su elevada tolerancia, que permite encontrarlas en condiciones ambientales deterioradas, la mayoría de los estudios han empleado larvas de algún taxón del género *Chironomus*. Sin embargo, varios estudios han analizado la incidencia de deformidades incluyendo otros taxones simultáneamente (Wiederholm 1984; Warwick 1990; Dermott 1991; Diggins y Stewart 1993; Martinez et al. 2002; Swansburg et al. 2002; Ochieng et al. 2008; Odume et al. 2012; Sangpradub 2017; Weeraprapan et al. 2018). Aparte de varias especies de *Chironomus* los taxones más estudiados son: *Clinotanytus sp.*, *Coelotanytus sp.*, *Cryptochironomus sp.*, *Cryptotendipes sp.*, *Dicrotendipes sp.*, *Micropsectra sp.*, *Parachironomus sp.*, *Paralauterborniella sp.*, *Paratendipes sp.*, *Polypedilum sp.*, *Procladius sp.*, *Psectrocladius sp.*, *Tanytarsus sp.* y *Tribelos sp.* Una conclusión común en estos estudios es que existen diferencias intertaxonómicas importantes en la incidencia de deformidades, posiblemente asociadas a diferentes valores de tolerancia y mecanismos regulando la interacción con los contaminantes.

#### 1.2.5 Estructuras morfológicas evaluadas

En todos los estudios revisados, las estructuras evaluadas buscando deformidades se encuentran en la cápsula cefálica de las larvas y el mentón resulta indudablemente la más utilizada. La elección del mentón pudiera tener que ver, además de la sensibilidad a los contaminantes, con el hecho de ser una estructura bien esclerotizada, conspicua, de estructura sencilla, que generalmente queda bien visible en los montajes para microscopía y resulta relativamente difícil de romper (en comparación con las antenas, por ejemplo) durante la manipulación de los ejemplares. Entre los estudios que han abordado varias estructuras simultáneamente o se han enfocado en otras diferentes al mentón destacan los trabajos de Warwick (1985, 1990, 1991). En ellos el autor evalúa las deformidades paralelamente en estructuras como la lígula, mandíbulas, antenas, premandíbulas y el peine de la epifaringe y concluye que, al menos en el caso de las antenas, parecen ser más susceptibles a presentar deformidades a bajos niveles de contaminación. Si dichos niveles se incrementan las antenas dejan de responder y el resto de las estructuras muestran una mejor correlación con los niveles de contaminantes. Otros trabajos también analizan la incidencia de deformidades en varias estructuras

simultáneamente (Jeyasingham y Ling 2000; Servia et al. 2000; Martinez et al. 2002; Martinez et al. 2004; Ochieng et al. 2008; Al-Shami et al. 2010; Arimoro 2011; Arimoro, Odume, y Meme 2015; Mohamed Lotfi et al. 2016; Nyakeya, Nyamora, y Kerich 2018). Otros más han logrado inducir experimentalmente la aparición de deformidades en el peine de la epifaringe de larvas de *Chironomus decorus* exponiéndolas a sedimento enriquecido con Cu (Kosalwat y Knight 1987); han encontrado una mayor incidencia de deformidades en la lígula de *Procladius* sp. en relación con la presencia de pesticidas, metales pesados y compuestos aromáticos derivados de la industria petroquímica (Pettigrove 1989; Dermott 1991), o refieren una mayor incidencia de deformidades en las mandíbulas de las larvas de *Chironomus thummi* con mayores concentraciones en el cuerpo de Cd, Zn, Pb y Cu (Janssens De Bisthoven et al. 1992).

#### 1.2.6 Empleo de métricas

Derivado del estudio de estructuras específicas y de la frecuencia y severidad de las deformidades que presentan en relación con los contaminantes, se han desarrollado algunas métricas que pretenden estandarizar las evaluaciones y hacer comparables los estudios. Warwick (1985) analizó en detalle las antenas de larvas de *Chironomus* sp. y en un doble estudio observacional (en relación con residuales industriales y agrícolas en lagos canadienses) y experimental (efecto de clorofeniletileno) creó el Índice de Respuesta Morfológica (Index of Morphological Response, IMR, en inglés). Warwick (1991) creó otro índice taxón-específico, esta vez analizando y asignando valores numéricos a las deformidades observadas, no solo en las antenas sino también en la lígula de larvas de *Procladius* sp. procedentes de una serie de ríos y lagos de Canadá. También enfocándose en *Procladius* sp., Dermott (1991) propuso el ISAD (Index of Severity of all Deformities, en inglés) incluyendo varias estructuras además de las consideradas por Warwick (1991). También Bhattacharyay et al. (2005) propusieron un índice basado en la incidencia de deformidades en las antenas (Sensitivity Index of Antenna of Sensitive Species, SISS, en inglés) pero, debido a que incluyeron a varios taxones en el estudio (*Chironomus* sp., *Kiefferulus* sp., *Stictochironomus* y *Procladius* sp.), su propuesta podría ser aplicable a un mayor número de investigaciones. Otro índice basado en el mentón de larvas de *Chironomus* sp., fue propuesto por Lenat (1993), el Toxic Score Index (TSI, en inglés), que pondera la severidad de las deformidades en el mentón en tres categorías y permite arribar a un valor numérico que finalmente asigna una condición de calidad al sitio estudiado. Este índice ha sido uno de los más utilizados (Servia et al. 2000; Al-Shami et al. 2010; Žunić et al. 2015) y también ha sido objeto de algunas modificaciones por Al-Shami et al. (2011). El más reciente índice fue creado por Grebenjuk y Tomilina (2014). Los autores propusieron un índice de severidad de deformidades del mentón (Index of Severity of Mental Deformation, ISMtD, en inglés) para evaluar el mentón de larvas de *Chironomus* sp.

Sin embargo, hasta el momento y con la excepción del TSI, la mayoría de estos índices han sido poco utilizados y debido a ello son pocos los trabajos con los que contrastar resultados.

### *1.2.7 Consideraciones adicionales relacionadas con el uso práctico de las deformidades*

Independientemente de las mencionadas en los puntos revisados anteriormente, existen algunas dificultades relacionadas más bien con la práctica del estudio de las deformidades y la interpretación adecuada de sus resultados. La determinación de ¿qué es una deformidad? es uno de ellos y ha sido abordado en algunos trabajos (Madden, Austin, y Suter 1995; Salmelin et al. 2015). Para comprender las implicaciones del tema basta mencionar que Salmelin et al. (2015) encontraron que, con base en evaluaciones de las mismas imágenes de alta resolución, un conjunto de expertos asignaron porcentajes de deformidades tan disímiles como 10.9 y 66.4. Otro tema potencialmente relevante es el de la relación de los contaminantes con aspectos del ambiente natural que podrían modificar la disponibilidad y el tipo o intensidad de la interacción con las larvas de quironómidos. La salinidad ha sido sugerida como un factor relacionado con la biodisponibilidad de metales ligados al sedimento (Barjaktarovic y Bendell-Young 2001; Weinstein 2003; Bidwell y Gorrie 2006; Adham et al. 2016). También la densidad de partículas minerales ha sido sugerida como un factor que puede influir en el estado de las piezas bucales (Nazarova et al. 2004; Williams et al. 2019), lo que podría interferir en la apreciación de las deformidades. La variación temporal es considerada en pocas ocasiones en los estudios, a pesar que la incidencia de deformidades puede variar consistentemente en el tiempo (Servia et al. 2000).

Partiendo de estas consideraciones y pretendiendo contribuir a esclarecer varios de los aspectos antes mencionados he desarrollado el estudio cuyos principales resultados presento en este documento.

## **2 Hipótesis y objetivos**

### *Hipótesis*

La frecuencia y severidad de las deformidades en el mentón de larvas de quironómidos se relacionará directamente, a través del espacio y el tiempo, con la concentración de metales pesados en el sedimento en la cuenca del río Sonora.

### *Objetivo general*

Analizar la incidencia de deformidades morfológicas en el mentón de larvas de quironómidos (Diptera, Chironomidae) en la cuenca del río Sonora.

### *Objetivos específicos*

1. Analizar la variación espacial y temporal en la incidencia de deformidades a escala de cuenca en el río Sonora.
2. Evaluar la relación entre la frecuencia y severidad de deformidades en el mentón de larvas de quironómidos con la concentración de metales (Al, As, Cu, Fe, Mn, Pb y Zn) en el sedimento y parámetros ambientales evaluados a lo largo de la cuenca del río Sonora.
3. Analizar las diferencias intertaxonómicas en la incidencia de deformidades en diferentes localidades del río Sonora.

### 3 Materiales y Métodos

#### 3.1 Área de estudio

El área de estudio se localiza en la parte centro-norte del estado de Sonora, México, (Fig. 1) entre las coordenadas geográficas 111°03'09.30" de Longitud Oeste, 31°16'53.22" de Latitud Norte y 109°43'51.44" de Longitud Oeste, 28°50'48.00" de Latitud Norte. El río Sonora se extiende por aproximadamente 421 km y drena una cuenca de 27740 km<sup>2</sup> en la Región Hidrológico Administrativa II Noroeste, Región Hidrológica Sonora Sur (CONAGUA 2019). Las subcuencas que pertenecen a la zona de estudio son: río Sonora-Arispe, también denominada subcuenca del río Bacoachi, la subcuenca del río Bacanuchi, la subcuenca del río San Miguel de Horcasitas y la subcuenca del río Sonora.

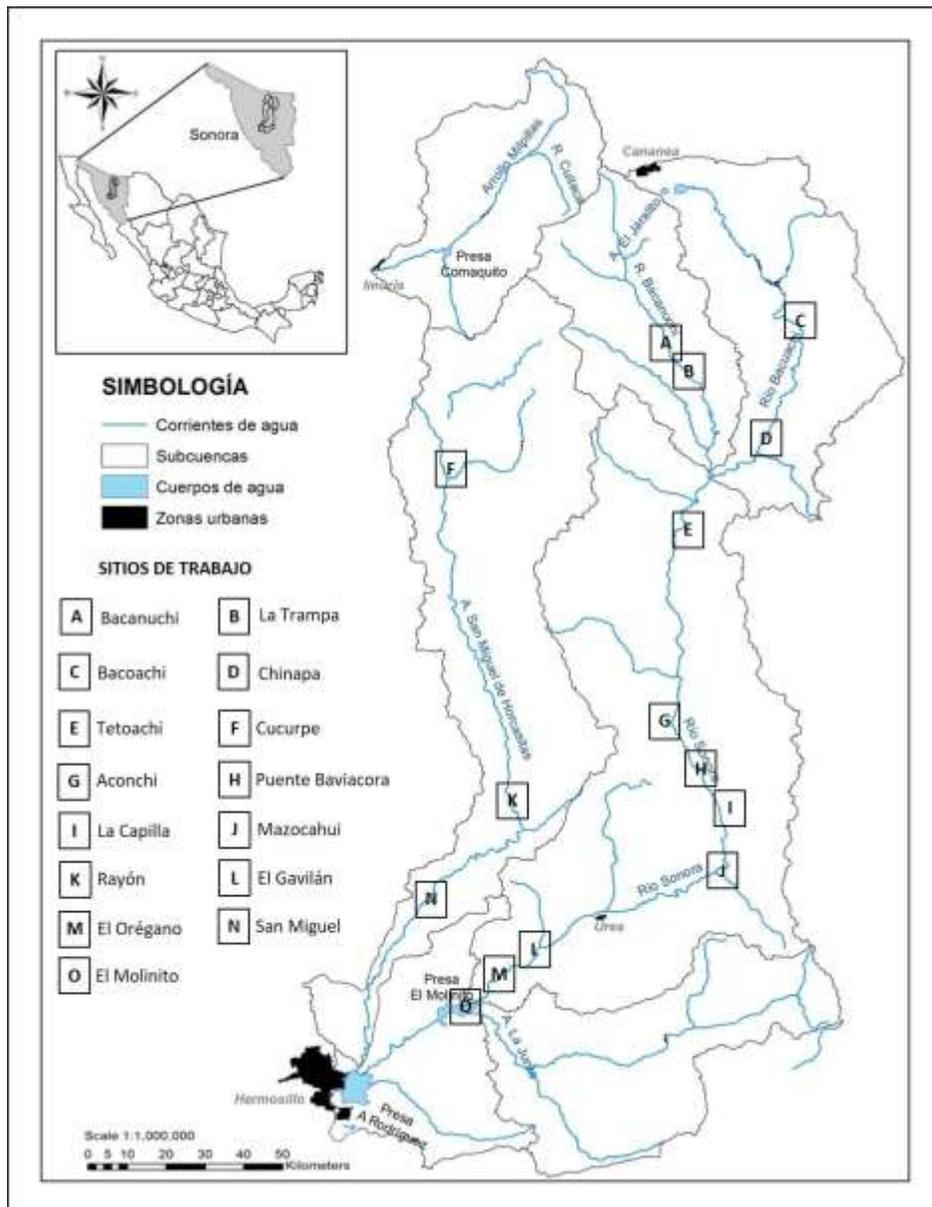


Figura 1. Cuenca del río Sonora con la ubicación de los sitios de trabajo

### 3.2 Selección de sitios y frecuencia de muestreo

Los sitios de muestreo fueron seleccionados con base en: a) distribución en la sección alta, media y baja de cada cuenca, b) presencia de mayor número de microambientes acuáticos, c) accesibilidad.

Cada sitio de muestreo estuvo constituido por un tramo de cauce de aproximadamente 100 m que cubriera la mayor diversidad de microambientes como: 1) márgenes del río, 2) zonas de corriente lenta y 3) zonas de corriente rápida (Jenkins, Wade, y Pugh 1984). Se cuidó que cada sitio estuviera como mínimo a 100 m aguas arriba de cualquier carretera, cruce o puente, con la finalidad de minimizar perturbaciones. También se evitó la proximidad de tributarios. El microambiente formado cerca de las orillas o en las zonas de corriente lenta donde se produce acumulación de sedimento rico en materia orgánica es de especial interés por la abundancia de larvas de quironómidos, por lo tanto, cuidamos que este tipo de microambiente estuviera bien representado.

Debido principalmente a consideraciones logísticas y a las variaciones del caudal propias de un río de zonas áridas, no fue posible obtener muestras de todos los sitios en todos los periodos de muestreo. Los muestreos se extendieron desde el 2015 al 2018, periodo en el que se realizaron, generalmente, dos campañas de muestreo al año considerando el periodo de seca (usualmente toma de muestras en junio) y lluvia (usualmente toma de muestras en noviembre). Los datos utilizados para los resultados presentados en las secciones 5.1, 5.2, y 5.3 y para la correspondiente discusión en las secciones 6.1 y 6.2 proceden, en total, de 14 sitios (sitios A a N en la Figura 1) y cuatro periodos de muestreo: noviembre de 2016 (lluvia), octubre de 2017 (seca), junio de 2017 (lluvia) y mayo de 2018 (seca). Se seleccionaron estos sitios y periodos de muestreo porque proveían los datos completos de metales en sedimento, parámetros químico-físicos y además el número de larvas de quironómidos requerido (ver sección 4.5). Lamentablemente no fue posible obtener muestras de todos los sitios en cada periodo de muestreo debido a que, especialmente durante los periodos de seca, varios sitios no tenían agua. Los sitios muestreados para cada periodo de muestreo específico pueden consultarse en los Cuadros 4 al 9.

Los datos utilizados para los resultados presentados en la sección 5.4 y para la correspondiente discusión en la sección 6.3, proceden de 11 sitios (sitios A, B, C, D, F, I, J, L, M, N y O en la Figura 1) y de seis periodos de muestreo: febrero de 2015 (seca), abril de 2015 (seca), noviembre de 2016 (lluvia), octubre de 2017 (seca), junio de 2017 (lluvia) y mayo de 2018 (seca). Se seleccionaron estos sitios y periodos de muestreo porque fueron aquellos en los que coincidieron los taxones seleccionados (ver sección 4.5) para evaluar las diferencias intertaxonómicas.

### 3.3 Toma de datos químico-físicos, muestras biológicas y de sedimento en el campo

En cada sitio trabajado se midieron los parámetros: temperatura del agua, conductividad, salinidad, pH, oxígeno disuelto y sólidos totales en suspensión (TDS) utilizando un multiparamétrico HANNA 9828 previamente calibrado en el laboratorio y verificado en el campo.

Para la captura de las larvas de quironómidos se emplearon redes de boca rectangular de aproximadamente 0.45 m de lado por 0.3 m de alto; la luz de malla de las redes empleadas fue de 0.5 mm. En cada sitio se tomaron tres muestras, cada una correspondiente a un arrastre cubriendo una superficie del fondo de aproximadamente 1 m<sup>2</sup>. Para llevar a cabo el arrastre, se posicionó la red de forma que su boca quedara abierta al flujo de agua y de tal manera que el colector quedara de espaldas a la dirección del flujo o a contracorriente. Mediante el uso de los pies, se removió la capa superior del sustrato y capas subyacentes, de manera que los ejemplares desprendidos fueran introducidos (debido a la corriente) a la red. Se intentó distribuir las muestras dentro del sitio de manera que se abarcara los principales microambientes. Los fragmentos de sustrato de mayor tamaño encontrados, tales como, fragmentos de troncos o piedras de tamaño manejable fueron lavados dentro de la red para desprender los ejemplares adheridos. Las muestras biológicas obtenidas se colocaron en frascos plásticos con alcohol al 80 % para su traslado al laboratorio. A cada frasco fue añadida una etiqueta interna con los datos de fecha y localidad (Barbour et al. 1999).

En cada sitio también se tomaron de tres a cinco muestras de sedimento para la determinación de metales, contenido de materia orgánica y análisis granulométrico, empleando una draga accionada manualmente. Las muestras se mantuvieron en bolsas plásticas individuales etiquetadas externamente y con agua del sitio dentro de hieleras a aproximadamente 4 °C, hasta su procesamiento en el laboratorio.

### 3.4 Metales, materia orgánica y estructura granulométrica del sedimento

Cada muestra de sedimento tomada en el campo se procesó independientemente para determinar la concentración de metales en los laboratorios de la división México de INTERTEK® (Intertek Group plc) mediante un procedimiento acreditado. Porciones de cada muestra fueron sometidas a un proceso de digestión ácida acompañada de un tratamiento de microondas. La determinación de los metales Al, As, Cu, Fe, Mn, Pb y Zn se realizó por espectrometría de emisión atómica de plasma acoplada inductivamente (ICP-AES) tal y como reseñan las normas EPA 6010C-2007 (Environmental Protection Agency. USA. 1998) y EPA 7471B 2007 (Environmental Protection Agency. USA. 2000).

El contenido de materia orgánica y el diámetro de las partículas que forman el sedimento son de los factores más influyente en la biodisponibilidad de los metales (de Groot 1995; Zhong, Kraemer, y Evans 2013). El porcentaje de materia orgánica (% MO) en el sedimento se determinó a partir de una muestra de 3 g de sedimento previamente secado a 60 °C hasta peso constante. Dicha muestra fue sometida a 550 ±25 °C

durante tres horas en una mufla registrándose la variación en la masa y estimándose a partir de ésta el contenido de materia orgánica.

El análisis granulométrico fue realizado por el laboratorio del Instituto de Geología de la UNAM. El sedimento fue clasificado de acuerdo con Juárez y Rico-Rodríguez (2005) (Cuadro 1) y la determinación de limos y arcillas se desarrolló por el método de pipetas (Pansu y Gautheyrou 2006). A partir de los datos obtenidos se calculó el porcentaje de limos y arcillas (% de limos + arcillas) para cada sitio/fecha.

Cuadro 1. Clasificación de sedimento proveniente de localidades ubicadas en el río Sonora, Sonora, México, con base en el tamaño de grano de acuerdo con Juárez y Rico-Rodríguez (2005).

Clasificación de sedimento	Malla	
	Número	Abertura (mm)
Grava gruesa	2	50.8
Grava media	4	4.75
Grava fina	10	2
Arena gruesa	30	0.6
Arena media	70	0.212
Arena fina	230	0.063

### 3.5 Procesamiento de muestras biológicas

Las muestras con material biológico fueron tamizadas bajo un chorro suave de agua a través de un tamiz del número 10 (2 mm luz de malla) colocando bajo éste otro tamiz del número 30 (0.6 mm luz de malla). De esta forma el material de gran tamaño como hojarasca o pequeños troncos queda retenido en el tamiz superior siendo eliminado, luego de inspección visual cuidadosa. El material retenido en el tamiz inferior junto con los ejemplares que se encontraron visualmente en el superior se colocó nuevamente en frascos con alcohol al 80 %, para evitar su descomposición mientras duró el proceso de separación.

Las larvas de quironómidos fueron extraídas de las muestras bajo observación con un microscopio estereoscópico Nikon modelo SMZ1270i empleando aumentos de hasta 80X y agrupadas por morfoespecie considerando sus similitudes morfológicas en cuanto a: tamaño, coloración, forma de la cabeza, disposición del cuerpo, disposición de las antenas, número de manchas oculares y presencia/ausencia de túbulos anales y ventrales. Como regla, con el fin de garantizar un tamaño mínimo de la muestra que permitiera desde el punto de vista estadístico una evaluación adecuada, se consideraron solo aquellas morfoespecies que contaban un número mínimo de 50 larvas de cuarto estadio. Las larvas de cuarto estadio fueron reconocidas por una o varias de las siguientes características: presencia de los segmentos torácicos engrosados; presencia de piezas bucales, garras de los parápodos o cápsula cefálica bien esclerotizada; órgano respiratorio de la pupa visible a través del tegumento y tamaño semejante a otras larvas de la misma morfoespecie que presentarían los caracteres antes mencionados. Del total de los ejemplares de cada morfoespecie se tomaron

cinco larvas que fueron montadas completas en portaobjetos, el resto de las larvas de la morfoespecie en cuestión fueron decapitadas y sus cápsulas cefálicas igualmente montadas en preparaciones fijas mediante el procedimiento seguidamente descrito y adaptado de Epler (2001).



Figura 2. Disposición de las cápsulas cefálicas de las larvas de quironómidos en el portaobjetos para el estudio de las deformidades bajo el microscopio.

Los ejemplares (larvas enteras o cápsulas cefálicas) se sumergieron en una solución al 10 % de hidróxido de potasio, el frasco con la solución y los ejemplares dentro fue sumergido en un beaker con agua a 60° C hasta que los cuerpos y las cápsulas cefálicas quedaran traslúcidos (típicamente por 10-15 minutos). Seguidamente los ejemplares se extrajeron y se sumergieron por 10-15 minutos en agua destilada, luego por el mismo tiempo en alcohol etílico al 90 % y finalmente en alcohol etílico o propílico absoluto ( $\geq 98$  %) por el mismo período. Para su montaje, bajo observación con el microscopio estereoscópico, se depositó una gota de Euparal en un portaobjetos limpio y en esta gota se depositaron los ejemplares con ayuda de pinzas finas. Las larvas completas se acomodaron de forma tal que quedaran con la parte ventral hacia arriba y el cuerpo extendido (Epler 2001). Las cápsulas cefálicas se colocaron también con la parte ventral hacia arriba y se acomodaron de manera que quedaran alineadas en filas y columnas de manera que fueran más fácilmente cuantificables y así facilitar la posterior ubicación de un individuo específico (Fig. 2). A partir de las cinco larvas completas montadas por cada morfoespecie se procedió a la identificación a nivel de género empleando principalmente las claves y descripciones de Epler (2001); Ruiz-Moreno, Ospina-Torres, y Riss (2000); Andersen, Cranston, y Epler (2013). Las preparaciones fijas fueron etiquetadas incluyendo los datos de: taxón, localidad y fecha de muestreo.

Los taxones en los que se estudió la frecuencia y severidad de deformidades fueron:

- *Tanytarsus* sp. Diagnósis de las larvas: son reconocibles por presentar el peine de la epifaringe formado por tres paletas dentadas, las premandíbulas con tres dientes apicales, antenas con órganos de Lauterborn de medianos a pequeños y generalmente al extremo de largos pedicelos y parápodos posteriores con uñas simples. Las larvas suelen vivir asociadas al sedimento el cual utilizan como fuente de alimento y como material para construir casas en forma de pequeños tubos (Epler 2001).
- *Polypedilum* sp. Diagnósis de las larvas: reconocibles por presentar los dientes medios y el segundo lateral más grandes que el primer diente lateral, apotoma frontoclipeal con borde anterior recto y expandido lateralmente en dos lóbulos de los que emerge la seta S3, antena usualmente con cinco segmentos (Epler 2001). Las larvas se alimentan principalmente de sedimento, aunque en el presente estudio encontramos una ingesta importante de diatomeas.
- *Dicrotendipes* sp. Diagnósis de las larvas: reconocibles por presentar dos escleritos medios delante del apotoma, el peine de la epifaringe con usualmente tres-seis dientes (menos de 12 siempre), mentón con un número impar de dientes y placas ventromentales menos anchas que el mentón. Las larvas se alimentan principalmente de sedimento (Epler 2001).

### 3.6 Análisis de deformidades

El análisis de las variaciones espacio-temporales en la incidencia de deformidades y su relación con los metales y variables químico-físicas se basa solo en el estudio de las larvas de *Tanytarsus* sp. Se seleccionó este taxón por ser el más frecuente y abundante, estar presente en la mayoría de los sitios en las diferentes fechas y permitir la realización de comparaciones más fácilmente, eliminando el potencial sesgo de comparar sitios y fechas con base en la respuesta biológica de diferentes taxones. Para el análisis de la variación intertaxonómica, además se incluyó a: *Polypedilum* sp. y *Dicrotendipes* sp. con base al relativamente alto número de sitios y fechas donde se presentaron (ver sección 5.4 en Resultados). Todos los taxones pertenecen a la subfamilia Chironominae.

El mentón de *Tanytarsus* sp. (Fig. 3) tiene un número impar de dientes, organizados en un diente central ( $D_c$ ) típicamente más grande y cinco laterales ( $D_l$ ) que van disminuyendo de tamaño a medida que se distancian del centro del mentón. El mentón de *Polypedilum* sp. (Fig. 4) tiene un número par de dientes, organizados en dos  $D_c$  generalmente de mayor tamaño y siete  $D_l$ , el primero de los cuales resulta notablemente pequeño en comparación con el resto de los  $D_l$ . Por su parte, el mentón de *Dicrotendipes* sp. (Fig. 5) tiene un número impar de dientes, organizados en un  $D_c$  y cinco  $D_l$ , el primero de ellos con dos cúspides de diferente altura. A partir de este primer  $D_l$  el resto va disminuyendo de tamaño a medida que se distancian del centro del mentón.

Para evaluar la frecuencia y severidad de las deformidades se emplearon, tanto los ejemplares completos, como las cabezas de cada morfoespecie. Bajo observación, con un microscopio óptico con contraste de fases con aumentos de 400X, el mentón de cada individuo fue analizado buscando deformidades.

En caso de existir, éstas fueron clasificadas de acuerdo con su severidad en:

Tipo 1 (T1): Deformidades ligeras. Típicamente un diente de diferente talla o desviado en comparación a su contraparte (Fig. 6)

Tipo 2 (T2): Deformidades medias. Un diente faltante o de más (Fig. 7)

Tipo 3 (T3): Deformidades severas. Dos o más de Tipo 2 (Fig. 8)

Se descartaron como deformidades aquellos casos de rotura mecánica de dientes o secciones del mentón evidenciadas por bordes irregulares y abruptos. Los ejemplares cuyos mentones mostraron signos evidentes de desgaste no fueron considerados debido a que dicho desgaste puede encubrir la presencia de deformidades (Nazarova et al. 2004).

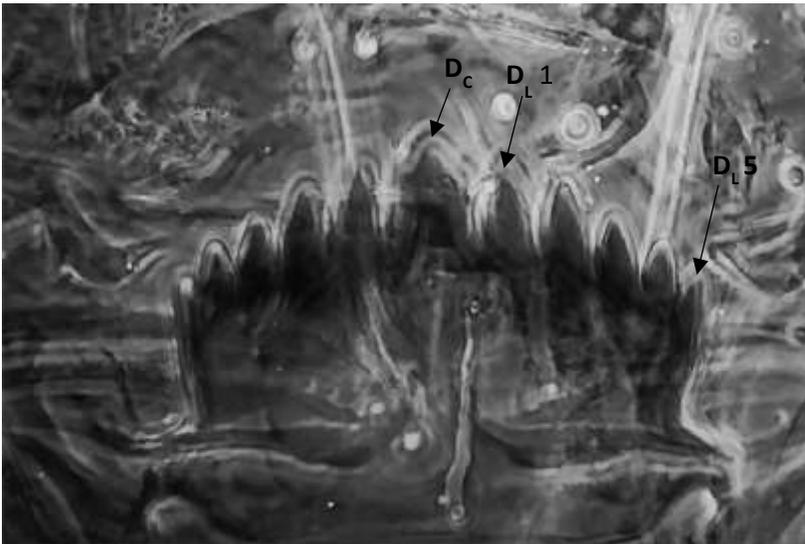


Figura 3. Mentón típico de *Tanytarsus* sp. Chironomidae, Diptera. D<sub>c</sub>: diente central; D<sub>L</sub>: diente lateral

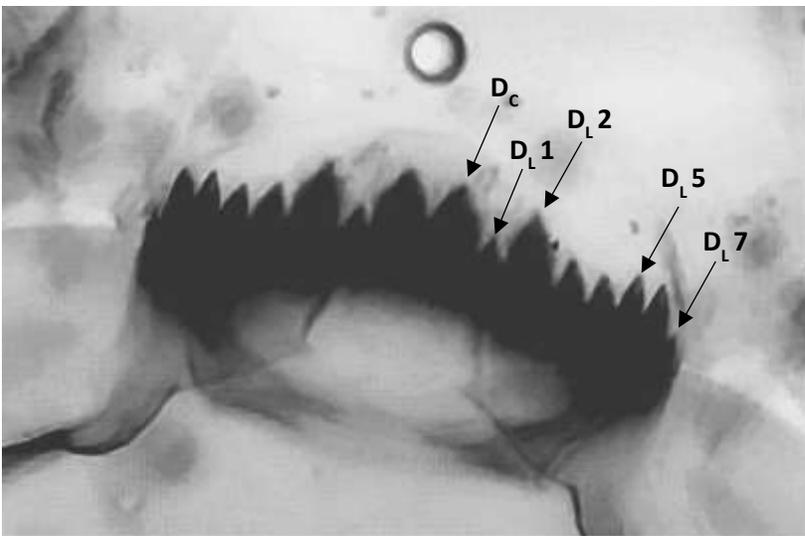


Figura 4. Mentón típico de *Polypedilum* sp. Chironomidae, Diptera. D<sub>c</sub>: diente central; D<sub>L</sub>: diente lateral

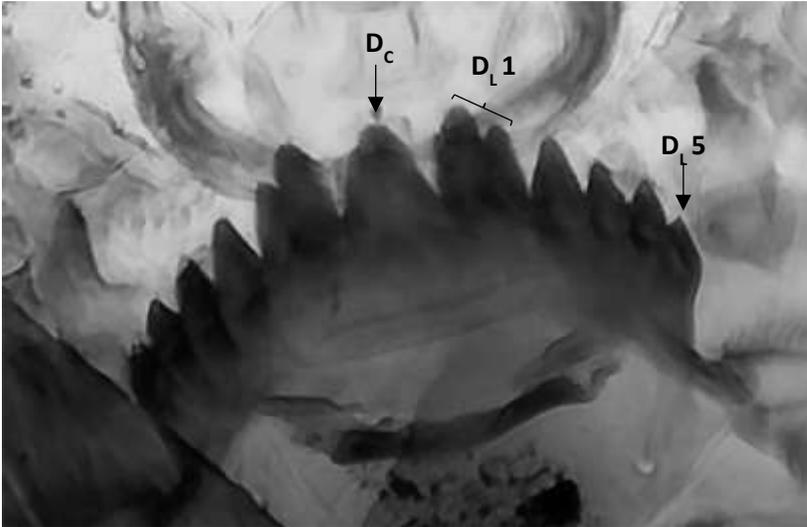


Figura 5. Mentón típico de *Dicrotendipes* sp. Chironomidae, Diptera. **D<sub>c</sub>**: diente central; **D<sub>l</sub>**: diente lateral

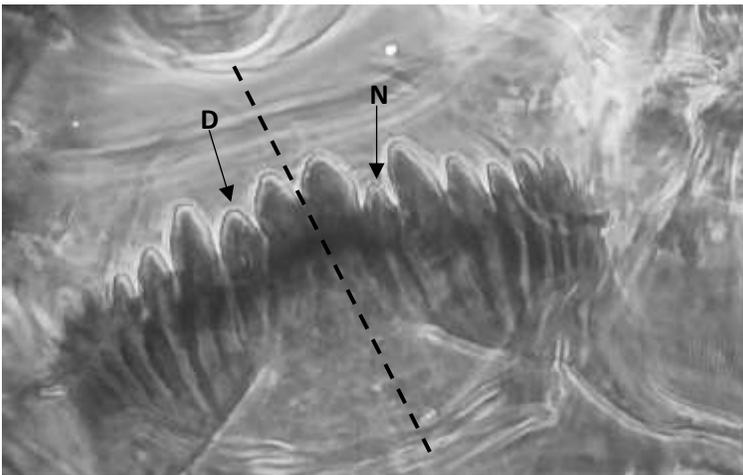


Figura 6. Mentón de *Polypedilum* sp. mostrando una deformidad ligera (Tipo 1). **N**: diente normal; **D**: contraparte deforme, en este caso de tamaño notablemente mayor; línea discontinua: eje de simetría del mentón

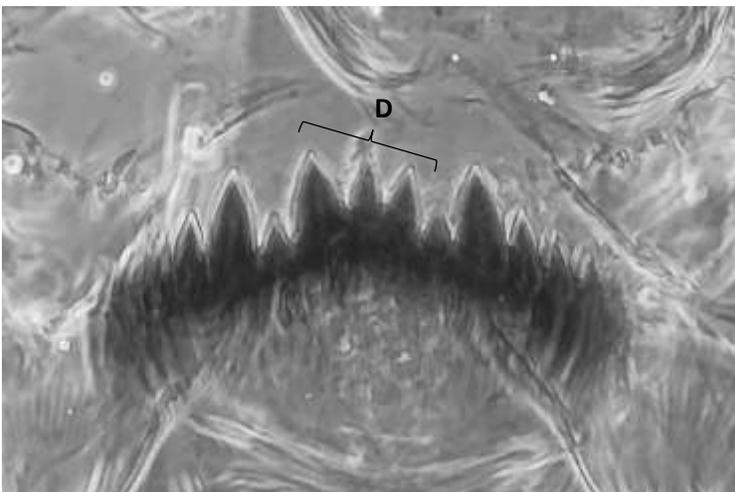


Figura 7. Mentón de *Polypedilum* sp. mostrando una deformidad severa (Tipo 2). En este caso un diente de más entre los dos dientes centrales de mentón normal. **D**: deformidad

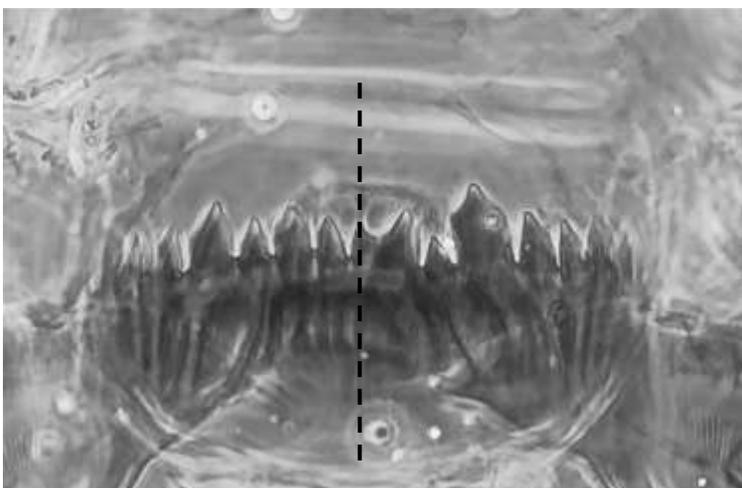


Figura 8. Mentón de *Polypedilum* sp. mostrando deformidades severas (Tipo 3). En este caso, dientes faltantes a ambos lados del mentón y dientes de tamaño notablemente diferente a su contraparte. Línea discontinua: eje de simetría del mentón

A partir de los datos de frecuencia y severidad de las deformidades se calculó el Toxic Score Index (TSI) (Lenat 1993), de acuerdo con la ecuación:

$$TSI = \frac{(T1 + 2T2 + 3T3) \times 100}{N}$$

Donde N= número total de larvas estudiadas para un sitio y fecha; T1= número de larvas con deformidades Tipo 1, T2= número de larvas con deformidades Tipo 2 y T3= número de larvas con deformidades Tipo 3.

Se le otorgó una categoría de calidad de agua a cada sitio en cada periodo de muestreo partiendo de los valores del TSI según aparece en el Cuadro 2 adaptado a partir de Lenat (1993).

Cuadro 2. Clasificación de la calidad del agua con base en el Toxic Score Index (Lenat 1993).

Grupos de calidad del agua	Categorías	Valor del TSI	Rango del TSI
Aguas limpias	Excelentes	5	≤ 10
	Buena	8	
	Aceptable	10	
Estrés no tóxico	Evidencia de estrés	18	> 10 < 20
	Fuerte estrés	19	
Tóxicas	Evidente toxicidad	49	> 20
	Fuertemente tóxica	98	

Además del TSI se calcularon los porcentajes de:

- Deformidades totales (% DT):  $(T1 + T2 + T3) \times 100/N$

- Deformidades ligeras (% DL):  $T1 \times 100/N$

- Deformidades severas (% DS):  $(T2 + T3) \times 100/N$

Donde N= número total de larvas estudiadas para un sitio y fecha; T1= número de larvas con deformidades Tipo 1, T2= número de larvas con deformidades Tipo 2 y T3= número de larvas con deformidades Tipo 3.

### 3.7 Variación espacio-temporal en la concentración de metales y parámetros químico-físicos.

Previa a la realización de los análisis se evaluó la colinealidad entre las variables explicativas estudiadas (concentraciones de cada metal y parámetros químico-físicos) mediante correlaciones de Spearman en el programa PAST (PAleontological STatistics) versión 2.17 (Hammer, Harper, y Ryan 2001). En el caso de los pares de variables que mostraron un coeficiente de correlación positivo o negativo  $> 0.75$  (correlación muy fuerte según (Hernandez Sampieri, Fernandez Collado, y Baptista Lucio 2010) , una de ellas fue excluida de los análisis posteriores.

Se caracterizó la variación espacial y temporal en los parámetros químico-físicos evaluados, la concentración de metales, el % MO y el % de limos + arcillas en el sedimento mediante un análisis de componentes principales (ACP) en el programa PAST y también mediante gráficos elaborados con ese propósito. Los gráficos que muestran los valores de metales en el sedimento a lo largo del gradiente altitudinal de la cuenca (Figs. 12-18) se construyeron incluyendo todos los valores de metales disponibles para cada sitio y fecha. Debido a la alta dispersión que se presentó en varios sitios y fechas, se emplearon las medianas de los tres o cinco valores de metales para cada sitio y fecha (ver sección 5.3) en lugar de las medias para desarrollar el ACP. Se utilizaron como grupos las combinaciones de sección de la cuenca (cuenca alta, media y baja), época (secas y lluvias) y año de muestreo (año 1 y año 2). Debido a que las variables incluidas en el análisis están medidas en diferentes unidades se utilizó una matriz de correlación para desarrollar el ACP a partir de los datos previamente estandarizados:  $(x-\text{media})/\text{desviación estándar}$ .

### 3.8 Variación espacio-temporal en la incidencia de deformidades en el mentón de larvas de quironómidos

La variación espacial y temporal en los valores del TSI, % DT, % DL y % DS se analizó a partir de los resultados de un análisis de varianza multivariado permutacional (PERMANOVA) utilizando como predictores la sección de cuenca (cuenca alta, media y baja), época (secas y lluvias), año de muestreo (año 1 y año 2) y la interacción entre ellos. En todos los casos se aplicaron 10 000 permutaciones. Se realizó el análisis a partir de una matriz de similitud de Bray-Curtis elaborada con los datos previamente transformados (raíz cuarta). Con aquellas variables de respuesta en las que se encontró una diferencia estadísticamente significativa ( $p \leq 0.05$ ) entre los niveles de cualquiera de los predictores se procedió a desarrollar un análisis por pares (pairwise) para caracterizar dicha variación a través de los niveles de los predictores. Todo el análisis se desarrolló en el programa PRIMER® (Plymouth Routines in Multivariate Ecological Research) versión 7, de la compañía PRIMER-e.

3.9 Relación entre la incidencia de deformidades en el mentón de larvas de quironómidos, la concentración de metales en el sedimento y parámetros químico-físicos.

Debido a que el % DS fue la única variable de la incidencia de deformidades que mostró un patrón espacio-temporal fue seleccionada como variable objetivo para analizar su relación con la concentración de metales en el sedimento y variables químico-físicas evaluadas a través del espacio y tiempo mediante un árbol de decisiones construido con CART® (Classification and Regression Trees) de la compañía Salford Systems, Minitab. Debido a la naturaleza continua de la variable de respuesta se utilizó un árbol de regresiones (De'ath y Fabricius 2000). Considerando al relativamente bajo número de casos y alto número de variables independientes en nuestro estudio, seleccionamos la validación cruzada como método de prueba del árbol. Una vez obtenido el árbol óptimo, procedimos a “podarlo” manualmente para alcanzar un modelo que combinara de manera más balanceada un “costo relativo” (relative cost) lo más próximo posible al del árbol óptimo generado por el modelo, con una profundidad razonable para el número de casos de nuestro estudio y una interpretabilidad más coherente desde el punto de vista biológico (De'ath y Fabricius 2000). Para ello partimos de la consideración de que un costo relativo = 1.0 es indicativo de que, en los nodos terminales obtenidos siguiendo la estructura marcada por las variables independientes, existe una combinación aleatoria de los valores de la variable objetivo y un costo relativo = 0.0 es indicativo de que, en los nodos terminales no existe ninguna mezcla de los valores de la variable objetivo y que por tanto toda la variabilidad ha sido explicada (Hayes et al. 2015). El modelo fue configurado según aparece en el Cuadro 3, el resto de los aspectos de la configuración permanecieron con los valores y opciones marcados por defecto en CART.

Cuadro 3. Parámetros y opciones seleccionadas en la configuración del árbol de regresiones en CART para el análisis de la relación entre la incidencia de deformidades, concentración de metales en el sedimento y las variables ambientales evaluadas.

Parámetro	Opción seleccionada
Variables predictoras	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Concentraciones de metales (Al, As, Cu, Fe, Mn, Pb y Zn) (mg/kg)</li> <li>• % de materia orgánica en sedimento</li> <li>• % de limos + arcillas</li> <li>• Salinidad (mg/l)</li> <li>• TDS (mg/l)</li> <li>• Conductividad (µS/cm)</li> <li>• Temperatura del agua (°C)</li> <li>• m.s.n.m</li> <li>• Fecha de muestreo (1, 2, 3 y 4)</li> </ul>
Variable objetivo	% DS
Selección automática de los mejores predictores	Encontrar y correr análisis
Método de prueba del árbol	Validación cruzada
Profundidad	Libre (ajustada manualmente después)
Número de casos mínimo en nodos parentales	20
Número de casos mínimo en nodos terminales	5

### 3.10 Variaciones intertaxonómicas en la incidencia de deformidades.

Para evaluar las posibles diferencias en la incidencia de deformidades entre los taxones (diferencias intertaxonómicas) se emplearon los datos de aquellos sitios y fechas donde coincidieran *Tanytarsus* sp., *Polypedilum* sp. y *Dicrotendipes* sp. o al menos dos de ellos. Para evaluar estas posibles diferencias empleamos una prueba U de Mann-Whitney. Los resultados fueron considerados estadísticamente significativos si  $p \leq 0.05$ .

## 4 Resultados

### 4.1 Metales y parámetros químico-físicos. Valores y variación espacio-temporal

Los valores de los metales en sedimento en cada sitio de muestreo a lo largo del estudio pueden verse en los Cuadros 4-7. Durante el muestreo de noviembre de 2016 (año 1, lluvias) los mayores valores de la concentración de Al (sitio F, mediana = 8446 mg/Kg<sup>-1</sup>), As (sitio F, mediana = 13.07 mg/Kg<sup>-1</sup>), Cu (sitio D, mediana = 19.46 mg/Kg<sup>-1</sup>), Fe (sitio F, mediana = 14030 mg/Kg<sup>-1</sup>), Mn (sitio C, mediana = 316 mg/Kg<sup>-1</sup>), Pb (sitio F, mediana = 10.72 mg/Kg<sup>-1</sup>) y Zn (sitio F, mediana = 33.33 mg/Kg<sup>-1</sup>) se registraron en sitios de la cuenca alta del Sonora y los menores en sitios de la cuenca baja, Al (sitio N, mediana = 1879 mg/Kg<sup>-1</sup>), As (sitio N, mediana = 3.604 mg/Kg<sup>-1</sup>), Cu (sitio N, mediana = 2.5 mg/Kg<sup>-1</sup>), Fe (sitio N, mediana = 3667 mg/Kg<sup>-1</sup>), Mn (sitio N, mediana = 72.08 mg/Kg<sup>-1</sup>), Pb (sitio M, mediana = 3.71 mg/Kg<sup>-1</sup>) y Zn (sitio M, mediana = 8.41 mg/Kg<sup>-1</sup>). Para el muestreo de junio de 2017 (año 1, seca) los mayores valores de la concentración de Al (sitio G, mediana = 4869 mg/Kg<sup>-1</sup>), As (sitio G, mediana = 5.926 mg/Kg<sup>-1</sup>), Pb (sitio G, mediana = 11.86 mg/Kg<sup>-1</sup>) y Zn (sitio G, mediana = 4.72 mg/Kg<sup>-1</sup>) se registraron en la cuenca media mientras que en ese mismo periodo fueron más altos en la cuenca alta el Cu (sitio C, mediana = 18.31 mg/Kg<sup>-1</sup>), Fe (sitio C, mediana = 11810 mg/Kg<sup>-1</sup>) y el Mn (sitio C, mediana = 353.2 mg/Kg<sup>-1</sup>). Los valores más bajos se registraron para todos los metales en la cuenca baja, Al (sitio N, mediana = 1576 mg/Kg<sup>-1</sup>), Cu (sitio N, mediana = 2.5 mg/Kg<sup>-1</sup>), Fe (sitio L, mediana = 3637 mg/Kg<sup>-1</sup>), Mn (sitio N, mediana = 80.84 mg/Kg<sup>-1</sup>), Pb (sitio L, mediana = 3.18 mg/Kg<sup>-1</sup>) y Zn (sitio L, mediana = 1.72 mg/Kg<sup>-1</sup>) mientras que el As solo fue detectable (>0.05 mg/Kg<sup>-1</sup>) en el sitio G (cuenca media). Durante el muestreo de octubre de 2017 (año 2, lluvias) los mayores valores de la concentración de Al (sitio B, mediana = 6722 mg/Kg<sup>-1</sup>), As (sitio F, mediana = 16.8 mg/Kg<sup>-1</sup>), Cu (sitio C, mediana = 42.26 mg/Kg<sup>-1</sup>), Fe (sitio A, mediana = 13330 mg/Kg<sup>-1</sup>), Mn (sitio A, mediana = 415 mg/Kg<sup>-1</sup>), Pb (sitio A, mediana = 13.04 mg/Kg<sup>-1</sup>) y Zn (sitio A, mediana = 43.92 mg/Kg<sup>-1</sup>) se registraron en la cuenca alta del Sonora y los menores en la cuenca baja, Al (sitio M, mediana = 1801 mg/Kg<sup>-1</sup>), As (sitio M, mediana = 3.66 mg/Kg<sup>-1</sup>), Cu (sitio N, mediana = 3.67 mg/Kg<sup>-1</sup>), Fe (sitio M, mediana = 4671 mg/Kg<sup>-1</sup>), Mn (sitio N, mediana = 101.1 mg/Kg<sup>-1</sup>), Zn (sitio M, mediana = 13.22 mg/Kg<sup>-1</sup>) con la excepción del Pb (sitio K, mediana = 5.708 mg/Kg<sup>-1</sup>) que presentó su menor concentración en la cuenca media. Para el muestreo de mayo de 2018 (año 2, seca) la mayor concentración de Al (sitio F, mediana = 5068 mg/Kg<sup>-1</sup>), As (sitio F, mediana = 11.42 mg/Kg<sup>-1</sup>), Cu (sitio A, mediana = 25.57 mg/Kg<sup>-1</sup>), Fe (sitio F, mediana = 11700 mg/Kg<sup>-1</sup>), Pb (sitio A, mediana = 11.66 mg/Kg<sup>-1</sup>) y Zn (sitio F, mediana = 29.71 mg/Kg<sup>-1</sup>) se registraron en la cuenca alta del Sonora, mientras que el Mn (sitio I, mediana = 530.3 mg/Kg<sup>-1</sup>) registró su máxima concentración en la cuenca media. Para este periodo los menores valores de la concentración de metales se registraron en la cuenca baja, Al (sitio N, mediana = 1697 mg/Kg<sup>-1</sup>), As (sitios J y L, mediana = 2.98 mg/Kg<sup>-1</sup>), Cu (sitio N, mediana = 2.30 mg/Kg<sup>-1</sup>), Fe (sitio L, mediana = 4274 mg/Kg<sup>-1</sup>), Mn (sitio N, mediana = 72.00 mg/Kg<sup>-1</sup>), Pb (sitio L, mediana = 2.34 mg/Kg<sup>-1</sup>) y Zn (sitio L, mediana = 10.45 mg/Kg<sup>-1</sup>).

Los valores de los parámetros químico-físicos en cada sitio de muestreo a lo largo del estudio pueden verse en los Cuadros 8 y 9. Los valores de temperatura del agua oscilaron durante el muestreo de noviembre de 2016 (año 1, lluvia) entre 20.56°C (sitio B en la cuenca alta y sitio M en la cuenca baja) y 25.98 °C ( sitio N en la cuenca baja), durante el muestreo de junio de 2017 (año 1, seca) entre 24.3 °C (sitio H en la cuenca media) y 35 °C (sitio L en la cuenca baja). En el segundo año de muestreo durante octubre de 2017 (lluvia) la temperatura osciló entre los 24.3°C (sitio K en la cuenca media) y los 32.7°C (sitio J en la cuenca baja) y durante el muestreo de mayo de 2018 (año 2, seca) varió entre los 22.7°C (sitio C en la cuenca alta) y 30.9°C (sitio J en la cuenca baja).

La conductividad eléctrica varió durante el muestreo de noviembre de 2016 (año 1, lluvia) entre 419  $\mu\text{S}/\text{cm}^{-1}$  (sitio F en la cuenca alta) y 1261  $\mu\text{S}/\text{cm}^{-1}$  (sitio M en la cuenca baja), durante el muestreo de junio de 2017 (año 1, seca) entre 686  $\mu\text{S}/\text{cm}^{-1}$  (sitio C en la cuenca alta) y 1614  $\mu\text{S}/\text{cm}^{-1}$  (sitio L en la cuenca baja). En el segundo año de muestreo durante octubre de 2017 (lluvia) la conductividad osciló entre los 475.1  $\mu\text{S}/\text{cm}^{-1}$  (sitio F en la cuenca alta) y los 1514 (sitio L en la cuenca baja) y durante el muestreo de mayo de 2018 (año 2, seca) varió entre 639  $\mu\text{S}/\text{cm}^{-1}$  (sitio K en la cuenca media) y 1508  $\mu\text{S}/\text{cm}^{-1}$  (sitio L en la cuenca baja).

La salinidad varió durante el muestreo de noviembre de 2016 (año 1, lluvia) entre 0.2 mg/l (sitio F en la cuenca alta) y 0.63 mg/l (sitios L y M en la cuenca baja), durante el muestreo de junio de 2017 (año 1, seca) entre 0.31 mg/l (sitio C en la cuenca alta) y 0.8 mg/l (sitio L en la cuenca baja). En el segundo año de muestreo durante octubre de 2017 (lluvia) la salinidad osciló entre los 0.2 mg/l (sitio F en la cuenca alta) y los 0.68 mg/l (sitio L en la cuenca baja) y durante el muestreo de mayo de 2018 (año 2, seca) varió entre 0.2 (sitio F en la cuenca alta) y 0.72 mg/l (sitio L en la cuenca baja).

Los valores de TDS oscilaron durante el muestreo de noviembre de 2016 (año 1, lluvia) entre 272 mg/l (sitio F en la cuenca alta) y 819 mg/l (sitio M en la cuenca baja), durante el muestreo de junio de 2017 (año 1, seca) entre 416 mg/l (sitio C en la cuenca alta) y 897 mg/l (sitio L en la cuenca baja). En el segundo año de muestreo durante octubre de 2017 (lluvia) osciló entre los 295.1 mg/l (sitio F en la cuenca alta) y los 917.5 mg/l (sitio M en la cuenca baja) y durante el muestreo de mayo de 2018 (año 2, seca) varió entre 277.6 (sitio F en la cuenca alta) y 942.5 mg/l (sitio L en la cuenca baja).

El porcentaje de materia orgánica varió durante el muestreo de noviembre de 2016 (año 1, lluvia) entre 0.97% (sitio K en la cuenca media) y 4.12% (sitio L en la cuenca baja), durante el muestreo de junio de 2017 (año 1, seca) entre 1.35 (sitio H en la cuenca media) y 5.8% (sitio J en la cuenca baja). En el segundo año de muestreo durante octubre de 2017 (lluvia) el porcentaje de materia orgánica osciló entre 1.48% (sitio I en la cuenca media) y 10.3% (sitio L en la cuenca baja) y durante el muestreo de mayo de 2018 (año 2, seca) varió entre 1.6% (sitio B en la cuenca alta) y 5.99% (sitio L en la cuenca baja).

El porcentaje de limos y arcillas varió durante el muestreo de noviembre de 2016 (año 1, lluvia) entre 5.36% (sitio G en la cuenca media) y 23.48% (sitio L en la cuenca baja), durante el muestreo de junio de 2017 (año 1, seca) entre 0.77 (sitio G en la cuenca media) y 9.94% (sitio J en la cuenca baja). En el segundo año de muestreo durante octubre de 2017 (lluvia) el porcentaje de limos y arcillas en el sedimento osciló entre el 0.6% (sitio K en la cuenca media) y 28.54% (sitio L en la cuenca baja) y durante el muestreo de mayo de 2018 (año 2, seca) varió entre 2.23% (sitio A en la cuenca alta) y 14.33% (sitio L en la cuenca baja).

El oxígeno disuelto varió durante el muestreo de noviembre de 2016 (año 1, lluvia) entre 4.29 mg/l (sitio G en la cuenca media) y 8.62 mg/l (sitio D en la cuenca alta), durante el muestreo de junio de 2017 (año 1, seca) entre 5.32 mg/l (sitio H en la cuenca media) y 9.62 mg/l (sitio I en la cuenca media). En el segundo año de muestreo durante octubre de 2017 (lluvia) el oxígeno disuelto osciló entre los 5.52 mg/l (sitio G en la cuenca media) y los 9.68 mg/l (sitio F en la cuenca alta) y durante el muestreo de mayo de 2018 (año 2, seca) varió entre 3.23 (sitio L en la cuenca baja) y 12.08 mg/l (sitio E en la cuenca alta).

El pH varió durante el muestreo de noviembre de 2016 (año 1, lluvia) entre 7.16 (sitios G y K en la cuenca media) y 8.47 (sitio L en la cuenca baja), durante el muestreo de junio de 2017 (año 1, seca) entre 6 (sitio H en la cuenca media) y 7.82 (sitio J en la cuenca baja). En el segundo año de muestreo durante octubre de 2017 (lluvia) el pH osciló entre 7.27 (sitio K en la cuenca media) y 8.39 (sitio F en la cuenca alta) y durante el muestreo de mayo de 2018 (año 2, seca) varió entre 6.72 (sitio K en la cuenca media) y 8.06 (sitio E en la cuenca alta).

La representación gráfica de los datos de metales y parámetros químico-físicos agrupados por posición en la cuenca, año y época de muestreo a través del ACP puede verse en la Figura 9. Los dos primeros componentes explican el 66.5 % de la variabilidad de los datos (Cuadro 10). La variación espacial se aprecia ordenada a lo largo del primer componente que muestra claramente la separación entre la cuenca baja (izquierda del gráfico) de la media (centro del gráfico) y la alta (derecha del gráfico), aunque estas dos últimas muestran un solapamiento ligero. Desde el punto de vista temporal se aprecia una separación de los datos correspondientes al periodo de secas del primer año de muestreo, hacia la parte inferior del gráfico. Sin embargo, aún durante este muestreo se mantiene la estructura espacial descrita previamente. Dentro de cada sector de cuenca los datos correspondientes a las lluvias del primer año de muestreos y a la seca y lluvias del segundo año, se muestran muy próximos o superpuestos. La mayoría de los metales evaluados muestran una variación importante a lo largo del componente principal 1 (Fig. 10), evidenciando una tendencia al incremento en sus concentraciones en el sedimento hacia la parte alta de la cuenca. También a lo largo de este componente varían de manera importante el % MO, la conductividad y en menor medida la temperatura y el % de limos + arcillas variables que tienden a aumentar sus valores hacia la parte baja de la cuenca. Al

componente principal 2 (Fig. 11) aportan principalmente las variaciones en algunos metales como el Zn y As y algunas variables químico-físicas como el pH, la temperatura y el O2 dil.

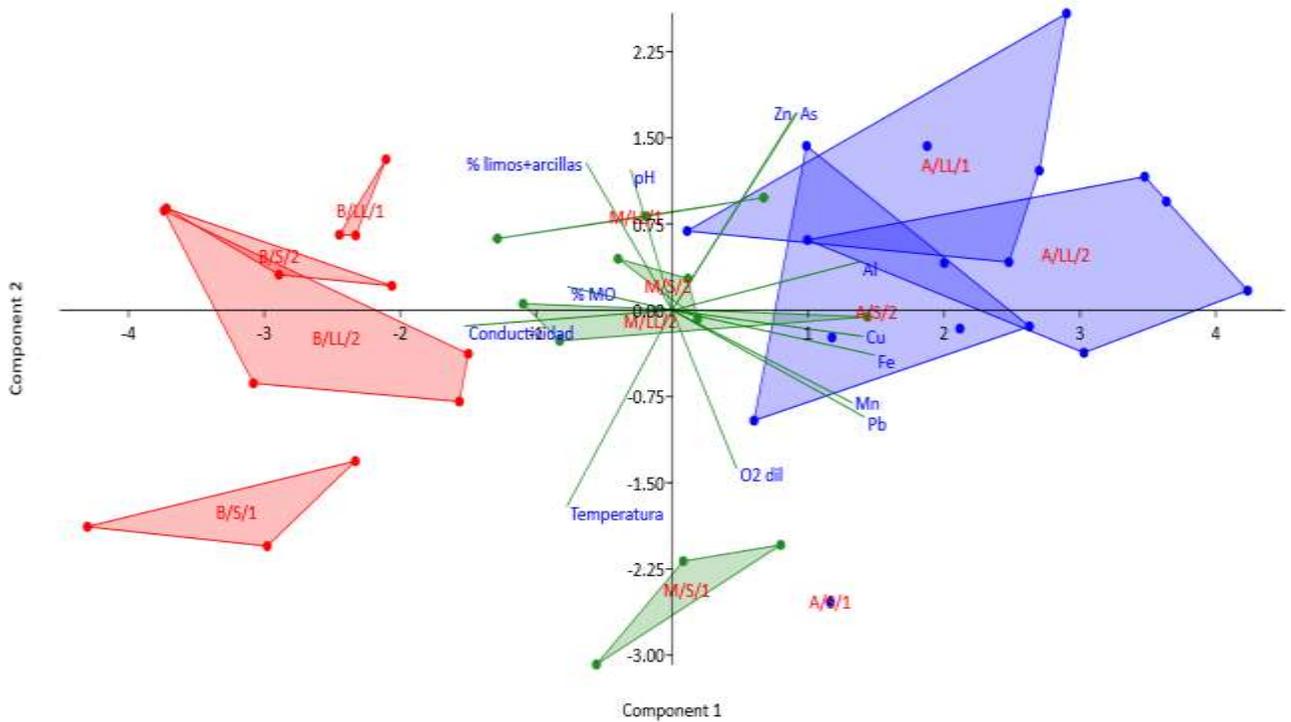


Figura. 9 Análisis de componentes principales de los metales y parámetros químico-físicos evaluados en la cuenca del río Sonora, México, desde noviembre de 2016 hasta mayo de 2018. Se utilizaron las combinaciones de posición en la cuenca, año y época de muestreo para conformar grupos. A: cuenca alta (puntos y áreas azules); M: cuenca media (puntos y áreas verdes); B: cuenca baja (puntos y áreas rojas); S: época de secas; LL: época de lluvias; 1: primer año de muestreos; 2: segundo año de muestreos; % limos+arcillas: porcentaje de limos y arcillas; % MO: porcentaje de materia orgánica; O2 dil: oxígeno disuelto; Zn: zinc; As: arsénico; Al: aluminio; Cu: cobre; Fe: hierro; Mn: manganeso; Pb: plomo.

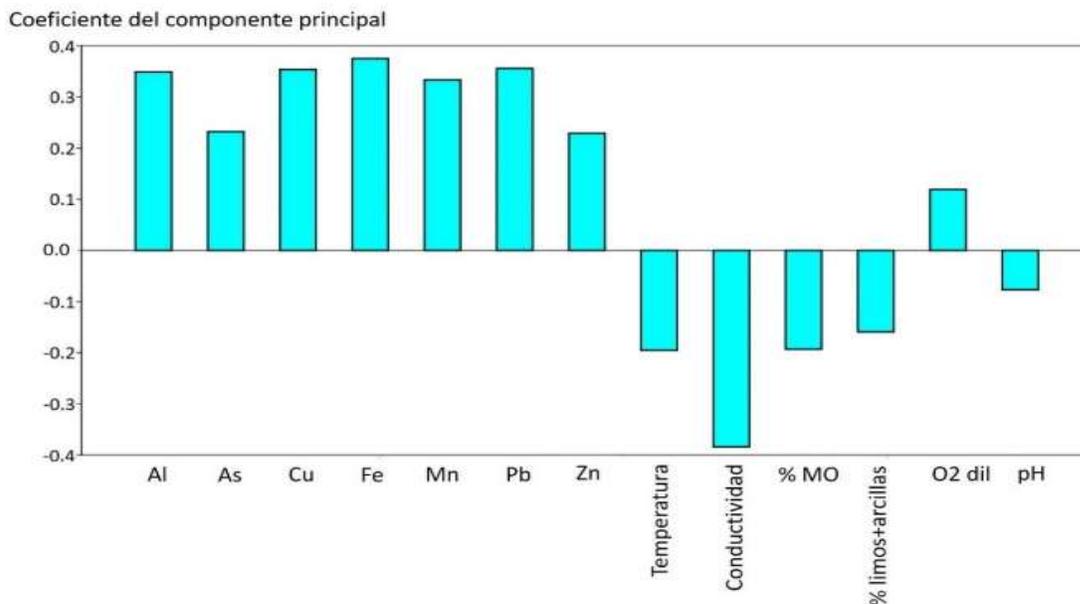


Figura. 10 Aporte de cada variable (metales y parámetros químico-físicos evaluados en la cuenca del río Sonora, México, desde noviembre de 2016 hasta mayo de 2018) al componente 1 del ACP. Al: aluminio; As: arsénico; Cu: cobre; Fe: hierro; Mn: manganeso; Pb: plomo; Zn: zinc; % MO: porcentaje de materia orgánica; % limos+arcillas: porcentaje de la estructura granulométrica constituido por la fracción de limos más las arcillas; O2 dil: oxígeno disuelto.

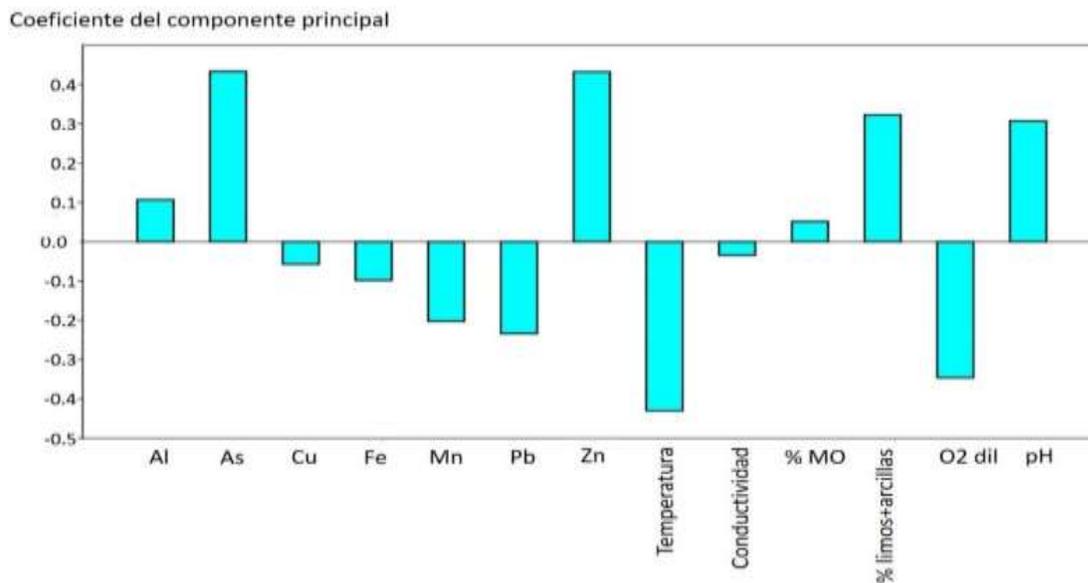


Figura. 11 Aporte de cada variable (metales y parámetros químico-físicos evaluados en la cuenca del río Sonora, México, desde noviembre de 2016 hasta mayo de 2018) al componente 2 del ACP. Al: aluminio; As: arsénico; Cu: cobre; Fe: hierro; Mn: manganeso; Pb: plomo; Zn: zinc; % MO: porcentaje de materia orgánica; % limos+arcillas: porcentaje de la estructura granulométrica constituido por la fracción de limos más las arcillas; O2 dil: oxígeno disuelto.

Cuadro 4. Valores de los metales aluminio, arsénico, cobre y hierro medidos en sedimento en cada uno de los sitios durante el primer año de muestreos en la cuenca del río Sonora. Med: mediana; Min: valor mínimo; Max: valor máximo; Al: aluminio; As: arsénico; Cu: cobre; Fe: hierro; Nov/16: noviembre de 2016; Jun/17: Junio de 2017; A: Bacanuchi; B: La Trampa; C: Bacoachi; D: Chinapa; E: Tetoachi; F: Cucurpe; G: Aconchi; H: Puente Baviácora; I: La Capilla; J: Mazocahui; K: Rayón; L: El Gavilán; M: El Orégano; N: San Miguel.

Año	Época	Posición en la cuenca	Sitio	Al (mg/kg)			As (mg/kg)			Cu (mg/kg)			Fe (mg/kg)		
				Med	Min	Max	Med	Min	Max	Med	Min	Max	Med	Min	Max
1 (Nov/16 Jun/17)	Lluvia (Nov/16)	Alta	B	7555	5286	9532	6.719	5.92	9.352	16.97	14.61	18.61	12060	9643	16910
			C	4522	2953	8570	3.986	3.196	4.394	10.21	7.58	17.92	8394	5922	13290
			D	7131	4950	10040	7.5	6.755	8.226	19.46	18.52	21.54	12210	9424	15580
		Media	E	7307	6058	11990	9.025	8.644	10.641	11.35	9.28	33.69	12740	11300	16420
			F	8446	5270	13440	13.07	7.481	22.426	9.75	6.75	13.37	14030	9036	16740
			G	2839	2235	7420	7.118	6.337	8.226	6.39	4.46	6.80	5824	5367	17960
			I	5477	5166	13630	6.228	3.902	9.606	9.08	8.64	26.5	8734	8080	15020
	Baja	K	2604	1584	3913	5.962	5.300	8.280	4.34	3.61	6.37	4469	3082	6836	
		L	4871	2076	5794	4.022	3.641	4.467	5.3	3.00	6.04	5987	3979	6714	
		M	2254	1401	3589	3.986	3.096	5.012	3.96	2.95	5.69	3715	3474	4961	
	Seca (Jun/17)	Alta	N	1879	929.9	2536	3.604	2.737	4.701	2.5	2.50	2.97	3667	2158	4817
			C	4226	2788	38520	0.05	0.05	0.05	18.31	15.4	22.09	11810	8894	13860
		Media	G	4869	3981	6330	5.926	0.05	13.94	6.158	5.841	7.713	10390	9263	13100
			I	3817	3200	5807	0.05	0.05	6.149	7.98	5.363	15.96	7002	5933	10630
H			4712	3402	5418	0.05	0.05	4.451	6.16	4.224	8.172	9289	6519	10350	
Baja		J	2320	1622	3981	0.05	0.05	4.55	6.324	4.35	10.59	5195	4624	7239	
		L	1655	791.7	3639	0.05	0.05	3.03	3.456	2.05	7.417	3637	2135	6125	
N	1576	951.6	3226	0.05	0.05	0.05	2.5	2.017	4.506	4357	2396	6402			

Cuadro 5. Valores de los metales aluminio, arsénico, cobre y hierro medidos en sedimento en cada uno de los sitios durante el segundo año de muestreos en la cuenca del río Sonora. Med: mediana; Min: valor mínimo; Max: valor máximo; Al: aluminio; As: arsénico; Cu: cobre; Fe: hierro; Oct/17: octubre de 2017; May/18: mayo de 2018; A: Bacanuchi; B: La Trampa; C: Bacoachi; D: Chinapa; E: Tetoachi; F: Cucurpe; G: Aconchi; H: Puente Baviácora; I: La Capilla; J: Mazocahui; K: Rayón; L: El Gavilán; M: El Orégano; N: San Miguel.

Año	Época	Posición en la cuenca	Sitio	Al (mg/kg)			As (mg/kg)			Cu (mg/kg)			Fe (mg/kg)			
				Med	Min	Max	Med	Min	Max	Med	Min	Max	Med	Min	Max	
2 (Oct/17 May/18)	Lluvia (Oct/17)	Alta	A	5858	5165	6562	10.17	9.92	14.04	29.78	23.14	35.02	13330	12210	14910	
			B	6722	5694	8086	11.46	11.07	15.88	20.02	17.12	25.72	13210	12940	15750	
			C	4819	3926	5089	5.212	3.35	8.13	42.26	26.16	49.81	11550	8793	12990	
			D	5848	5186	7133	9.996	5.69	11.62	20.86	17.91	25.47	10380	8400	14030	
			E	4790	4384	6357	11.67	4.03	12.68	12.26	10.87	13.84	10800	9165	12350	
			F	6308	5029	7930	16.8	14.15	20.16	10.35	8.10	15.00	12930	9087	16820	
			G	4726	3060	8058	9.135	8.44	9.97	13.09	5.62	18.69	9832	7305	12480	
	Seca (May/18)	Media	I	2802	2080	4083	6.733	5.62	9.24	8.513	6.67	10.13	5750	5294	8628	
			K	2449	1313	3382	5.014	3.63	6.52	4.072	2.31	6.27	5170	3534	6922	
			Baja	J	3629	2335	12000	6.352	4.31	7.08	4.957	4.27	21.46	7023	4916	17560
				L	2465	2157	13580	4.963	2.98	6.04	4.406	3.52	15.03	5498	4525	13870
				M	1801	1594	5866	3.657	2.98	5.10	4.198	3.98	6.38	4671	3707	8561
			Alta	N	2123	1977	3070	5.786	4.16	7.75	3.667	2.61	3.83	5063	4811	6247
				A	3902	3768	4208	8.522	6.31	24.88	25.57	21.29	25.66	9248	7700	10660
B	4347	3796		5108	9.47	5.72	9.83	18.16	15.46	19.52	9746	7285	11150			
C	3665	3037		5413	4.543	2.98	5.83	24.36	23.09	29.59	9401	8133	10140			
Media	E	4093	3450	5014	7.691	5.78	10.27	11.01	10.27	11.74	9646	7240	10390			
	F	5068	3884	6832	11.42	7.30	18.07	8.258	7.06	14.85	11700	9075	14470			
	H	2914	2646	3590	6.88	5.61	8.77	4.814	3.59	8.19	7263	6434	8856			
	I	2431	2163	7038	8.379	2.98	13.61	7.274	5.96	10.07	5726	797.7	7431			
	K	3643	1553	4089	5.289	3.29	6.76	7.109	3.08	8.55	8369	4376	11760			
	Baja	J	2744	1763	3383	2.98	2.98	3.99	4.718	2.76	5.19	6117	4279	8477		
		L	2298	1435	2850	2.98	2.98	2.98	3.261	2.19	5.06	4274	3245	4736		
N		1697	1306	2188	3.209	2.98	5.36	2.295	2.25	3.74	4422	3288	5813			

Cuadro 6. Valores de los metales manganeso, plomo y zinc medidos en sedimento en cada uno de los sitios durante el primer año de muestreos en la cuenca del río Sonora. Med: mediana; Min: valor mínimo; Max: valor máximo; Mn: manganeso; Pb: plomo; Zn: zinc; Nov/16: noviembre de 2016; Jun/17: Junio de 2017; A: Bacanuchi; B: La Trampa; C: Bacoachi; D: Chinapa; E: Tetoachi; F: Cucurpe; G: Aconchi; H: Puente Baviácora; I: La Capilla; J: Mazocahui; K: Rayón; L: El Gavilán; M: El Orégano; N: San Miguel.

Año	Época	Posición en la cuenca	Sitio	Mn (mg/kg)			Pb (mg/kg)			Zn (mg/kg)		
				Med	Min	Max	Med	Min	Max	Med	Min	Max
1 Nov/16 Jun/17)	Lluvia (Nov/16)	Alta	B	315.00	274.20	325.50	10.43	7.48	14.05	28.39	27.07	31.63
			C	316	287.80	401.00	7.26	6.40	12.96	20.62	17.24	34.41
			D	235.1	233.90	260.60	8.1	7.67	11.48	24.55	21.33	28.45
		Media	E	225.4	201.60	289.30	8.31	5.16	15.31	22.77	21.06	29.80
			F	203.6	140.80	257.70	10.72	8.43	13.99	33.33	25.67	45.21
			G	131.4	106.60	177.10	9.82	7.66	11.68	21.16	15.77	27.49
			I	299.9	188.30	414.90	8.00	7.82	13.88	24.4	18.66	36.94
	Baja	K	96.13	18.20	125.90	4.82	3.03	6.41	13.38	12.31	19.97	
		L	175.6	93.13	228.60	5.81	2.79	7.21	12.56	8.56	13.96	
		M	139	38.74	248.00	3.71	2.85	4.10	8.41	6.81	10.92	
	Seca (Jun/17)	Alta	N	72.08	29.62	85.35	4.15	2.50	5.64	11.41	4.66	13.80
			C	353.2	180	2355	11.38	9.151	27.13	2.687	2.113	3.298
		Media	G	162.9	143.5	264.5	11.86	8.455	13.79	4.72	3.848	5.197
			I	348.9	147.2	362.4	9.009	6.337	12.96	3.078	2.829	4.728
H			216.3	205.4	259.3	8.445	7.224	9.115	3.943	2.87	5.584	
Baja		J	249.1	174.4	283.1	5.113	2.156	7.436	2.126	1.543	8.112	
		L	162.8	85.09	229	3.182	2.571	5.698	1.724	1.495	3.88	
N	80.84	52.34	130.1	5.726	2.5	7.876	2.751	1.235	3.522			

Cuadro 7. Valores de los metales manganeso, plomo y zinc medidos en sedimento en cada uno de los sitios durante el segundo año de muestreos en la cuenca del río Sonora. Med: mediana; Min: valor mínimo; Max: valor máximo; Mn: manganeso; Pb: plomo; Zn: zinc; Oct/17: octubre de 2017; May/18: mayo de 2018; A: Bacanuchi; B: La Trampa; C: Bacoachi; D: Chinapa; E: Tetoachi; F: Cucurpe; G: Aconchi; H: Puente Baviácora; I: La Capilla; J: Mazocahui; K: Rayón; L: El Gavilán; M: El Orégano; N: San Miguel.

Año	Época	Posición en la cuenca	Sitio	Mn (mg/kg)			Pb (mg/kg)			Zn (mg/kg)		
				Med	Min	Max	Med	Min	Max	Med	Min	Max
2 (Oct/17 May/18)	Lluvia (Oct/17)	Alta	A	415.00	390.50	839.0	13.04	11.41	32.60	43.92	41.32	61.29
			B	350.7	342.0	361.90	10.88	9.76	21.36	40.65	33.20	45.13
			C	295.4	241.60	324.10	10.82	10.21	12.48	30.55	25.30	36.79
			D	303	240.60	778.30	7.94	7.49	8.28	29.64	23.94	34.90
			E	251.00	215.70	407.90	8.08	7.07	10.07	28.86	26.20	30.39
			F	296.9	127.90	325.90	11.49	9.45	14.68	42.6	31.20	50.96
		Media	G	302.4	170.30	320.00	13.8	11.76	18.75	35.06	20.84	48.65
			I	206.7	143.00	228.50	6.805	5.35	10.41	20.3	18.87	24.66
			K	102.1	67.06	187.90	5.708	4.46	7.32	16.08	12.51	21.73
		Baja	J	147.9	134.70	288.20	7.289	4.40	16.57	19.72	13.21	42.34
			L	170.1	92.03	429.30	6.552	4.47	11.93	16.3	12.74	37.77
			M	116.7	93.55	199.60	6.161	4.22	6.96	13.22	11.20	19.35
			N	101.1	91.47	122.70	6.636	6.63	7.68	15.67	14.78	17.32
Seca (May/18)	Alta	A	404.8	246.80	697.90	11.66	10.15	14.27	29.62	28.59	30.97	
		B	327.5	235.20	362.40	10.4	8.25	13.04	26.37	25.21	37.59	
		C	247.2	235.00	411.50	9.053	6.71	9.92	23.5	22.61	32.03	
		E	213.4	174.60	490.40	7.638	5.31	8.61	22.29	15.24	23.58	
		F	141.8	71.98	246.30	8.199	6.51	11.17	29.71	26.59	47.63	
	Media	H	325.9	261.90	530.70	8.229	6.36	9.71	23.04	20.08	28.49	
		I	530.3	440.60	912.70	6.192	3.53	6.65	20.26	19.26	27.09	
		K	88.35	39.96	104.40	7.626	5.20	11.78	22.07	13.82	24.22	
	Baja	J	174.6	98.15	226.10	4.244	3.87	5.52	15.63	9.96	16.83	
		L	225.2	209.40	315.10	2.343	1.41	5.07	10.45	9.30	12.56	
		N	72	63.29	91.27	5.129	4.32	7.43	13.74	11.15	15.44	

Cuadro 8. Valores de los parámetros químico-físicos medidos en cada uno de los sitios durante el primer año de muestreos en la cuenca del río Sonora. Nov/16: noviembre de 2016; Jun/17: Junio de 2017; A: Bacanuchi; B: La Trampa; C: Bacoachi; D: Chinapa; E: Tetoachi; F: Cucurpe; G: Aconchi; H: Puente Baviácora; I: La Capilla; J: Mazocahui; K: Rayón; L: El Gavilán; M: El Orégano; N: San Miguel.

Año	Época	Posición en la cuenca	Sitio	Altura (m.s.n.m)	Temperatura (°C)	Conductividad ( $\mu\text{S}/\text{cm}^{-1}$ )	Salinidad (mg/l)	TDS (mg/l)	% MO	% limos + arcillas	O <sub>2</sub> dil (mg/l)	pH
1 (Nov/16 Jun/17)	Lluvia (Nov/16)	Alta	B	1018	20.56	720	0.35	468	1.74	6.69	5.39	7.97
			C	1028	23.92	791	0.39	514	2.59	19.91	5.54	7.35
			D	897	21.68	649	0.32	422	1.74	5.82	8.62	7.59
		Media	E	752	23.08	667	0.32	434	1.61	7.31	5.87	8.25
			F	857	22.62	419	0.2	272	2.82	18.23	6.18	7.96
			G	592	23.51	707	0.34	460	1.19	5.36	4.29	7.16
			I	532	21.9	989	0.49	643	1.62	12.38	5.34	7.37
			K	537	23.44	619	0.3	402	0.97	7.53	5.35	7.16
			L	328	25.97	1259	0.63	818	4.12	23.48	6.80	8.47
	Baja	M	304	20.56	1261	0.63	819	2.76	7.97	8.11	8.08	
		N	362	25.98	700	0.34	455	1.09	5.91	4.80	8.02	
		C	1028	28.5	686	0.31	416	2.44	6.84	8.14	7.68	
	Seca (Jun/17)	Alta	C	1028	28.5	686	0.31	416	2.44	6.84	8.14	7.68
			G	592	28.3	712	0.32	435.5	1.62	0.77	8.57	7.17
			I	532	30.1	1175	0.53	695.5	1.45	1.97	9.62	7.44
Media		H	552	24.3	820	0.41	539.5	1.35	1.07	5.32	6.00	
		J	486	33.7	1245	0.62	695.5	5.8	9.94	8.25	7.82	
		L	328	35	1614	0.8	897	3.87	6.65	6.36	7.64	
Baja	N	362	27.2	704	0.33	442	2.04	4.43	7.19	7.44		

Cuadro 9. Valores de los parámetros químico-físicos medidos en cada uno de los sitios durante el segundo año de muestreos en la cuenca del río Sonora. Oct/17: octubre de 2017; May/18: mayo de 2018; A: Bacanuchi; B: La Trampa; C: Bacoachi; D: Chinapa; E: Tetoachi; F: Cucurpe; G: Aconchi; H: Puente Baviácora; I: La Capilla; J: Mazocahui; K: Rayón; L: El Gavilán; M: El Orégano; N: San Miguel.

Año	Época	Posición en la cuenca	Sitio	Altura (m.s.n.m)	Temperatura (°C)	Conductividad ( $\mu\text{S}/\text{cm}^{-1}$ )	Salinidad (mg/l)	TDS (mg/l)	% MO	% limos + arcillas	O <sub>2</sub> dil (mg/l)	pH
2 (Oct/17 May/18)	Lluvia (Oct/17)	Alta	A	1030	24.6	735	0.36	481	2.46	2.18	7.11	7.43
			B	1018	24.9	497.1	0.24	323.7	3.1	2.51	6.70	7.78
			C	1028	24.5	720	0.35	474.5	2.96	2.66	6.81	7.58
		Media	D	897	27.4	648	0.3	403	3.04	3.12	6.60	7.72
			E	752	28.01	752	0.34	471.5	6.8	1.66	7.95	8.18
			F	857	27.4	475.1	0.2	295.1	2.44	1.1	9.68	8.39
			G	592	28.5	827	0.38	507	9.01	1.47	5.52	7.43
			I	532	27.3	1127	0.53	702	1.48	0.85	7.14	7.75
			K	537	24.3	551	0.27	364	3.5	0.6	6.03	7.27
	Baja	J	486	32.7	1180	0.5	669.5	5.84	2.58	8.36	7.97	
		L	328	32.1	1514	0.68	897	10.3	28.54	6.40	8.14	
		M	304	28.2	1499	0.7	917.5	7.6	5.84	9.56	8.11	
	Seca (May/18)	Alta	N	362	28.1	809	0.36	481	2.64	3.3	8.52	7.93
			A	1030	23.4	784	0.4	526.5	1.7	2.23	6.22	7.36
			B	1018	24.2	763	0.38	507	1.6	3.16	7.95	7.46
		Media	C	1028	22.7	684	0.35	468	5.45	7.76	7.67	7.19
			E	752	29.7	717	0.32	429	3.08	5.06	12.08	8.06
			F	857	28.4	454.9	0.2	277.6	3.09	13.6	7.00	8.05
H			552	24.2	860	0.43	565.5	1.79	5.15	4.26	7.14	
I			532	23.3	1139	0.58	767	1.93	2.53	6.19	7.47	
K			537	23.4	639	0.32	429	5.7	5.43	4.56	6.72	
Baja	J	486	30.9	1249	0.55	728	5.48	9.91	3.48	7.89		
	L	328	27.2	1508	0.72	942.5	5.99	14.33	3.23	7.83		
	N	362	25.1	726	0.35	468	2.16	3.24	4.14	7.28		

Cuadro 10. Eigenvectores identificados por el Análisis de Componentes Principales, su eigenvalor y el porcentaje de la varianza explicada por cada uno. PC: componente principal.

PC	Eigenvalue	% de la varianza explicada
1	6.25667	48.128
2	2.38193	18.323
3	1.81705	13.977
4	1.40637	10.818
5	0.494413	3.8032
6	0.248702	1.9131
7	0.183847	1.4142
8	0.115156	0.88582
9	0.0715873	0.55067
10	0.0150256	0.11558
11	0.00924275	0.071098

Todos los metales tienden a reducir sus concentraciones desde la parte alta de la cuenca a la baja (Figuras 12-18). En la figura respectiva a cada metal, se incluye el valor del nivel umbral de efecto (TEL) según la EPA y la NOAA. Como puede observarse el Al, Cu, Fe, Mn y Zn tienen prácticamente todos sus registros por debajo del TEL. Sin embargo, el As muestra varios registros por encima de su respectivo TEL.

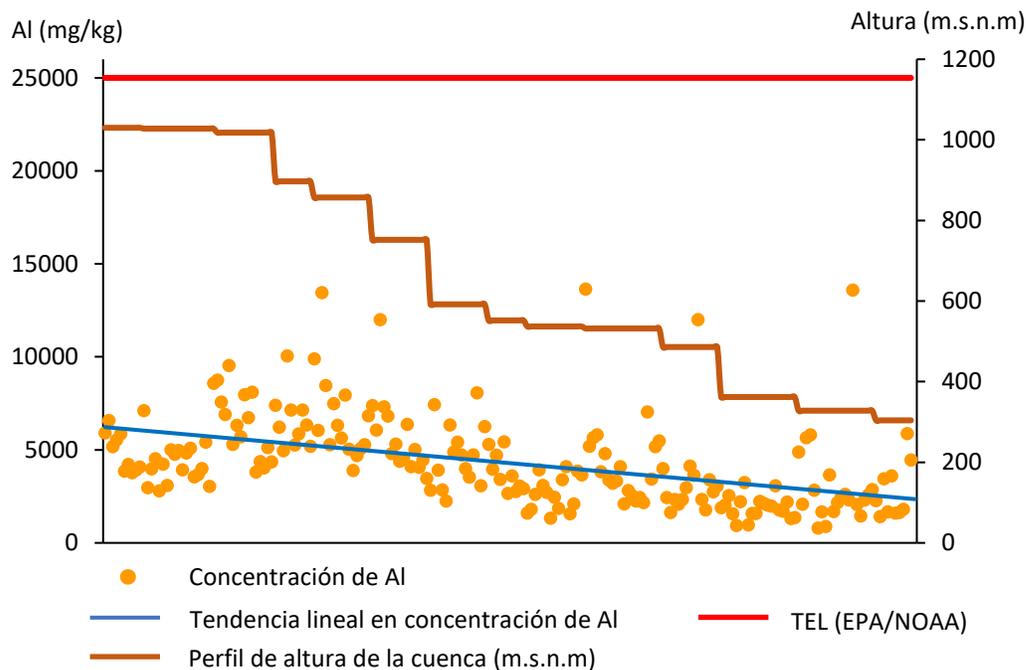


Figura 12. Tendencia a lo largo del gradiente altitudinal de la cuenca en la concentración de Al en relación al TEL. Al: aluminio; TEL: nivel umbral de efecto; EPA: Agencia de Protección Ambiental; NOAA: Administración Oceánica y Atmosférica Nacional, ambas de Estados Unidos de América.

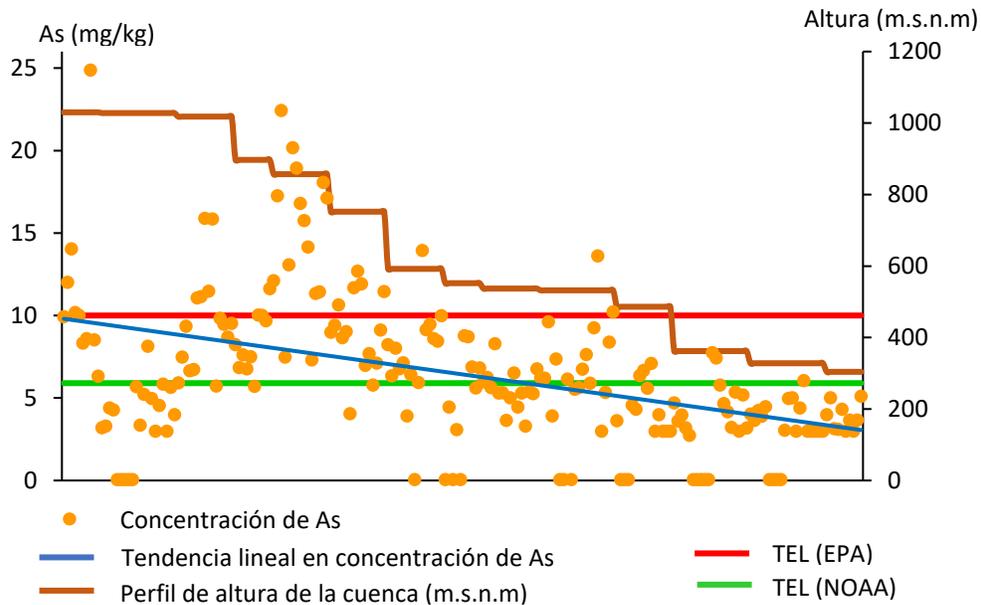


Figura. 13 Tendencia a lo largo del gradiente altitudinal de la cuenca en la concentración de As en relación al TEL. As: arsénico; TEL: nivel umbral de efecto; EPA: Agencia de Protección Ambiental; NOAA: Administración Oceánica y Atmosférica Nacional, ambas de Estados Unidos de América

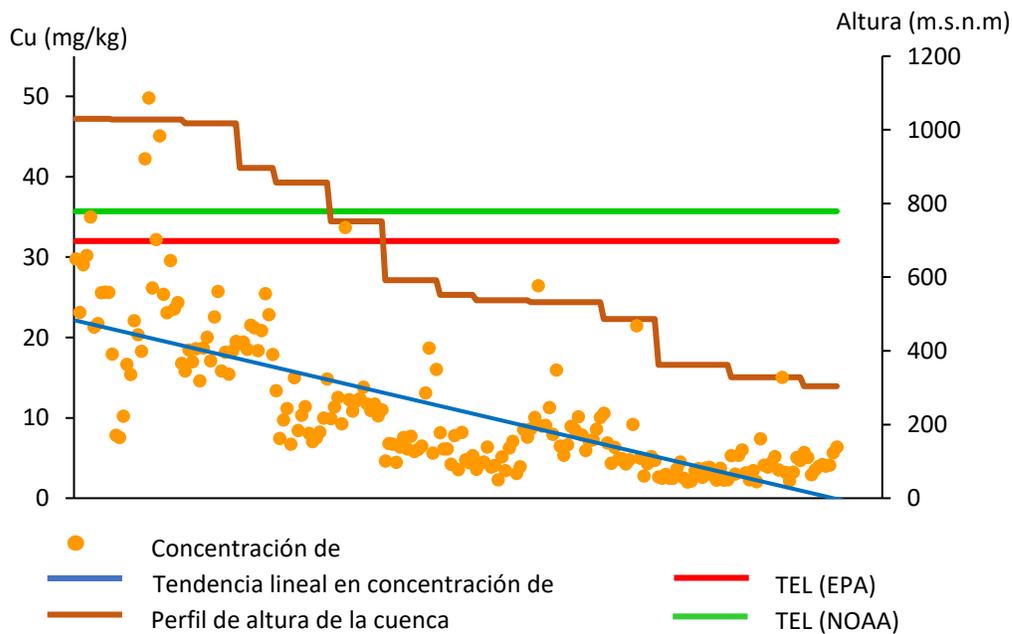


Figura. 14 Tendencia a lo largo del gradiente altitudinal de la cuenca en la concentración de Cu en relación al TEL. Cu: cobre; TEL: nivel umbral de efecto; EPA: Agencia de Protección Ambiental; NOAA: Administración Oceánica y Atmosférica Nacional, ambas de Estados Unidos de América

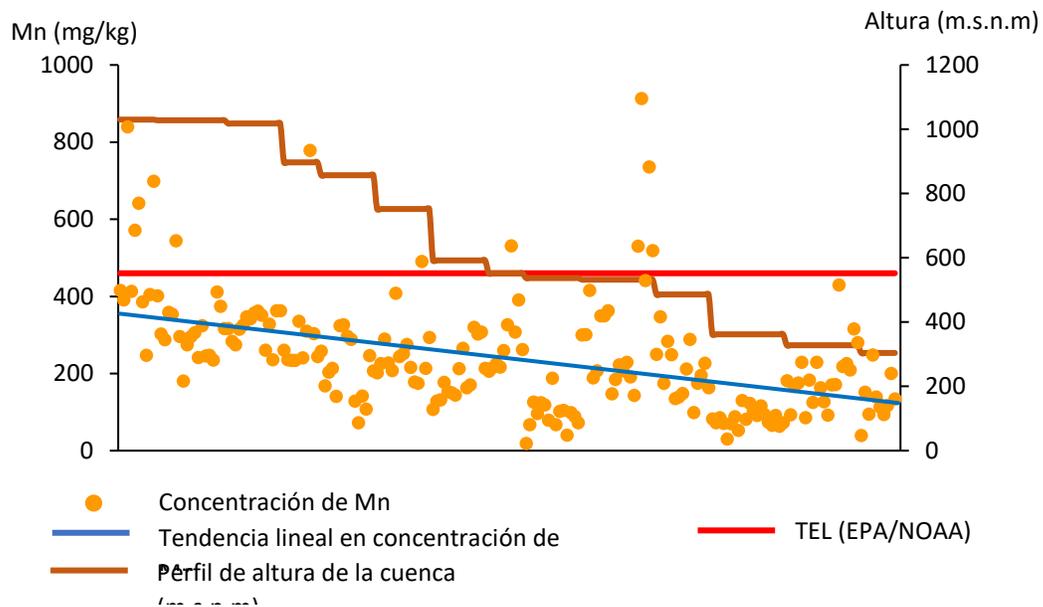


Figura 15. Tendencia a lo largo del gradiente altitudinal de la cuenca en la concentración de Mn en relación al TEL. Mn: manganeso; TEL: nivel umbral de efecto; EPA: Agencia de Protección Ambiental; NOAA: Administración Oceánica y Atmosférica Nacional, ambas de Estados Unidos de América.

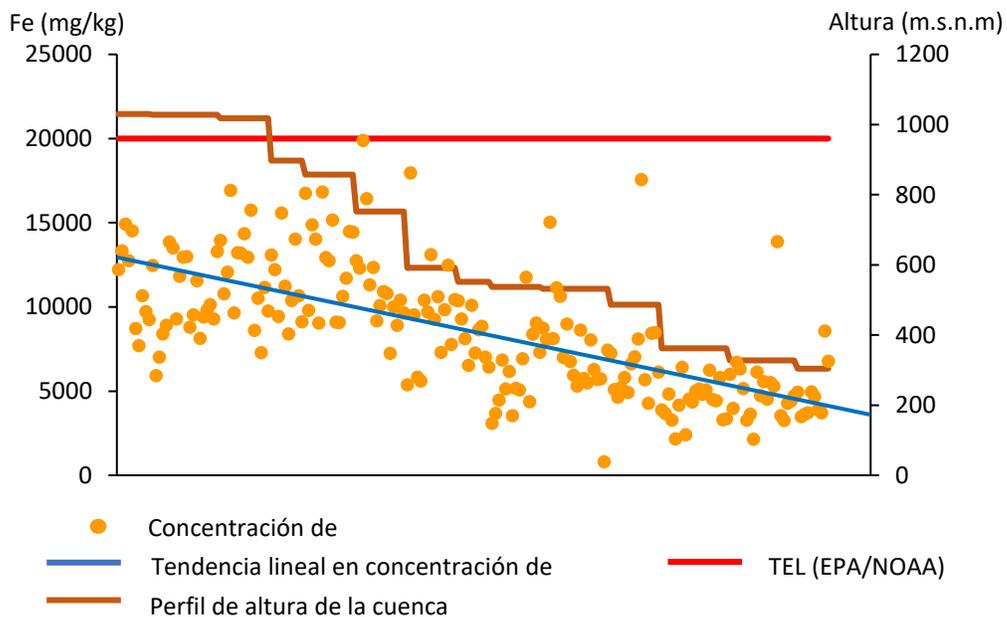


Figura 16. Tendencia a lo largo del gradiente altitudinal de la cuenca en la concentración de Fe en relación al TEL. Fe: hierro; TEL: nivel umbral de efecto; EPA: Agencia de Protección Ambiental; NOAA: Administración Oceánica y Atmosférica Nacional, ambas de Estados Unidos de América

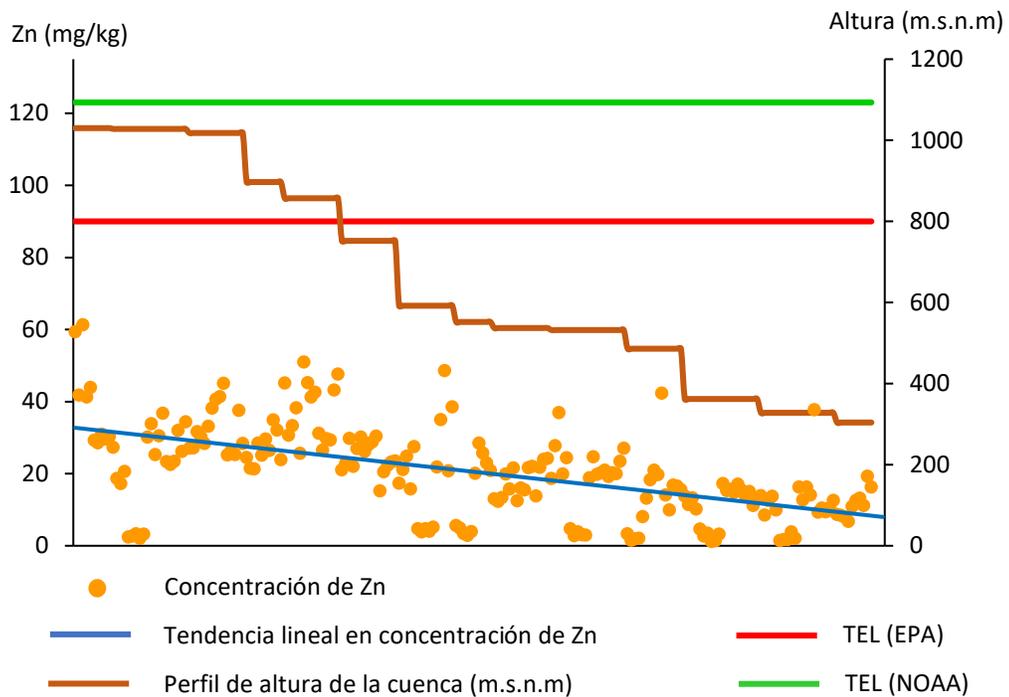


Figura 17. Tendencia a lo largo del gradiente altitudinal de la cuenca en la concentración de Zn en relación al TEL. Zn: zinc; TEL: nivel umbral de efecto; EPA: Agencia de Protección Ambiental; NOAA: Administración Oceánica y Atmosférica Nacional, ambas de Estados Unidos de América.

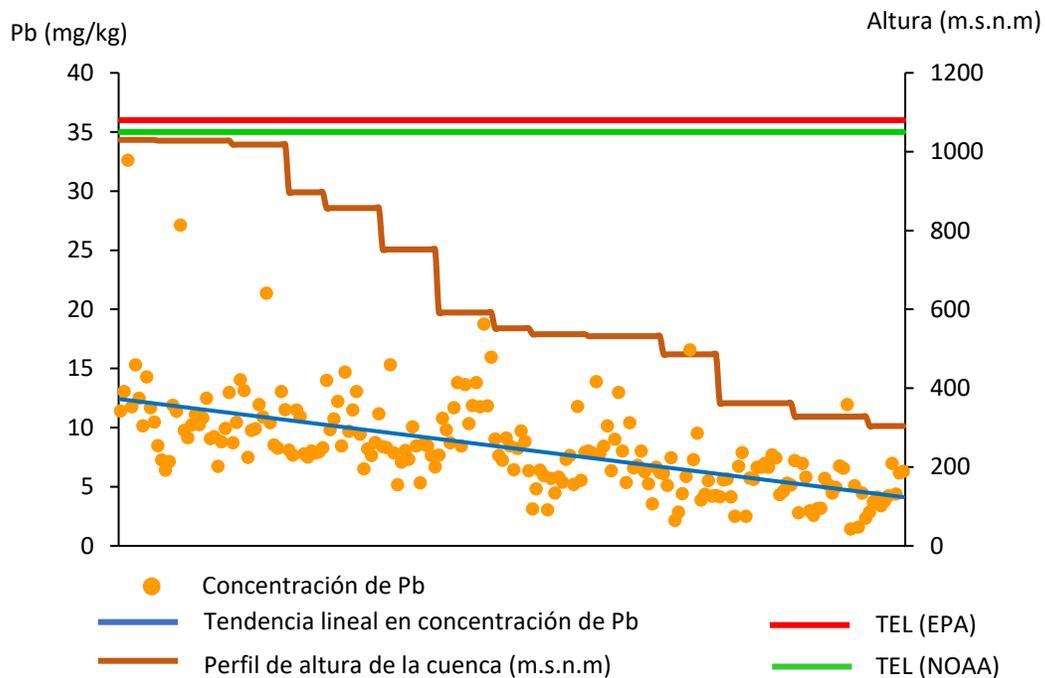


Figura 18. Tendencia a lo largo del gradiente altitudinal de la cuenca en la concentración de Pb en relación al TEL. Pb: plomo; TEL: nivel umbral de efecto; EPA: Agencia de Protección Ambiental; NOAA: Administración Oceánica y Atmosférica Nacional, ambas de Estados Unidos de América.

#### 4.2 Incidencia de deformidades. Patrones espacio-temporales

Los valores de las variables que caracterizan la incidencia de deformidades en cada sitio de muestreo a lo largo del estudio pueden verse en el Cuadro 11. Analizando los datos de conjunto, solo el 7 % de las 5000 larvas estudiadas con este objetivo presentaron deformidades, las deformidades ligeras (Tipo 1) se mostraron claramente predominantes, encontrándose en 246 larvas (4.9 %), mientras las deformidades severas (Tipo 2 + 3) solo estuvieron presentes en 115 larvas (2.1 %) (Fig. 19). Durante el muestreo de noviembre de 2016 (año 1, lluvia) de las 1000 larvas analizadas solo 73 presentaron deformidades (% DT = 7.3), la mayoría de ellas Tipo

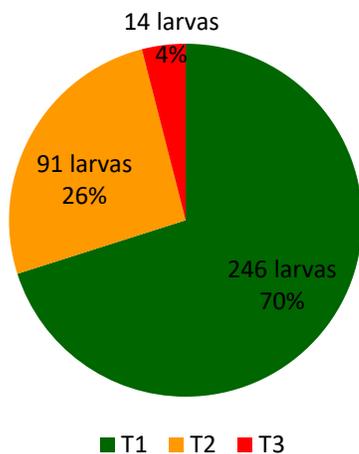


Figura 19. Número de larvas con cada tipo de deformidad y porcentaje de cada tipo de deformidad respecto al total de larvas deformadas. T1: deformidades Tipo 1; T2: deformidades Tipo 2; T3: deformidades Tipo 3

1 (% DL = 5.2) mientras que solo el 2.1 % de las larvas estudiadas presentó deformidades tipos 2 o 3 (% DS= 2.1). Durante el muestreo de junio de 2017 (año 1, seca) de las 732 larvas analizadas 57 presentaron deformidades (% DT = 7.8), la mayoría de ellas Tipo 1 (% DL = 5.9) mientras que solo el 1.9 % de las larvas estudiadas presentó deformidades tipos 2 o 3 (% DS= 1.9). Durante el muestreo de octubre de 2017 (año 2, lluvia) de las 1727 larvas analizadas 99 presentaron deformidades (% DT = 5.7), la mayoría de ellas Tipo 1 (% DL = 3.9) mientras que solo el 1.8 % de las larvas estudiadas presentó deformidades tipos 2 o 3 (% DS= 1.8). Durante el muestreo de mayo de 2018 (año 2, seca) de las 1541 larvas analizadas 122 presentaron deformidades (% DT = 7.9), la mayoría de ellas Tipo 1 (% DL = 5.4) mientras que el 2.5 % de las larvas estudiadas presentó deformidades tipos 2 o 3 (% DS= 2.5).

En el 60 % de las combinaciones de sitio y fechas estudiados, los valores del TSI se encontraron dentro del rango de la categoría de “Aguas limpias” (Fig. 20), mientras que el 38 % (16 casos) se enmarcaron en la categoría de “Estrés no tóxico”. Solo un caso, el sitio L durante el periodo de lluvias de noviembre de 2016 presentó un valor del TSI que indicaba “Aguas tóxicas”.

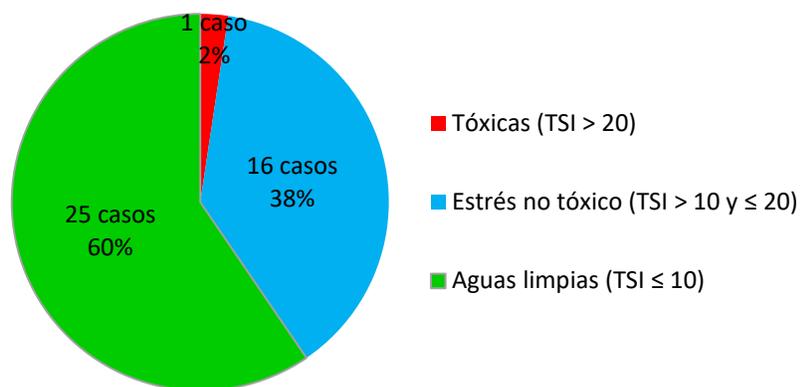


Figura 20. Número de casos (combinaciones de sitio/fecha) y porcentaje respecto al total de casos estudiados en cada categoría del TSI. TSI: Toxic Score Index.

Cuadro 11. Incidencia de deformidades en ejemplares de Chironomidae en cada sitio y fecha de muestreo en la cuenca del río Sonora, México. Nov/16: noviembre de 2016; Jun/17: Junio de 2017; Oct/17: octubre de 2017; May/18: mayo de 2018; A: Bacanuchi; B: La Trampa; C: Bacoachi; D: Chinapa; E: Tetoachi; F: Cucurpe; G: Aconchi; H: Puente Baviácora; I: La Capilla; J: Mazocahui; K: Rayón; L: El Gavilán; M: El Orégano; N: San Miguel; #: número de larvas estudiadas para el sitio/fecha, T1: deformidades Tipo 1; T2: deformidades Tipo 2; T3: deformidades Tipo 3; TSI: Toxic Score System; % DT: porcentaje de deformidades totales; % DL: porcentaje de deformidades ligeras; % DS: porcentaje de deformidades severas.

Año	Época	Posición en la cuenca	Sitio	#	Tipo de deformidades			TSI	% DT	% DS	% DL	
					T1	T2	T3					
1 (Nov/16 Jun/17)	Lluvia (Nov/16)	Alta	B	90	7	1	0	10	8.9	1.1	7.8	
			C	139	6	1	1	7.9	5.8	1.4	4.3	
			D	111	3	4	1	12.6	7.2	4.5	2.7	
		Media	E	67	2	0	0	3	3	0	3	
			F	95	5	1	1	10.5	7.4	2.1	5.3	
			G	108	7	0	0	6.5	6.5	0	6.5	
		Baja	I	34	1	0	0	2.9	2.9	0	2.9	
			K	39	5	0	0	12.8	12.8	0	12.8	
			L	111	7	2	5	23.4	12.6	6.3	6.3	
	Seca (Jun/17)	Alta	M	114	7	2	0	9.6	7.9	1.8	6.1	
			N	92	2	2	0	6.5	4.3	2.2	2.2	
			Subtotal del periodo			1000	52	13	8	7.3	2.1	5.2
		Media	C	126	7	0	0	5.6	5.6	0	5.6	
			G	104	7	2	0	10.6	8.7	1.9	6.7	
			I	129	8	4	0	12.4	9.3	3.1	6.2	
		Baja	H	128	10	1	0	9.4	8.6	0.8	7.8	
			J	111	5	3	2	15.3	9.0	4.5	4.5	
			L	82	2	0	0	2.4	2.4	0	2.4	
			N	52	4	2	0	15.4	11.5	3.8	7.7	
Subtotal del periodo			732	43	12	2	7.8	1.9	5.9			
2 (Oct/17 May/18)	Lluvia (Oct/17)	Alta	A	145	13	4	1	16.6	12.4	3.5	9.0	
			B	78	2	0	0	2.6	2.6	0	2.6	
			C	126	5	5	0	11.9	7.9	4.0	4.0	
		Media	D	148	3	1	0	3.4	2.7	0.7	2.0	
			E	127	3	0	0	2.4	2.4	0	2.4	
			F	141	2	2	0	4.3	2.8	1.4	1.4	
		Baja	G	136	4	1	0	4.4	3.7	0.7	2.9	
			I	111	4	1	0	5.4	4.5	0.9	3.6	
			K	143	8	2	1	10.5	7.7	2.1	5.6	
	Seca (May/18)	Alta	J	198	5	3	0	5.6	4.0	1.5	2.5	
			L	135	6	2	1	9.6	6.7	2.2	4.4	
			M	125	6	4	0	11.2	8	3.2	4.8	
		Media	N	114	7	3	0	11.4	8.8	2.6	6.1	
			Subtotal del periodo			1727	68	28	3	5.7	1.8	3.9
			Baja	A	86	4	2	0	9.3	7.0	2.3	4.7
	B	51		4	0	0	7.8	7.8	0	7.8		
	C	171		7	3	0	7.6	5.8	1.8	4.1		
	Seca (May/18)	Media	E	88	4	3	0	11.4	8.0	3.4	4.5	
			F	47	2	1	0	8.5	6.4	2.1	4.3	
H			227	13	5	0	10.1	7.9	2.2	5.7		
Baja		I	272	21	12	0	16.5	12.1	4.4	7.7		
		K	159	10	3	0	10.1	8.2	1.9	6.3		
		J	273	11	5	1	8.8	6.2	2.2	4.0		
Seca (May/18)	Baja	L	81	4	2	0	9.9	7.4	2.5	4.9		
		N	86	3	2	0	8.1	5.8	2.3	3.5		
		Subtotal del periodo			1541	83	38	1	7.9	2.5	5.4	
<b>TOTAL:</b>				<b>5000</b>	<b>246</b>	<b>91</b>	<b>14</b>	<b>7.0</b>	<b>2.1</b>	<b>4.9</b>		

Al analizar las variaciones espaciales y temporales en las variables que caracterizan la incidencia de deformidades (Cuadro 12), no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre sectores de cuenca, año, época de muestreo o sus interacciones para el TSI, % DT o % DL. Solo se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el % DS entre sectores de cuenca (PERMANOVA,  $p=0.0498^*$ ), año de muestreo (PERMANOVA,  $p=0.0191^*$ ) y en las interacciones entre posición en la cuenca y época de muestreo (PERMANOVA,  $p=0.0188^*$ ) y posición en la cuenca, época y año de muestreo (PERMANOVA,  $p=0.0255^*$ ).

Cuadro 12. Resultados del PERMANOVA con los datos de la incidencia de deformidades en ejemplares de Chironomidae en cada sitio y fecha de muestreo en la cuenca del río Sonora, México. Se utilizaron como variables predictoras posición en la cuenca, época y año de colecta y sus interacciones y como variables dependientes TSI, % DT, % DL, % DS. \*:  $p < 0.05$  = diferencia estadísticamente significativa; gl: grados de libertad; F: estadístico de la prueba; p(Pm): valor de p calculado por el PERMANOVA; TSI: Toxic Score System; % DT: porcentaje de deformidades totales; % DL: porcentaje de deformidades ligeras; % DS: porcentaje de deformidades severas.

Incidencia de deformidades	Factor (es) de variación	gl	F	p (Pm)
TSI	Posición en la cuenca	2	1.0052	0.3808
	Época	1	0.80174	0.3799
	Año	1	0.012979	0.942
	Posición en la cuenca x época	2	1.3639	0.2804
	Posición en la cuenca x año	2	0.078889	0.9338
	Época x año	1	1.2205	0.2753
	Posición en la cuenca x época x año	2	0.38408	0.6899
	Residuales	30		
	Total	41		
% DT	Posición en la cuenca	2	0.76288	0.4701
	Época	1	1.484	0.2316
	Año	1	0.21995	0.6447
	Posición en la cuenca x época	2	1.1056	0.3461
	Posición en la cuenca x año	2	0.028347	0.9777
	Época x año	1	1.0803	0.3129
	Posición en la cuenca x época x año	2	0.18684	0.8366
	Residuales	30		
	Total	41		
% DL	Posición en la cuenca	2	1.5847	0.2168
	Época	1	2.1401	0.1587
	Año	1	1.417	0.2406
	Posición en la cuenca x época	2	0.66998	0.5237
	Posición en la cuenca x año	2	0.22643	0.8023
	Época x año	1	0.45237	0.5067
	Posición en la cuenca x época x año	2	0.20459	0.8166
	Residuales	30		
	Total	41		
% DS	Posición en la cuenca	2	3.4813	0.0498*
	Época	1	0.062484	0.8149
	Año	1	6.2352	0.0191*
	Posición en la cuenca x época	2	4.6548	0.0188*
	Posición en la cuenca x año	2	0.8375	0.4421
	Época x año	1	0.38354	0.5428
	Posición en la cuenca x época x año	2	4.0964	0.0255*
	Residuales	30		
	Total	41		

Debido a que la única variable que mostró variación estadísticamente significativa fue el % DS solo desarrollamos el análisis por pares en este caso. Dicho análisis arrojó los resultados que se muestran en el Cuadro 13. Como se aprecia en la Figura 21, al analizar todo el conjunto de datos, el % DS resultó significativamente mayor en la cuenca baja respecto a la cuenca alta (PERMANOVA,  $p=0.0376^*$ ) y la media (PERMANOVA,  $p=0.0193^*$ ). Temporalmente resultó significativamente superior el % DS en el primer año de muestreo respecto al segundo (PERMANOVA,  $p=0.0183^*$ ) (Fig. 22).

Cuadro 13. Resultados del análisis por pares de PERMANOVA con los datos de la incidencia de deformidades en ejemplares de Chironomidae en cada sitio y fecha de muestreo en la cuenca del río Sonora, México. Se utilizaron como variables predictoras posición en la cuenca, época y año de colecta y sus interacciones y como variable dependiente el % DS. \*:  $p < 0.05$ = diferencia estadísticamente significativa; p(Pm): valor de p calculado por el PERMANOVA.

Factor de variación	Análisis	Niveles		p (Pm)	
Posición en la cuenca	Espacial	Alta / media		0.3467	
		Alta / baja		0.0376*	
		Media / baja		0.0193*	
Año	Temporal	Año 1 / Año 2		0.0183*	
Posición en la cuenca x época	Espacial	Lluvia	Alta / media	0.1999	
		Lluvia	Alta / baja	0.1214	
		Lluvia	Media / baja	0.0004***	
		Seca	Alta / media	0.0487*	
		Seca	Alta / baja	0.179	
		Seca	Media / baja	0.6993	
	Temporal	Alta	Lluvia / seca	0.317	
		Media	Lluvia / seca	0.0017**	
		Baja	Lluvia / seca	0.5021	
Posición en la cuenca x época x año	Espacial	Año 1	Lluvias	Alta/ media	0.1011
		Año 1	Lluvias	Alta / baja	0.4169
		Año 1	Lluvias	Media/ baja	0.0975
		Año 2	Lluvias	Alta/ media	0.5476
		Año 2	Lluvias	Alta / baja	0.2588
		Año 2	Lluvias	Media/ baja	0.1117
		Año 1	Secas	Alta/ media	0.2567
		Año 1	Secas	Alta / baja	0.7513
		Año 1	Secas	Media/ baja	1
		Año 2	Secas	Alta/ media	0.554
	Temporal	Año 2	Secas	Alta / baja	0.689
		Año 2	Secas	Media/ baja	0.9003
		Año 1	Alta	Lluvia / seca	0.3283
		Año 2	Alta	Lluvia / seca	0.6904
		Año 1	Media	Lluvia / seca	0.0985
		Año 2	Media	Lluvia / seca	0.2042
		Año 1	Baja	Lluvia / seca	0.7997
		Año 2	Baja	Lluvia / seca	1
		Lluvias	Alta	Año 1/ Año 2	0.7385
		Seca	Alta	Año 1/ Año 2	0.3293
Lluvias	Media	Año 1/ Año 2	0.1032		
Seca	Media	Año 1/ Año 2	0.4905		
Lluvias	Baja	Año 1/ Año 2	0.6862		
Seca	Baja	Año 1/ Año 2	1		

Al analizar la interacción entre los factores posición en la cuenca y época de muestreo se aprecia, durante la época de secas, un % DS estadísticamente superior, aunque por ajustado margen (PERMANOVA,  $p=0.0487^*$ ) en la cuenca media respecto a la alta (Fig. 23). Mientras que durante la época de lluvias se encuentra una incidencia de deformidades severas estadísticamente superior (PERMANOVA,  $p=0.0004^*$ ) en la cuenca baja respecto a la media (Fig. 24). También se registra dentro de esta misma interacción, pero ahora desde la perspectiva temporal, valores significativamente superiores del % DS (PERMANOVA,  $p=0.0017^*$ ) en la cuenca media durante la época de secas respecto a la de lluvias (Fig. 25).

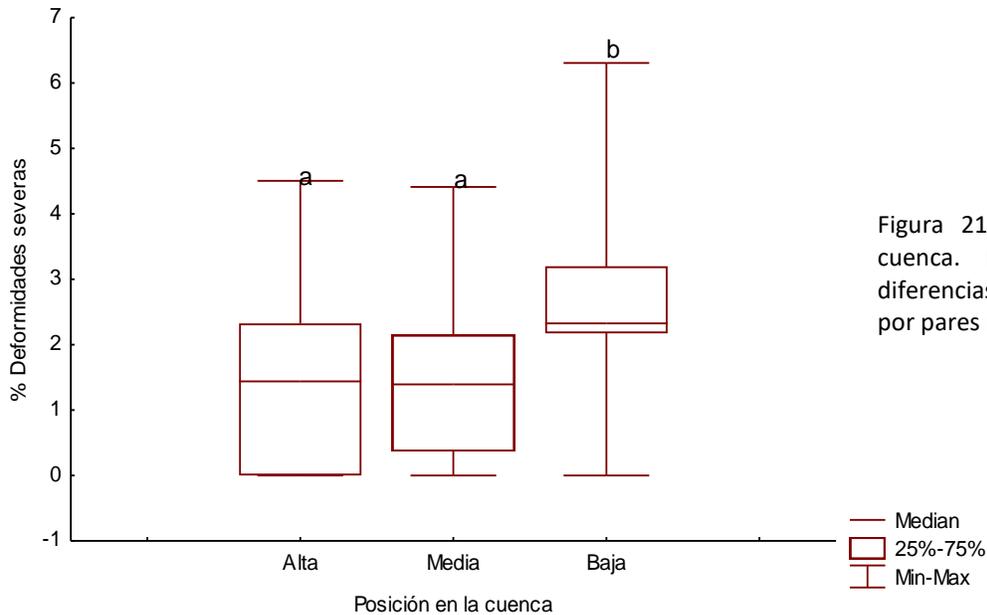


Figura 21. % DS en cada sector de cuenca. Las letras (a, b) indican diferencias significativas de la prueba por pares de PERMANOVA

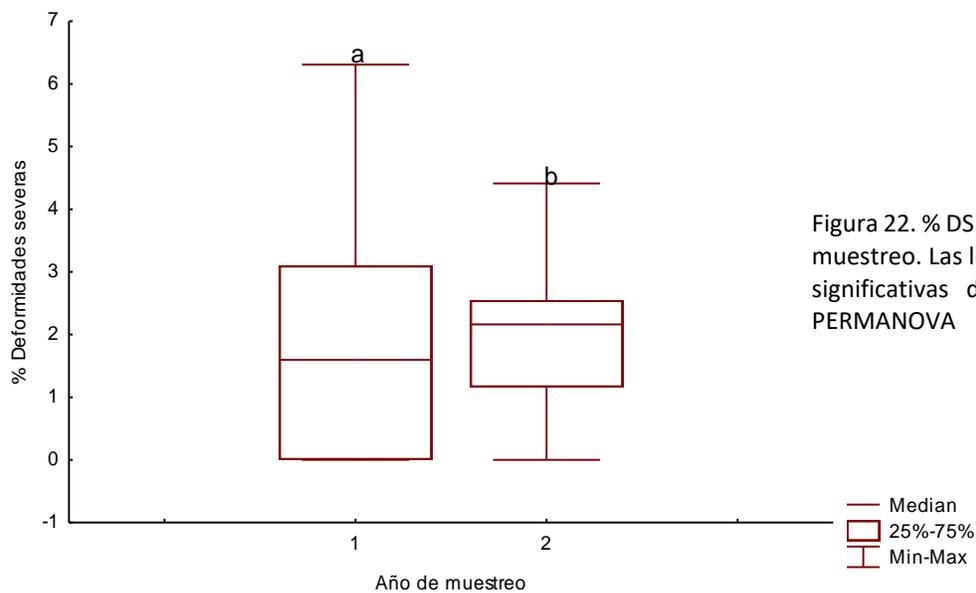


Figura 22. % DS en el primer y segundo año de muestreo. Las letras (a, b) indican diferencias significativas de la prueba por pares de PERMANOVA

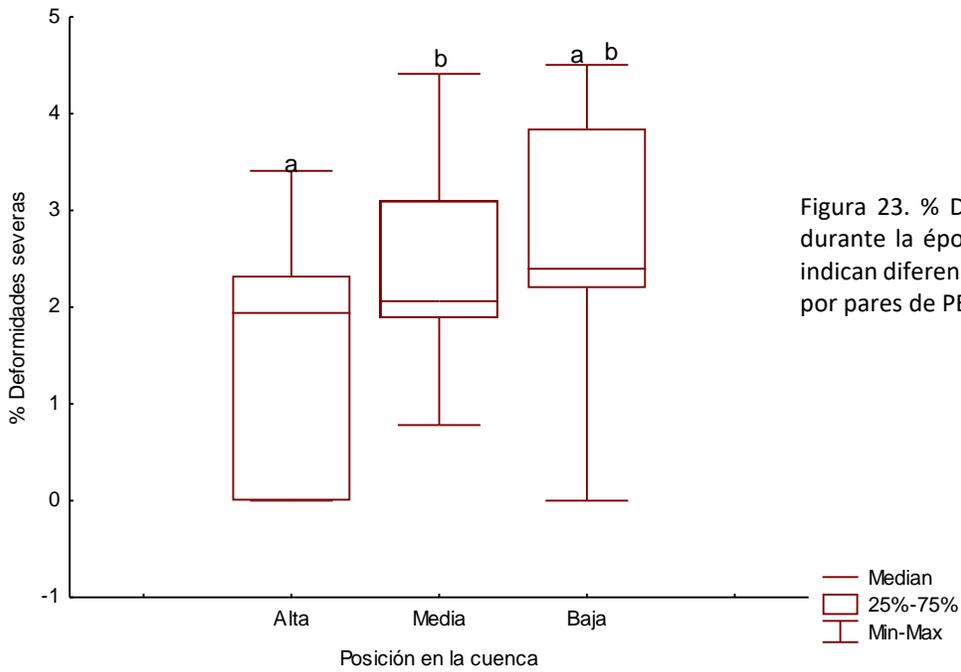


Figura 23. % DS en los sectores de cuenca durante la época de secas. Las letras (a, b) indican diferencias significativas de la prueba por pares de PERMANOVA.

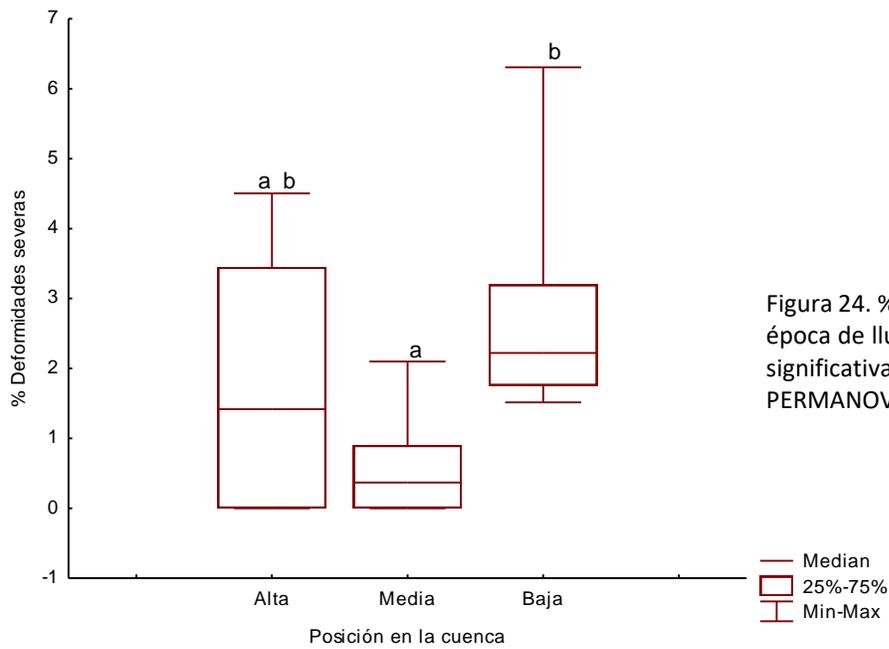


Figura 24. % DS en los sectores de cuenca durante la época de lluvias. Las letras (a, b) indican diferencias significativas de la prueba por pares de PERMANOVA.

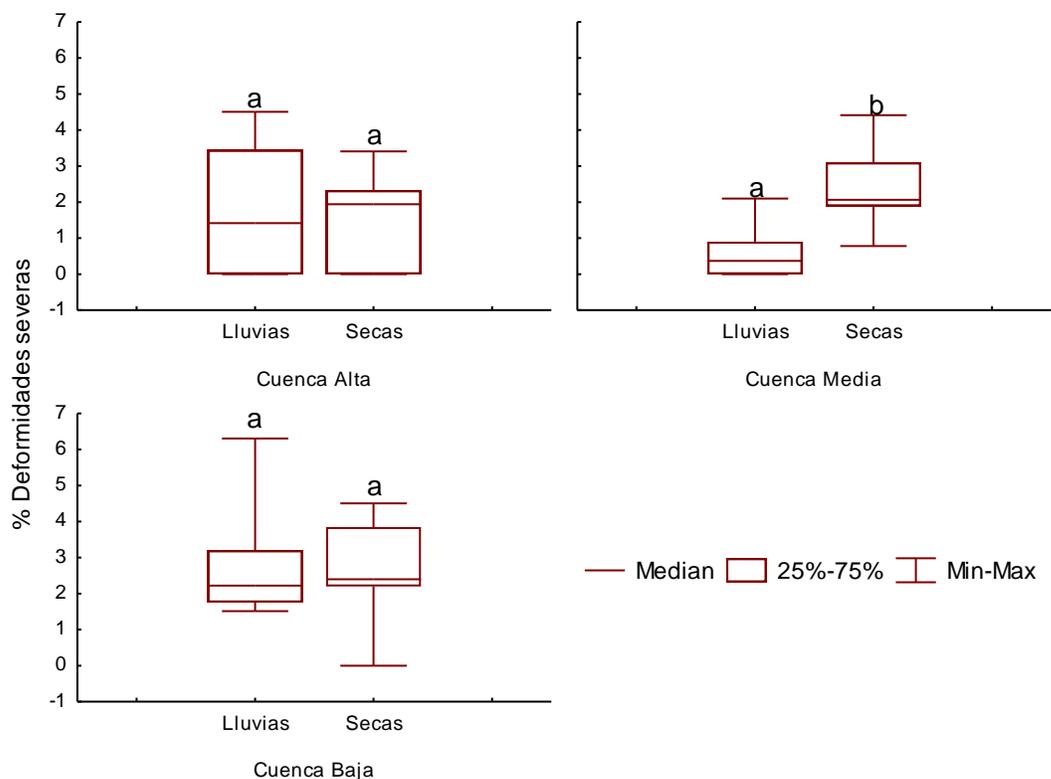


Figura 25. % DS en época de lluvias y secas para cada sector de cuenca. Las letras (a, b) indican diferencias significativas de la prueba por pares de PERMANOVA.

#### 4.3 Relación entre la incidencia de deformidades, concentración de metales en el sedimento y las variables ambientales evaluadas

Las variables más relevantes seleccionadas por el algoritmo de CART como predictores del % DS resultaron ser: el porcentaje de materia orgánica en el sedimento, salinidad, temperatura del agua, porcentaje de limos y arcillas en el sedimento, altura del sitio de muestreo (m.s.n.m) y fecha de muestreo. Ninguno de los metales fue considerado relevante para explicar y predecir los valores del % DS.

El costo relativo del árbol de regresiones óptimo construido por CART fue de 0.129. Sin embargo, dicho árbol contaba con 30 nodos terminales lo que hacía poco práctica su interpretación con base en nuestros datos. A partir de la secuencia de árboles generados por CART seleccionamos el árbol de regresiones cuya representación puede verse en la Figura 26. El árbol seleccionado tiene un costo relativo de 0.273, 10 nodos terminales y un porcentaje promedio de predicciones correctas del 86.35 %.

Como puede verse en el resumen ofrecido en el Cuadro 14 un incremento en el % DS está asociado a un incremento del porcentaje de materia orgánica en el sedimento, temperatura del agua, salinidad, % de limos + arcillas en la estructura granulométrica del sedimento y a la toma de muestras durante el primer año de muestreo (noviembre/2016 y junio/2017). Mientras que una disminución en el % DS se asocia a un

incremento en la altura sobre el nivel del mar del sitio de muestreo y a la toma de muestras durante el segundo año de muestreo (octubre/2017 y mayo/2018).

La definición de cada nodo parental o terminal, comprendida como el conjunto de variables predictoras y sus rangos que determinan determinados valores promedio del % DS, aparecen en los Cuadros 15 y 16 respectivamente. Los mayores valores del % DS en los nodos parentales se aprecian en el Nodo 9 y en los terminales en el Nodo 8. Ambos definidos por los mayores valores del porcentaje de materia orgánica en el sedimento, temperatura del agua, salinidad, porcentaje de limos y arcillas en la estructura granulométrica del sedimento y porque las muestras de larvas de quironómidos estudiadas proceden de los muestreos del primer año de trabajo (noviembre/2016 y junio/2017).

Cuadro 14. Respuesta del porcentaje de deformidades severas (% DS) a las variaciones en las variables predictoras (variables continuas) o sus estados (variables categóricas). % MO: porcentaje de materia orgánica en el sedimento; % limos + arcillas: porcentaje de limos y arcillas en la composición granulométrica del sedimento.

Tipo de variables	Comportamiento de la variable	Variables	Entonces, el % DS:
Continuas	Si aumenta:	% MO	Aumenta
		Temperatura	Aumenta (excepción del nodo terminal 10)
		Salinidad	Aumenta
		% limos + arcillas	Aumenta
		Altura sobre el nivel del mar	Disminuye
Categóricas	Si el muestreo se realizó durante:	Noviembre/2016, Junio/2017	Es mayor
		Octubre/2017, Mayo/2018	Es menor

Cuadro 15. Características, combinación de valores o estados de las variables que definen los nodos y promedio del porcentaje de deformidades severas (% DS) correspondiente a cada nodo parental del árbol de regresiones. % MO: porcentaje de materia orgánica en el sedimento; % limos + arcillas: porcentaje de limos y arcillas en la composición granulométrica del sedimento; Salinidad en mg/l; Temperatura en °C; Fecha (1 y 2): noviembre de 2016 y junio de 2017.

Tipo	Información del nodo		Definición	Promedio % DS
	Número	Número de casos		
Parental	2	50	% MO ≤ 1.66	0.888
	3	160	% MO > 1.66	2.269
	4	35	% MO > 1.66 Salinidad ≤ 0.31	1.204
	5	125	% MO > 1.66 Salinidad > 0.31	2.567
	6	115	% MO > 1.66 Salinidad > 0.31 % limos + arcillas > 1.92	2.758
	7	110	% MO > 1.66 Salinidad > 0.31 % limos + arcillas > 1.92 Temperatura ≤ 34.35	2.883
	8	100	% MO > 1.66 Salinidad > 0.31 % limos + arcillas > 1.92 Temperatura ≤ 34.35 Temperatura > 21.12	3.028
	9	25	% MO > 1.66 Salinidad > 0.31 % limos + arcillas > 1.92 Temperatura ≤ 34.35 Temperatura > 21.12 Fecha (1 y 2)	4.120

Cuadro 16. Características, combinación de valores o estados de las variables que definen los nodos y promedio del porcentaje de deformidades severas (% DS) correspondiente a cada nodo terminal del árbol de regresiones. % MO: porcentaje de materia orgánica en el sedimento; % limos + arcillas: porcentaje de limos y arcillas en la composición granulométrica del sedimento; m.s.n.m: altura sobre el nivel del mar en metros; Salinidad en mg/l; Temperatura en °C; Fecha (1 y 2): noviembre de 2016 y junio de 2017; Fecha (3 y 4): octubre de 2017 y mayo de 2018.

Tipo	Información del nodo		Definición	Promedio % DS
	Número	Número de casos		
Terminal	1	30	% MO ≤ 1.66 Temperatura ≤ 25.14	0.130
	2	20	% MO ≤ 1.66 Temperatura > 25.14	2.025
	3	20	% MO > 1.66 Salinidad ≤ 0.31 m.s.n.m ≤ 877	1.937
	4	15	% MO > 1.66 Salinidad ≤ 0.31 m.s.n.m > 877	0.0225
	5	10	% MO > 1.66 Salinidad > 0.31 % limos + arcillas ≤ 1.92	0.368
	6	10	% MO > 1.66 Salinidad > 0.31 % limos + arcillas > 1.92 Temperatura ≤ 34.35 Temperatura ≤ 21.12	1.433
	7	75	% MO > 1.66 Salinidad > 0.31 % limos + arcillas > 1.92 Temperatura ≤ 34.35 Temperatura > 21.12 Fecha (3 y 4)	2.665
	8	20	% MO > 1.66 Salinidad > 0.31 % limos + arcillas > 1.92 Temperatura ≤ 34.35 Temperatura > 21.12 Fecha (1 y 2) m.s.n.m ≤ 962.5	4.790
	9	5	% MO > 1.66 Salinidad > 0.31 % limos + arcillas > 1.92 Temperatura ≤ 34.35 Temperatura > 21.12 Fecha (1 y 2) m.s.n.m > 962.5	1.439
	10	5	% MO > 1.66 Salinidad > 0.31 % limos + arcillas > 1.92 Temperatura > 34.35	0.000

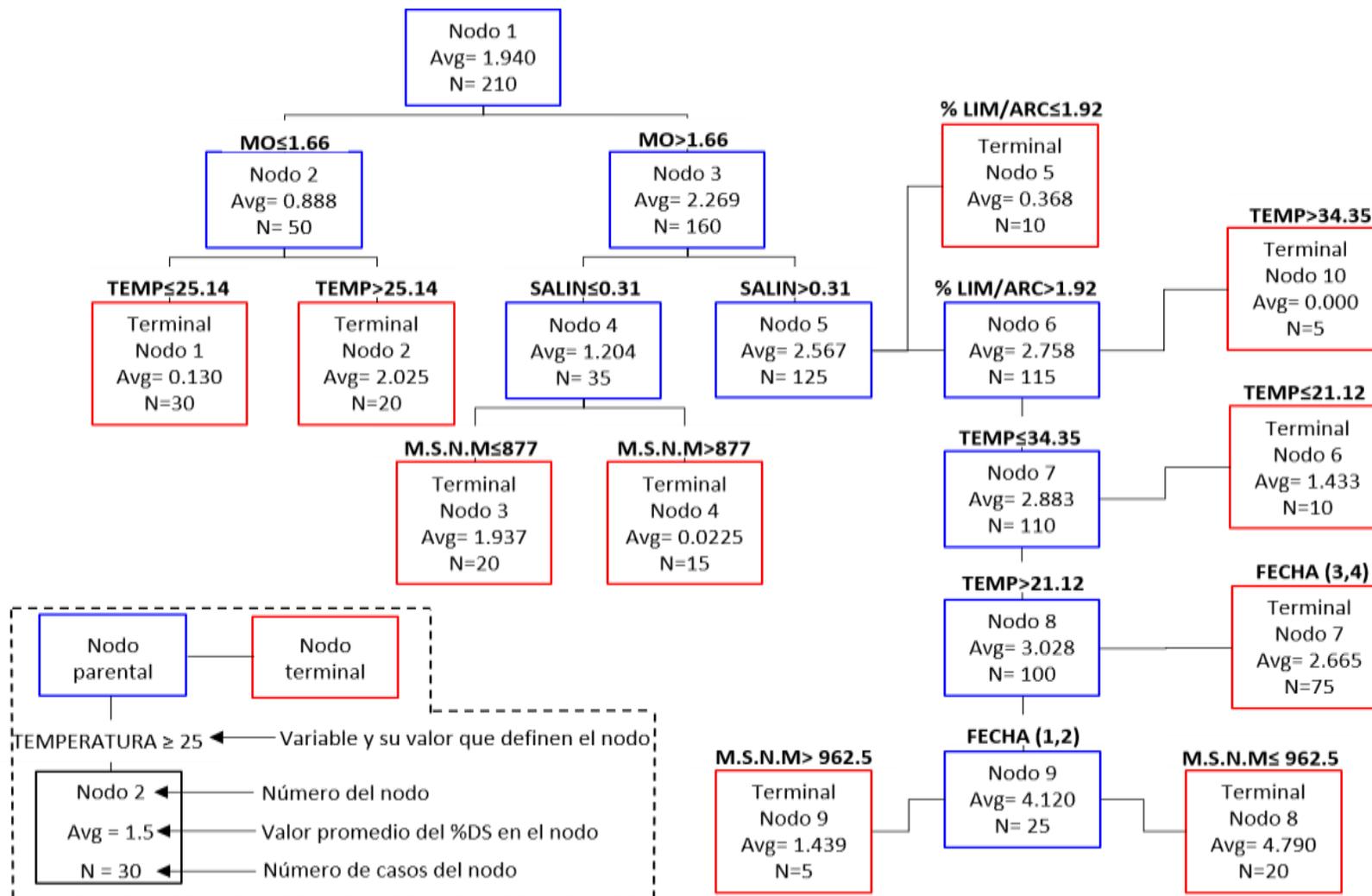


Figura 26. Árbol de regresiones con el porcentaje de deformidades severas (% DS) como variable de respuesta. MO: porcentaje de materia orgánica en el sedimento; % LIM/ARC: porcentaje de limos y arcillas en la composición granulométrica del sedimento; TEMP: temperatura (°C); SALIN: salinidad (mg/l); M.S.N.M: altura (m.s.n.m); FECHA (1,2): Noviembre de 2016, Junio de 2017; FECHA (3,4): Octubre de 2017, Mayo de 2018.

#### 4.4 Variaciones intertaxonómicas

A lo largo de nuestro estudio solo nueve taxones cumplieron los requisitos preestablecidos de número mínimo de larvas de cuarto estadio para ser evaluados. De ellos, solamente tres, *Tanytarsus sp.*, *Polypedilum sp.* y en menor medida, *Dicrotendipes sp.*, resultaron relativamente comunes (Fig. 27) de manera que coincidieran en fecha y lugar haciendo posible la comparación entre ellos de la incidencia de deformidades. El resto de los taxones que pudieron ser evaluados: *Chironomus sp.*, *Paratendipes sp.*, *Pseudochironomus sp.*, *Cricotopus sp.*, *Eukiefferiella sp.* y *Tanypus sp.* sólo estuvieron presentes en el 5 % o menos de las combinaciones de fechas/sitios (Fig. 27) y por tanto no son considerados en el análisis comparativo que sigue.

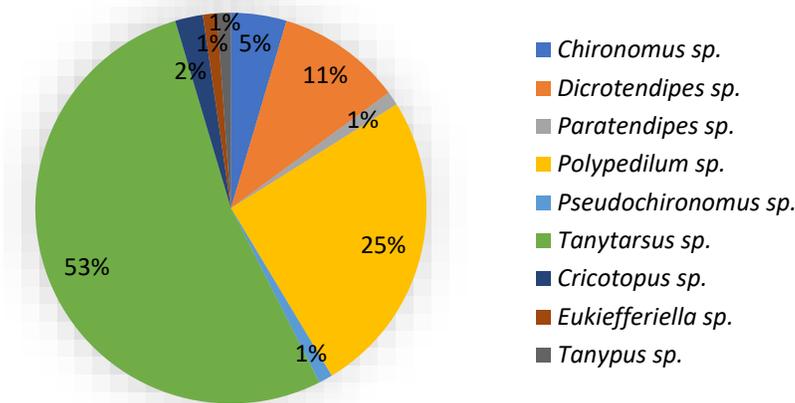


Figura 27. Porcentaje del total de sitios y fechas en las que estuvieron presentes los taxones de Chironomidae estudiados en la cuenca del río Sonora, México.

Los valores del TSI, el % DT, % DS y % DL para todas las combinaciones de sitios y fechas donde coinciden *Tanytarsus sp.*, *Polypedilum sp.* y *Dicrotendipes sp.* o al menos dos de ellos aparecen en el Cuadro 17. Las diferencias intertaxonómicas en cualquiera de las variables evaluadas son muy notables. La mayor diferencia en los valores del TSI se aprecia entre *Tanytarsus sp.* y *Polypedilum sp.* durante el muestreo de Junio de 2017 en el sitio C, con casi el triple del valor de este índice en *Polypedilum sp.* respecto a *Tanytarsus sp.* Mientras que en el muestreo de mayo 2018 en ese mismo sitio los valores del TSI son muy semejantes para ambos taxones. El % DS muestra su mayor diferencia entre *Tanytarsus sp.* y *Dicrotendipes sp.* durante el muestreo de febrero de 2015 en el sitio O siendo del 5.9 % para *Tanytarsus sp.* y de 0 % para *Dicrotendipes sp.* Sin embargo, este porcentaje se mantuvo menos variable en el resto de los sitios y fechas mostrándose muy semejante entre *Tanytarsus sp.* y *Polypedilum sp.* en varios sitios y fechas (sitio B, J y F en octubre de 2017; sitio I en mayo de 2018). El % DT y el % DL muestran un comportamiento semejante en la mayoría de los casos, las mayores diferencias entre taxones se aprecian entre *Tanytarsus sp.* y *Polypedilum sp.* en el sitio I durante el muestreo de junio de 2017 resultando ambos porcentajes aproximadamente el doble en el segundo taxón respecto al primero. Otro tanto ocurre en el sitio D durante el muestreo de octubre de 2017 y

en los sitios B y F durante el muestreo de mayo de 2018, en todos estos sitios y fechas el % DT y el % DL se muestra aproximadamente el doble en *Polypedilum* sp. respecto a *Tanytarsus* sp. También se aprecian marcadas diferencias en el % DT y el % DL entre *Dicrotendipes* sp. y *Tanytarsus* sp., aproximadamente el doble de ambos porcentajes en el primer taxón respecto al segundo, durante el muestreo de mayo de 2018 en el sitio F. Mientras que en el muestreo de octubre de 2017 en el sitio J, *Dicrotendipes* sp. muestra aproximadamente la mitad del valor de los % DT y el % DL que muestra en ese mismo sitio y fecha *Polypedilum* sp., siendo esta la mayor diferencia en estos porcentajes entre ambos taxones.

Cuadro 17. Incidencia de deformidades en *Tanytarsus* sp. (T), *Polypedilum* sp. (P) y *Dicrotendipes* sp. (Di) en los sitios y fechas en las que estuvieron presentes los tres o al menos dos de ellos en la cuenca del río Sonora, México. TSI: Toxic Score System; % DT: porcentaje de deformidades totales; % DL: porcentaje de deformidades ligeras; % DS: porcentaje de deformidades severas.

Periodo de muestreo	Sitio	TSI			% DT			% DS			% DL		
		T	P	Di	T	P	Di	T	P	Di	T	P	Di
Febrero de 2015	O	28.9	--	15.2	22.2	--	15.2	5.9	--	0.0	16.3	--	15.2
Abril de 2015	C	18.5	25.9	--	14.8	22.2	--	3.7	2.5	--	11.1	19.8	--
Noviembre de 2016	F	10.5	12.9	--	7.4	11.3	--	2.1	1.6	--	5.3	9.7	--
Junio de 2017	I	12.4	18.6	--	9.3	16.9	--	3.1	1.7	--	6.2	15.3	--
	C	5.6	16.4	--	5.6	11.7	--	0.0	3.9	--	5.6	7.8	--
Octubre de 2017	A	16.6	--	10.1	12.4	--	7.4	3.4	--	2.1	9.0	--	5.3
	B	2.6	6.3	--	2.6	6.3	--	0.0	0.0	--	2.6	6.3	--
	J	5.6	9.5	3.5	4.0	7.5	3.5	1.5	1.4	0.0	2.5	6.1	3.5
	L	9.6	12.7	--	6.7	8.2	--	2.2	3.2	--	4.4	5.1	--
	M	11.2	--	6.5	8.0	--	4.8	3.2	--	1.6	4.8	--	3.2
	F	4.3	6.6	--	2.8	5.3	--	1.4	1.3	--	1.4	3.9	--
	C	11.9	--	7.7	7.9	--	6.4	4.0	--	1.3	4.0	--	5.1
	D	3.4	7.5	--	2.7	7.5	--	0.7	0.0	--	2.0	7.5	--
	N	11.4	8.5	--	8.8	5.4	--	2.6	3.1	--	6.1	2.3	--
Mayo de 2018	A	9.3	15.0	13.7	7.0	10.3	11.8	2.3	3.7	1.9	4.7	6.6	9.9
	B	7.8	18.6	--	7.8	15.3	--	0.0	3.4	--	7.8	11.9	--
	I	16.5	19.4	--	12.1	14.8	--	4.4	3.7	--	7.7	11.1	--
	F	8.5	15.7	13.7	6.4	12.7	11.8	2.1	2.9	2.0	4.3	9.8	9.8
	C	7.6	7.5	--	5.8	6.6	--	1.8	0.9	--	4.1	5.7	--

Al analizar con mayor detalle la variación entre *Tanytarsus* sp. y *Polypedilum* sp., con los datos de todas las combinaciones de fechas/sitios donde coinciden, puede apreciarse gráficamente que los valores del TSI, % DT y % DL son mayores en *Polypedilum* sp., mientras que % DS tiene valores en un rango semejante para ambos taxones (Fig. 28). Estadísticamente también resultan significativamente superiores los valores del TSI (Mann-Whitney,  $p=0.02^*$ ), % DT (Mann-Whitney,  $p=0.02^*$ ) y % DL (Mann-Whitney,  $p=0.009^{**}$ ) en *Polypedilum* sp. Sin embargo, el % DS no se muestra estadísticamente diferente entre este par de taxones.

El análisis gráfico del aporte de cada tipo de deformidad (Fig. 29) indica que el mayor aporte a la variación de la incidencia de deformidades entre estos taxones se debe a las DL (Tipo 1), que resultan mucho mayores en *Polypedilum sp.* La incidencia de DS (Tipo 2 + Tipo 3) permanece semejante entre *Tanytarsus sp.* y *Polypedilum sp.*

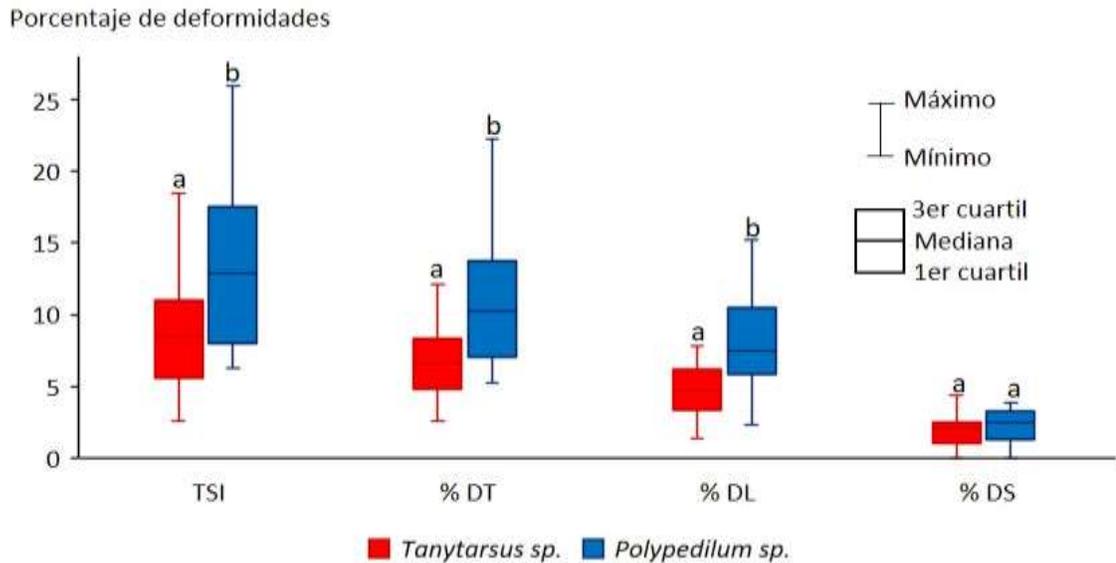


Figura. 28 Comparación de los valores del Toxic Score Index (TSI), porcentaje de deformidades totales (% DT), porcentaje de deformidades ligeras (% DL) y el porcentaje de deformidades severas (% DS) entre *Tanytarsus sp.* y *Polypedilum sp.* en los sitios y fechas donde coinciden en el Río Sonora, México. Las letras (a, b) indican diferencias estadísticamente significativas.

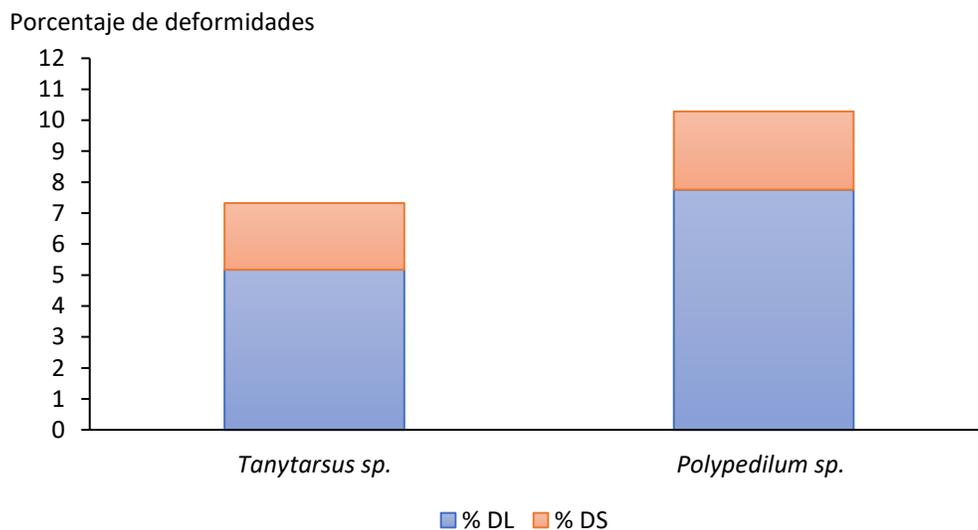


Figura 29. Comparación del aporte del porcentaje de deformidades ligeras (% DL) (Tipo 1) y del porcentaje de deformidades severas (% DS) (Tipo 2 + Tipo 3) entre *Tanytarsus sp.* y *Polypedilum sp.* en los sitios y fechas donde coinciden en el Río Sonora, México.

Porcentaje de deformidades

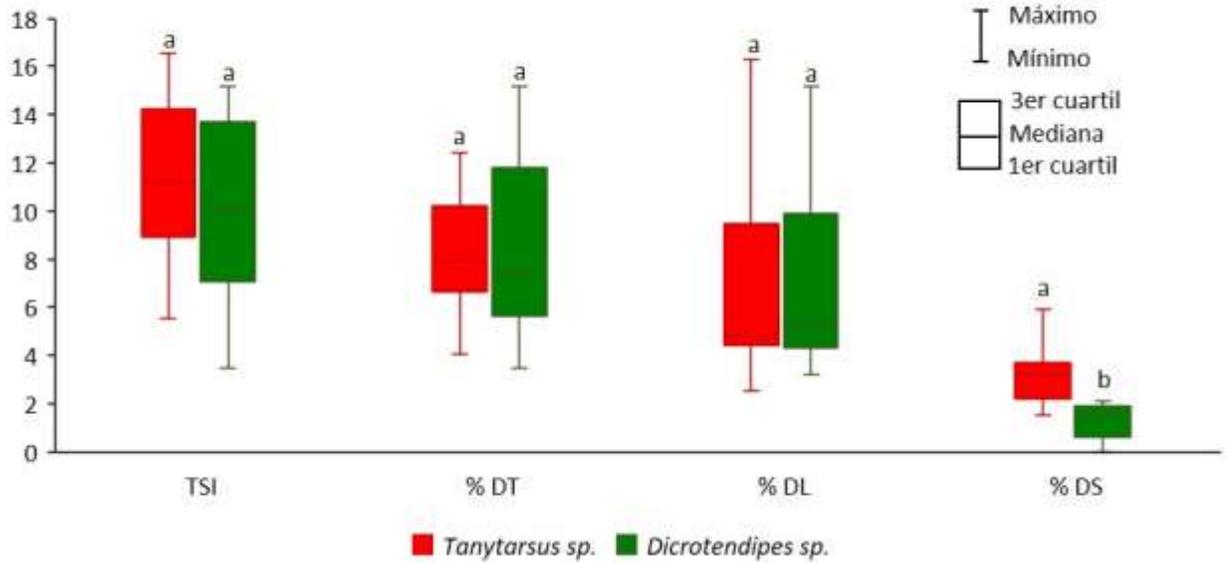


Figura. 30 Comparación de los valores del Toxic Score Index (TSI), porcentaje de deformidades totales (% DT), porcentaje de deformidades ligeras (% DL) y el porcentaje de deformidades severas (% DS) entre *Tanytarsus sp.* y *Dicrotendipes sp.* en los sitios y fechas donde coinciden. Las letras (a, b) indican diferencias estadísticamente significativas.

Porcentaje de deformidades

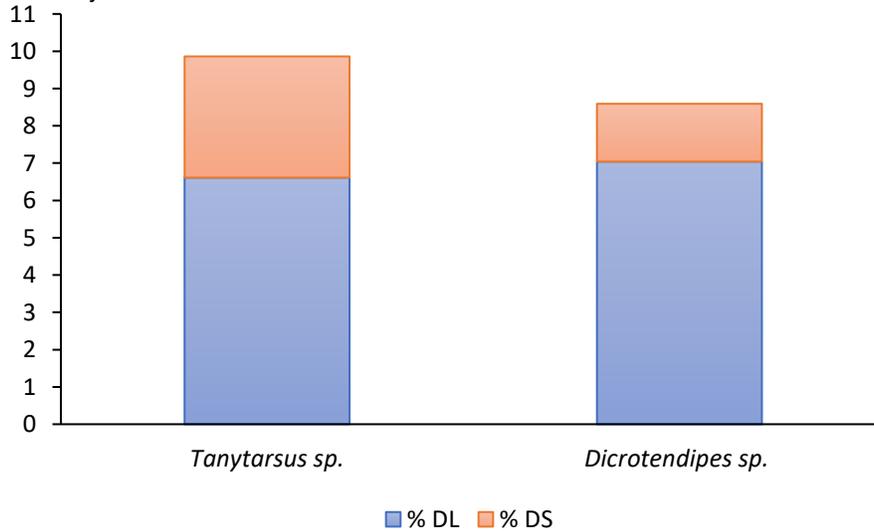


Figura. 31 Comparación del aporte del porcentaje de deformidades ligeras (% DL) (Tipo 1) y del porcentaje de deformidades severas (% DS) (Tipo 2 + Tipo 3) entre *Tanytarsus sp.* y *Dicrotendipes sp.* en los sitios y fechas donde coinciden.

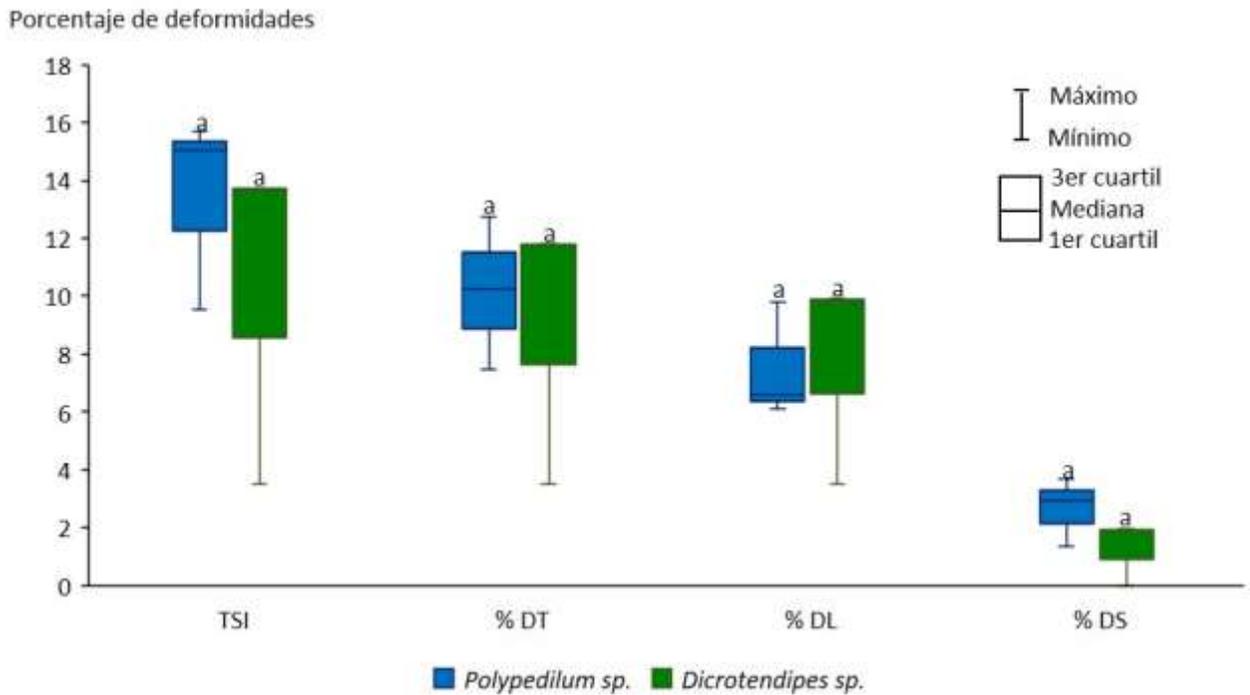


Figura. 32 Comparación de los valores del Toxic Score Index (TSI), porcentaje de deformidades totales (% DT), porcentaje de deformidades ligeras (% DL) y el porcentaje de deformidades severas (% DS) entre *Polypedilum sp.* y *Dicotendipes sp.* en los sitios y fechas

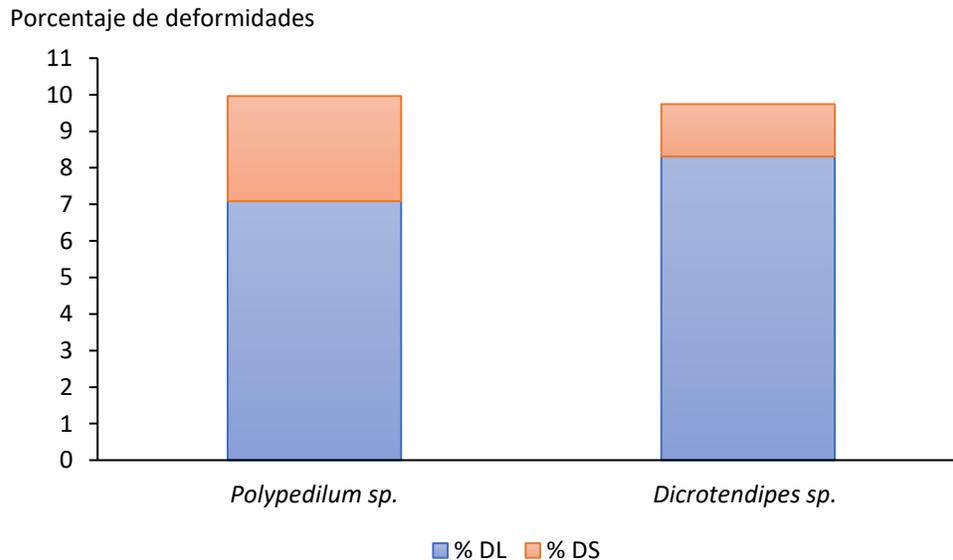


Figura 33. Comparación del aporte del porcentaje de deformidades ligeras (% DL) (Tipo 1) y del porcentaje de deformidades severas (% DS) (Tipo 2 + Tipo 3) entre *Polypedilum sp.* y *Dicotendipes sp.* en los sitios y fechas donde coinciden.

En el caso de los taxones *Tanytarsus* sp. y *Dicrotendipes* sp. se aprecia gráficamente una coincidencia en el rango marcado por los valores del TSI, % DT y % DL, mientras que % DS se muestra superior en *Tanytarsus* sp. (Fig. 30). Desde el punto de vista estadístico, ni los valores del TSI ni los de los porcentajes de deformidades totales y ligeras muestran diferencias significativas entre los taxones. Sin embargo, si resultó estadísticamente significativa la mayor incidencia de deformidades severas en *Tanytarsus* sp. respecto a *Dicrotendipes* sp. (Mann-Whitney,  $p=0.006^{**}$ ).

El análisis gráfico del aporte de cada tipo de deformidad (Fig. 31) indica que la mayor contribución a la variación de la incidencia de deformidades entre estos taxones se debe, a diferencia del par anterior, a las deformidades severas (Tipo 2 + Tipo 3) que resultan claramente más frecuentes en *Tanytarsus* sp. La incidencia de deformidades ligeras (Tipo 1) permanece muy semejante entre *Tanytarsus* sp. y *Dicrotendipes* sp. Al comparar la incidencia de deformidades en las mismas fechas y sitios entre *Polypedilum* sp. y *Dicrotendipes* sp. no se aprecia gráficamente una diferencia clara entre los valores del TSI, % DT o % DL. El % DS si se visualiza mayor en *Polypedilum* sp. que en *Dicrotendipes* sp. (Fig. 32). Sin embargo, estadísticamente, no se encontraron diferencias significativas entre estos taxones en cuanto a ninguna de las variables que caracterizan la incidencia de deformidades. El análisis gráfico del aporte de cada tipo de deformidad (Fig. 33) evidencia que, si bien la incidencia total de deformidades es semejante entre ambos taxones, existe una proporción notablemente mayor de deformidades severas (Tipo 2 + Tipo 3) en *Polypedilum* sp. respecto a *Dicrotendipes* sp. En este último taxón, las deformidades ligeras (Tipo 1) resultan más abundantes que en *Polypedilum* sp.

Los valores del TSI muestran su mayor variación entre *Polypedilum* sp. y *Tanytarsus* sp. siendo más de 30 % más altos en el primer taxón. Entre *Tanytarsus* sp. y *Dicrotendipes* sp., así como entre *Polypedilum* sp. y *Dicrotendipes* sp. las variaciones del TSI son más bajas y se encuentran en torno al 23 %. En cuanto el % DT, la mayor variación se encuentra una vez más entre las larvas de *Polypedilum* sp. y *Tanytarsus* sp. con una incidencia casi un 36 % más elevada en el primer taxón (Cuadro 18).

Cuadro 18. Variaciones porcentuales de la incidencia de deformidades entre los taxones. TSI: Toxic Score System; % DT: porcentaje de deformidades totales; % DL: porcentaje de deformidades ligeras; % DS: porcentaje de deformidades severas.

	<i>Polypedilum</i> sp. vs <i>Tanytarsus</i> sp.	<i>Tanytarsus</i> sp. vs <i>Dicrotendipes</i> sp.	<i>Polypedilum</i> sp. vs <i>Dicrotendipes</i> sp.
No. sitio/fecha donde coinciden los taxa	15	7	3
TSI	>33.6%	>23.5%	>23.2%
% DT	>35.9%	>10.4%	>11.3%
% DL	>33.3%	<6.1%	<14.7%
% DS	>15.9%	>60.7%	>52%

El % DL tuvo su mayor variación, próxima al 30%, entre *Polypedilum* sp. y *Tanytarsus* sp., mostrándose superior en el primer taxón. En los pares *Tanytarsus* sp. vs *Dicrotendipes* sp. y *Polypedilum* sp. vs *Dicrotendipes* sp. la variación del % DL fue menor al 15 %. El % DS mostró sus variaciones más importantes en los pares *Tanytarsus* sp. vs *Dicrotendipes* sp. y *Polypedilum* sp. vs *Dicrotendipes* sp. siendo más de un 50 % superiores los valores en *Tanytarsus* sp. y *Polypedilum* sp. respecto a *Dicrotendipes* sp. En el caso de *Polypedilum* sp. y *Tanytarsus* sp. el % DS mostró su menor variación, siendo apenas un 16 % superior en las larvas de *Polypedilum* sp.

## 5 Discusión

Esta investigación presenta los resultados del análisis de la variación espacial y temporal en la frecuencia y severidad de deformidades morfológicas en el mentón de larvas de quironómidos. Explora las posibles relaciones entre estas deformidades y las concentraciones de varios metales en el sedimento a la par de con otras variables ambientales, todo ello desde una perspectiva de cuenca, a lo largo de dos años de muestreos. Finalmente evalúa la variación en la incidencia de deformidades entre los taxones de quironómidos más frecuentes y abundantes. Estos resultados no cuentan con precedentes en México y pretenden, desde un punto de vista teórico, aportar a las bases necesarias para una mejor comprensión de los procesos ecológicos relacionados con la contaminación (especialmente por metales) en ecosistemas lóticos y, desde una perspectiva práctica, contribuir al empleo de los quironómidos en el biomonitoreo, especialmente como parte de un sistema de alerta temprana.

### 5.1 Patrones en la concentración de metales en el sedimento y variables químico-físicas

La concentración de metales en el sedimento es uno de los principales factores relacionado con la frecuencia y severidad de deformidades morfológicas en larvas de quironómidos (Jones et al. 2018), supuesto en el que se sustenta nuestra hipótesis. La cuenca del río Sonora es rica en yacimientos minerales originados por procesos naturales de concentración de metales. Las rocas existentes en la cuenca, son susceptibles a lixiviarse por las lluvias y terminan erosionándose y aportando a los sedimentos fluviales (Calmus et al. 2016). Considerando entonces que la fuente y concentraciones de estos metales pueden ser naturales, resulta fundamental analizar los valores de metales en el sedimento a la luz del contexto geológico local y de los niveles de metales identificados como capaces de producir un impacto mesurable en la biota. Estudios realizados en otros ecosistemas lóticos del estado de Sonora, han registrado valores máximos de metales en el sedimento muy superiores a los valores máximos registrados en nuestro estudio (Cuadros 4 al 7) (por ejemplo: 22 veces mayores que los por nosotros reportados para Cu, tres veces para Fe, 1.3 veces para Mn, cuatro veces para Pb y seis veces para Zn) atribuyéndolos a contaminación asociada a la actividad minera (Aguilar-Hinojosa et al. 2016). Los niveles de Al, As, Cu, Fe, Mn, Pb y Zn registrados en nuestro estudio, incluso se encuentran en algunos casos por debajo de los considerados por Calmus et al. (2016) como valores de fondo o referencia para la cuenca del Sonora. Dichos autores, basándose en la firma isotópica del Pb, relacionaron claramente los sedimentos muestreados a lo largo del cauce del río con la roca fuente propia de la cuenca del Sonora, evidenciando un claro origen natural de los sedimentos (Calmus et al. 2016). En la misma línea se mueven los resultados obtenidos más recientemente por Guzmán et al. (2019), quienes encontraron que en un solo sitio de 11 estudiados a lo largo de la cuenca del río Sonora, el enriquecimiento del sedimento por Pb, Zn y Cu fue moderado mientras que, tanto estos metales como el resto de los estudiados, mostraron grados de enriquecimiento del sedimento mínimos o nulos para el resto de los sitios. Los valores de metales

obtenidos en nuestro estudio se encuentran, con la excepción de algunos registros del As, también muy por debajo del nivel umbral al que la NOAA y la EPA han asociado alguna probabilidad de ocasionar efectos adversos sobre la biota (Buchman 2008; EPA 1996) (Fig. 12 a 18). Los registros relativamente altos de As muy probablemente tienen su origen en los niveles altos de este metal en las rocas mineralizadas de la cuenca. Una evidencia en este sentido es que las altas concentraciones de este elemento coincide con zonas de la cuenca con abundancia de rocas altamente mineralizadas (Calmus et al. 2016).

La distribución espacial de los metales en el sedimento encontrada en este estudio indica mayores concentraciones en la cuenca alta (Fig. 9) y coincide con la interpretación de los mapas de las concentraciones de los metales a lo largo de la cuenca del Sonora obtenidos por Calmus et al. (2016). En dichos mapas, los autores muestran claramente las áreas con mayores concentraciones de Al, As, Cu, Fe, Mn, Pb y Zn cubriendo mayores superficies en la cuenca alta del río; aunque también se aprecian áreas con altas concentraciones, sobre todo de As, Cu, Pb y Zn en la parte media de la cuenca a la altura de los sitios que en nuestro estudio hemos identificado como G y H.

Por tanto, los valores de metales en sedimento registrados por nosotros y su distribución a lo largo de la cuenca del río Sonora, con mayores concentraciones hacia la parte alta de la cuenca, se corresponden con lo que cabría esperar como resultado de la disposición espacial y la interacción del sustrato geológico de la cuenca con los diversos procesos naturales en la misma y no parecen derivarse de manera apreciable de fuentes antropogénicas.

Como puede observarse en la Fig. 9, el porcentaje de materia orgánica y de limos y arcillas en el sedimento así como la conductividad tienden a aumentar hacia la parte baja de la cuenca. Los valores del porcentaje de materia orgánica encontrados a lo largo de la cuenca del río Sonora en este estudio (Cuadros 8 y 9) resultan semejantes o inferiores a los referidos por otros autores en regiones tropicales y subtropicales, en sitios relativamente poco impactados por actividad antrópica, incluyendo zonas áridas (Strayer et al. 1997; Sutherland 1998; Arce, von Schiller, y Gómez 2014; Loh et al. 2016). Con base en nuestros datos, se aprecia un incremento del porcentaje de materia orgánica hacia la parte baja de la cuenca (Fig. 9). Este incremento puede ser el resultado de dos procesos fundamentales, que podrían estar actuando conjuntamente. En primer lugar, un proceso acumulativo de los relativamente pequeños aportes orgánicos (CONAGUA 2017), de los núcleos poblacionales, campos agrícolas y zonas de ganadería extensiva a lo largo del cauce del río Sonora. Estos aportes antropogénicos podrían no resultar lo suficientemente importantes como para acarrear una acumulación marcada de materia orgánica en el sedimento localmente pero si para marcar un gradiente a escala de la cuenca. Otro factor que podría por sí mismo o en conjunción con los aportes antropogénicos contribuir a este patrón espacial, es el transporte natural de materia orgánica disuelta y particulada excedente

desde la parte alta de la cuenca, fenómeno que ha sido documentado en ríos de zonas áridas (Sutherland 1998).

Como puede verse en la Figura 9, existe una tendencia al incremento en la proporción de limos y arcillas, partículas de menor diámetro de las que constituyen el sedimento, hacia la parte baja de la cuenca. Esta estructura del sedimento, parece responder a procesos geomorfológicos naturales que provocan una tendencia a la reducción de las partículas del sedimento a lo largo de los ecosistemas lóticos y que ha sido ampliamente documentada (Vannote et al. 1980; Thorp, Thoms, y DeLong 2008). Los valores de conductividad registrados en este estudio, si bien no son bajos, se encuentran por debajo o muy próximos a los  $1500 \mu\text{S}/\text{cm}^{-1}$ , valor comúnmente considerado como límite inferior a partir del que comienzan a percibirse efectos ecológicos (Hart et al. 1991; Horrigan et al. 2005). Valores semejantes a los registrados en este trabajo han sido encontrados en varios estudios realizados en ríos de zonas áridas relativamente bien conservados (Millán et al. 2011; Arce et al. 2014; Gómez et al. 2016).

Los metales en el sedimento interactúan con una serie de variables del mismo sedimento y del agua intersticial y sobrenadante lo que de conjunto con el comportamiento de la biota local, determina su biodisponibilidad (Zhang et al. 2014). Estos aspectos resultan fundamentales para comprender la toxicidad potencial de los sedimentos y la calidad ambiental de un ecosistema acuático (Cabral-Tena et al. 2019) y en el caso concreto del presente estudio, la posible relación entre la concentración de metales en el sedimento con la frecuencia y severidad de las deformidades en el mentón de los quironómidos.

Numerosos estudios concuerdan en que los metales se ligan preferente y fuertemente a las partículas del sedimento de menor diámetro (ver revisión en: de Groot 1995). Esto provoca una reducción en la biodisponibilidad que ha sido demostrada ampliamente, incluyendo estudios de toxicidad en moluscos (Campana, Blasco, y Simpson 2013) y de bioacumulación en quironómidos (Crawford y Liber 2016). Otro factor muy influyente en la biodisponibilidad de los metales, es el contenido de materia orgánica del sedimento. Usualmente los metales forman compuestos estables con las partículas orgánicas reduciendo su biodisponibilidad; esta tendencia ha sido demostrada para varios metales, entre ellos el Cu (Zhong, Kraemer, y Evans 2012; 2013). En concordancia con estos principios generales y ya en el contexto específico de la cuenca del río Sonora, Guzmán et al. (2019) reporta que una fracción importante del Cu en los sedimento se encuentra ligada a los limos y arcillas y que proporciones importantes de Pb y Zn se encuentran probablemente ligadas a la materia orgánica. Partiendo de estos principios y analizando en conjunto los patrones de los metales en el sedimento a la luz de mis datos, resulta probable que hacia la parte baja de la cuenca del río Sonora no solo tengamos menores valores totales de metales en el sedimento sino que estos metales estén menos biodisponibles debido a la mayor proporción de limos y arcillas en el sedimento y al mayor contenido de materia orgánica en el mismo (Fig. 9). Por otra parte, la biodisponibilidad de los metales

será mayor en la parte alta de la cuenca. Ello debido a que no solo los datos muestran una mayor concentración de metales en ese sector, debido probablemente a causas naturales (como se argumentó anteriormente), sino a que el contenido de materia orgánica y la proporción de limos y arcillas en el sedimento son menores.

## 5.2 Patrones en la incidencia de deformidades

Para caracterizar la incidencia de deformidades y con el propósito de obtener la mayor información al respecto en esta investigación, hemos empleado un conjunto de métricas (TSI, %DS, %DL y %DT). Ha resultado muy difícil encontrar estudios con un desglose semejante con los que se pudiera contrastar nuestros resultados de conjunto. Debido a ello analizamos cada métrica independientemente y en correspondencia con los principales estudios que aportan resultados correspondientes a dicha métrica en cuestión.

En nuestro estudio, la proporción calculada a partir de los datos globales de DL/DS fue igual a 2.34 (Cuadro 11). Esto permite interpretar que por cada larva con DS hay 2.34 larvas con DL. Esta proporción, que evidencia un claro predominio de las DL, resulta muy superior a la reportada en otros estudios realizados en áreas con evidente perturbación. Por ejemplo, Di Veroli et al. (2014) en un estudio desarrollado en una cuenca en el centro de Italia contaminada por metales (entre ellos Cu y Zn), refieren una proporción DL/DS = 0.88 (calculada por mí a partir del conjunto de sus datos). Por otra parte, Servia et al. (2000) encontraron una proporción DL/DS = 0.24 (calculada por mí a partir del conjunto de sus datos) resultando en ambos estudios mucho más frecuentes las DS que las DL. Esta diferencia en la proporción de larvas con DS y DL puede deberse a una respuesta proporcional a la alta concentración de contaminantes en el sedimento en los citados estudios. Así, los valores máximos de metales en el sedimento encontrados por Di Veroli et al. (2014) para el sitio/fecha donde se registró la mayor incidencia de DS resultan, respecto a los correspondientes encontrados aquí (Cuadro 11, sitio "L" durante el muestreo de noviembre de 2016) para el Pb, 3.3 veces mayores, y para el Zn y el Cu, 6.9 y 6.7 veces mayores, respectivamente. Otra evidencia en este sentido surge del análisis del trabajo de Lenat (1993). El cálculo de la relación DL/DS a partir de los datos de deformidades procedentes de sitios considerados por el autor como de buena calidad arrojan un valor de 1.66 (próximo a nuestro valor de 2.34) mientras que considerando los datos de sitios con "estrés no tóxico" (en general moderadamente afectados por contaminación orgánica) y estrés tóxico, se obtienen valores de DL/DS = 1.18 y 0.15 respectivamente, este último bastante semejante a lo calculado a partir de Servia et al. (2000).

Un análisis puntual merecen los relativamente pocos registros de As que se encuentran por encima del valor del TEL (Fig. 13) y que podrían con alguna probabilidad provocar un incremento de las deformidades en respuesta. Martínez et al. (2002) reportaron valores de % DT muy bajos (entorno al 0.9 %) en el sitio de referencia de su estudio, con valores de As en el sedimento de  $39.1 \pm 3.8 \text{ mg/kg}^{-1}$  mientras que, en un estudio experimental, Martínez et al. (2006) obtuvieron un % DT semejante al control en el tratamiento con una

concentración de As = 30 mg/kg<sup>-1</sup>. Teniendo en cuenta que el valor máximo de As registrado en este estudio es inferior a los 25 mg/kg<sup>-1</sup>, resulta poco probable que este metal pueda causar un efecto biológico medible. Las concentraciones de metales en el sedimento encontradas en el presente estudio resultan claramente inferiores a las reportadas como capaces de causar un efecto medible en el ecosistema acuático y, según mis datos, resultan también insuficientes para causar un predominio de las DS a nivel de individuos en el mentón de las larvas de quironómidos.

Como puede verse en el Cuadro 11, sólo la localidad "L" durante el muestreo de noviembre de 2016, presentó un valor del TSI > 20 indicando que en ese sitio y fecha existía evidencia de toxicidad. Este valor representa una excepción ya que el resto de los valores del TSI registrados indican que las aguas del río Sonora se encuentran en la categoría de "aguas limpias" o que existe un grado de alteración relativamente moderado que se evidencia como un "estrés no tóxico" y que Lenat (1993) atribuye principalmente a contaminación orgánica moderada. Los valores del TSI aquí calculados, se encuentran muy por debajo de los referidos en respuesta a la contaminación de los sedimentos por metales o residuos industriales que podrían contenerlos, tanto en estudios de campo como de laboratorio. Por ejemplo, Žunić et al. (2015) en un estudio experimental, refieren valores de TSI de entre 20 y 110, en respuesta a concentraciones de Pb y Cu de entre 30 y 200 mg/kg<sup>-1</sup>. Reynolds y Ferrington (2014), en un estudio de campo, refieren valores del TSI de hasta 85 en relación a concentraciones elevadas de metales (Al: 5017 mg/kg<sup>-1</sup>; Cu: 134,8 mg/kg<sup>-1</sup>; Fe: 10365 mg/kg<sup>-1</sup>; Mn: 573 mg/kg<sup>-1</sup>; Pb: 1275 mg/kg<sup>-1</sup> y Zn: 10616 mg/kg<sup>-1</sup>).

Por su parte, el % DT en el presente estudio se encontró siempre por debajo del 13 % y en promedio fue del 7 % (Cuadro 11). Al analizar los valores del % DT obtenidos encontramos que resultan inferiores a los estudios donde se refiere contaminación por metales. Por ejemplo, Arimoro et al. (2018) refieren % DT de entre 16-29 % en sitios con altas concentraciones de metales en el sedimento (Zn: 4100-75000 mg/kg<sup>-1</sup>; Mn: 1290-1520 mg/kg<sup>-1</sup>; Pb: 0-1000 mg/kg<sup>-1</sup>; Fe: 101000-168000 mg/kg<sup>-1</sup>; Cu: 150-170 mg/kg<sup>-1</sup>), mientras que Di Veroli et al. (2014) reportan un % DT de entre 20.97 y 77.69 en sitios y fechas con altos valores de metales en el sedimento (Pb: 19.43-23.80 mg/kg<sup>-1</sup>; Zn: 71.37-95.85 mg/kg<sup>-1</sup>; Cu: 14.70-40.53 mg/kg<sup>-1</sup>). Sin embargo no existe un consenso claro entre los estudios previos ni tampoco entre estos y el presente trabajo respecto a esta métrica; así por ejemplo, Al-Shami et al. (2011) reportaron valores del % DT de entre 20.87 y 30.19, notablemente mayores a los nuestros, en sitios con valores de metales en el sedimento semejantes o inferiores a los aquí reportados (Zn: 24.81-44.72 mg/kg<sup>-1</sup>; Mn: 16.78-50.54 mg/kg<sup>-1</sup>; Cu: 1.64-3.13 mg/kg<sup>-1</sup>). Por su parte Reynolds y Ferrington (2014) calcularon valores del TSI en general muy superiores a los nuestros mientras que los del % DT resultan semejantes para sitios con niveles de metales en el sedimento muy superiores a encontrados en este estudio (ejemplo, % DT: 11.6% en un sitio con Al: 4984 mg/kg<sup>-1</sup>; As: 13.76 mg/kg<sup>-1</sup>; Cu: 193.2 mg/kg<sup>-1</sup>; Fe: 10750 mg/kg<sup>-1</sup>; Mn: 1218.2 mg/kg<sup>-1</sup>; Pb: 1618.5 mg/kg<sup>-1</sup>; Zn: 30953 mg/kg<sup>-1</sup>).

Estas inconsistencias pudieran estar relacionadas con varios factores, en primer término con una apreciación subjetiva de lo que es una “deformidad”. Salmelin, Vuori, y Hämäläinen (2015) encontraron una variación de más de seis veces en los valores de los porcentajes de larvas deformadas (% DT) obtenidos del análisis del mismo conjunto de imágenes evaluadas por diferentes expertos, la mayoría de ellos con trabajos publicados en el tema. La principal fuente de esta variación fue la subjetividad de los criterios para identificar las DL (Tipo 1 en nuestro estudio) y la dificultad para separarlas de variaciones fenotípicas “normales” o de desgaste por abrasión de los dientes del mentón. En nuestro estudio tomamos un conjunto de medidas para minimizar estos errores (ver sección 4.6 en Materiales y Métodos) y si bien es cierto que cuantificamos las DL también incluimos entre las métricas para evaluar la incidencia de deformidades, el % DS (Tipo 2 + Tipo 3). La evaluación de este último tipo de deformidades permite obtener resultados fiables y consistentes (Salmelin et al. 2015).

Otro factor muy relacionado con las inconsistencias observadas entre el % DT y el TSI, es la anteriormente referida proporción de DS respecto a las DL. Debido a que el TSI intenta otorgar matemáticamente un mayor peso a las DS multiplicando el número de larvas con deformidades Tipo 2 y Tipo 3 por 2 y 3 respectivamente, su valor estará fuertemente influenciado por la proporción de DS/DL mientras que el % DT valora cualquier tipo de deformidad por igual. De esta forma los resultados de Al-Shami et al. (2011) podrían corresponder a condiciones de baja perturbación (como siguieren los bajos valores de metales en sedimento que reportan) en las que predominan las DL trayendo como consecuencia un alto valor relativo del % DT, sustentado por estas DL, tal y como ocurre en nuestro estudio. Por otra parte, el estudio de Reynolds y Ferrington (2014) estaría mostrando valores del TSI elevados y superiores a los nuestros debido a que hay una mayor proporción de DS en condiciones de alta contaminación (como siguieren los altos valores de metales en sedimento que reportan) mientras que el % DT resultaría semejante a nuestros valores que tendrían, en proporción, un mayor componente de DL, tal y como cabría esperar en sedimentos con baja toxicidad.

Finalmente se tiene que considerar el bajo tamaño de muestra en la mayoría de los estudios realizados en este tema (Burt et al. 2003). El tamaño de muestra adecuado ha sido estimado en aproximadamente 125 larvas por sitio/fecha (Hudson y Ciborowski 1996), cifra por demás difícil de alcanzar en la mayoría de los casos y lograda en pocos estudios. Sin embargo, tamaños de muestra demasiado bajos (en algunos estudios < 10 larvas por sitio/fecha) propician que los porcentajes de incidencia de deformidades se vean alterados drásticamente por pequeñas variaciones que pueden deberse al azar y no responder a una tendencia en los datos (Hudson y Ciborowski 1996) . El número de ejemplares evaluados en nuestro estudio por sitio/fecha es en promedio > 100 larvas, cifra que se aproxima bastante a la cifra sugerida por Hudson y Ciborowski (1996), lo que brinda solidez a nuestros resultados.

A pesar de que en la ecuación del TSI se intenta otorgar mayor peso a las DS, el número mucho mayor de DL, al menos en nuestro estudio (Fig. 19), determina esencialmente el resultado final. Teniendo en cuenta los argumentos antes mencionados no podemos desechar la posibilidad de que los valores del TSI y sobre todo el % DT calculados en este estudio, se encuentren influidos por una cuantificación subjetiva de las deformidades ligeras y que reflejen de una manera inadecuada la respuesta a las condiciones del ambiente. Por tanto resulta que las métricas más objetivas para evaluar la incidencia de deformidades son el % DS y en menor medida el TSI, ya que el % DT estaría muy influido por la abundancia relativa de DL.

En este estudio, el % DS se encontró entre 0 y 6.3 con un valor promedio de 2.1% (Cuadro 11). Los estudios donde se calcula separadamente el % DS o se presentan los datos crudos que permitan su cálculo son muy escasos, por ello nos hemos basado principalmente en aquellos estudios donde los autores describen detalladamente la metodología para identificar las deformidades y plantean descartar las Tipo 1, asumiendo con base en esto, que las deformidades identificadas se corresponden con las Tipo 2 y Tipo 3 en el presente estudio. Di Veroli et al. (2014) registraron el valor de % DS más bajo (7.42 %) en un sitio y fecha cuyos valores de metales (Pb: 19.43 mg/kg<sup>-1</sup>; Zn: 71.37 mg/kg<sup>-1</sup>; Cu: 14.70 mg/kg<sup>-1</sup>) estuvieron por encima de los registrados en el sitio y fecha donde se reporta el valor más alto de % DS (6.3 %) en este estudio, sugiriendo una respuesta proporcional del % DS. Arimoro et al. (2015), en sitios con niveles de Cu (1.67-3.39 mg/kg<sup>-1</sup>), Zn (1.3-6.26 mg/kg<sup>-1</sup>), Pb (0.29-0.55 mg/kg<sup>-1</sup>), Fe (92.4-215.4 mg/kg<sup>-1</sup>) y Mn (42.01-115.8 mg/kg<sup>-1</sup>) muy inferiores a los registrados en este estudio, encontraron una incidencia de deformidades en el mentón de las larvas de entre el 0-7.9 %. Estos valores resultan muy semejantes a los reportados en esta investigación. El hecho de que dentro de un rango de concentraciones de metales en el sedimento tan amplio como el que delimitan el estudio de Arimoro et al. (2015) y el nuestro, enmarcado por valores que parecen corresponder a concentraciones naturales, se produzcan niveles semejantes de deformidades, sugiere que un incremento en la frecuencia y severidad de las deformidades se produce principalmente cuando se sobrepasan ciertos valores umbrales. Este rango del % DS coincide igualmente con el 2-5.8 % referido por Lenat (1993) para aquellos sitios con aguas limpias o con un impacto moderado de contaminación orgánica y sin evidencias de toxicidad.

Es necesario destacar el estrecho rango en el que varían los valores del % DS en nuestro estudio (entre 0 y 6.3% con un valor promedio de 2.1%), Di Veroli et al. (2014) considerando tanto variación espacial como temporal en sus datos, encuentra un rango del % DS de 7.42 a 54.97, mientras que Servia et al. (2000) encontraron un rango que va de 0 a 14.4 % y Reynolds y Ferrington (2014) de 3.7 a 13.7 %. Estos rangos, comparativamente amplios, parecen corresponder a variaciones en las concentraciones de metales en el sedimento y otros parámetros ambientales resultado de la actividad antropogénica, en los sitios donde se desarrollaron los estudios. Las variables independientes consideradas en nuestro estudio no muestran

variaciones ni espaciales ni temporales de una magnitud comparable a los referidos estudios (Cuadros 8 y 9; Fig. 12 a 18) lo cual puede explicar el estrecho rango de variación del % DS. Estos resultados sugieren que si bien, como se comentó anteriormente, un amplio rango de variación en la concentración de los metales por debajo de un nivel umbral (aproximadamente correspondiente a valores naturales) no acarrea una correspondiente variación en la incidencia de deformidades cuando se sobrepasa ese nivel la incidencia de deformidades podría responder proporcionalmente a la concentración de metales en el sedimento.

Sin embargo, aunque pequeña en comparación con los estudios analizados, la variación del % DS en nuestros datos marca determinados patrones (Cuadro 13; Fig. 21 a 25). El análisis de PERMANOVA mostró que entre las métricas utilizadas para evaluar la incidencia de deformidades solamente siguió algún patrón espacial o temporal el % DS (Cuadro 12). Esta situación podría deberse a la combinación de dos factores, en primer lugar, al predominio sobre las DS de las DL, pudiendo ser la cuantificación de estas últimas considerablemente imprecisa por los argumentos antes expuestos, lo cual podría influir tanto en el % DT como, en menor grado, en el TSI desdibujando cualquier patrón subyacente de respuesta biológica que quedaría más claramente esbozado a partir del análisis de las DS, inequívocamente cuantificables. Un segundo factor cuya influencia potenciaría el primero son los relativamente bajos valores de metales en el sedimento y el estrecho rango de variación de estos (en comparación con los estudios antes mencionados). Debido a estos estrechos rangos, las variaciones en las condiciones ambientales tendrían mayores probabilidades de ser apreciadas a una escala espacial y temporal relativamente amplia (escala de cuenca y dos años de muestreo en nuestro estudio) mediante una métrica que cuantificara de manera efectiva las relativamente pequeñas variaciones en la respuesta biológica, tal y como es el % DS.

De los modelos generados por CART, el seleccionado en este estudio (con base en los criterios mencionados en la sección 4.9 en Materiales y Métodos) explica satisfactoriamente más del 85 % de la variación en el % DS. CART es un algoritmo (machine learning) basado en métodos no paramétricos apropiado para el análisis de datos ecológicos complejos, capaz de lidiar con relaciones no lineales entre las variables explicativas (Verniest y Greulich 2019). Numerosos estudios recientes lo han utilizado para analizar la influencia de factores ambientales (variables químico-físicas, grados de perturbación, etc.) sobre variables de respuesta biológicas (diversidad, presencia-ausencia, abundancias) y modelar las condiciones del hábitat en ecosistemas acuáticos (Gezie et al. 2019; Giri et al. 2019; Koyama et al. 2019).

Como puede verse en la Figura 26 y en los Cuadros 15 y 16 en la explicación de estos patrones del % DS, el algoritmo CART no incluye las concentraciones en el sedimento de ningún metal. Este resultado concuerda con los obtenidos previamente en el sentido de proporcionar evidencias de que, en nuestro estudio, la concentración de metales en el sedimento no está relacionada directamente con la frecuencia y severidad de las deformidades en el mentón de las larvas de quironómidos. Las variables que se relacionan

directa y positivamente con el % DS, resultan ser el porcentaje de materia orgánica en el sedimento, la conductividad-salinidad, la proporción de limos y arcillas en el sedimento, temperatura del agua y las fechas de muestreo. La influencia de este conjunto de variables resulta razonable al analizar el resultado del análisis de la variación espacial y temporal en el % DS (Fig. 21, Cuadro 13). De dicho análisis deriva que el % DS resulta más elevado en la cuenca baja que en la media y la alta siendo precisamente hacia la cuenca baja hacia donde tienden a aumentar la proporción de materia orgánica y de limos y arcillas en el sedimento, así como la temperatura y la salinidad-conductividad. Mientras que temporalmente CART identifica que a las fechas de muestreo 1 y 2 (noviembre de 2016 y junio de 2017) se asocian mayores valores de deformidades, siendo que estas dos fechas conforman el año 1 que presenta, según el análisis de PERMANOVA, valores significativamente superiores de DS.

Hasta donde se conoce, no existen estudios que evalúen particularmente la relación entre la incidencia de deformidades y las variables mencionadas. Prácticamente todos los estudios enfocados en las deformidades en quironómidos las analizan a la luz de contaminantes antropogénicos en el agua o el sedimento, manejan pocos sitios de referencia y no evalúan la variación en la incidencia de las deformidades entre estos sitios de referencia desde la perspectiva de una posible variación natural asociada a determinadas variables ambientales.

El porcentaje de materia orgánica en el sedimento aumenta (Fig. 9) de conjunto con el % DS hacia la parte baja de la cuenca y es identificado por el algoritmo de CART para realizar la primera división (Fig. 26), asociando a mayores porcentajes de materia orgánica una mayor incidencia de DS. La mayoría de los estudios asocian un incremento en la incidencia de las deformidades a la presencia de sustancias tóxicas (compuestos orgánicos tóxicos incluidos) y no al contenido de materia orgánica derivado de procesos naturales (Heylen y De Pauw 2002; Gagliardi et al. 2016). Por otra parte, a escala de la comunidad, existe un consenso en que un incremento en el contenido de materia orgánica (independientemente de si se trata o no de compuestos tóxicos) acarrea efectos negativos reduciendo la riqueza y diversidad de los invertebrados de agua dulce (Govenor, Krometis, y Hession 2017). Sin embargo, siendo el incremento en la incidencia de deformidades una respuesta subletal al estrés ambiental (Warwick 1990; Janssens De Bisthoven, Timmermans, y Ollevier 1992; Ochieng, De Ruyter Van Steveninck, y Wanda 2008), debería manifestarse entonces un incremento en dichas deformidades en respuesta a niveles de estrés inferiores a los que acarrearían la desaparición de poblaciones o su drástica reducción, cambios necesarios para notar los efectos a nivel de la comunidad. Sería entonces razonable esperar que un incremento en los niveles de materia orgánica hacia la parte baja de la cuenca trajera aparejado un incremento de la incidencia de deformidades. Esta respuesta al incremento de los niveles de materia orgánica en el sedimento fue considerada por Lenat (1993), que atribuyó un valor esperado de % DS = 2 para las aguas limpias, mientras para los sitios con contaminación orgánica moderada

y sin toxicidad pronosticó un % DS = 5.8, evidenciando la tendencia al incremento relativamente ligero de las DS en estas condiciones. De manera sinérgica con el contenido de materia orgánica en el sedimento podrían estar actuando la conductividad-salinidad y la temperatura. Los quironómidos se encuentran entre los invertebrados acuáticos más sensibles a la variación de los valores de salinidad (Kefford, Papas, y Nugegoda 2003; Zinchenko, Golovatyuk, y Abrosimova 2019). La conductividad ha sido asociada, junto con la concentración de metales, a un incremento en la incidencia de deformidades (Arimoro et al. 2015). Dichos autores encontraron una asociación entre valores de conductividad por encima de los 210  $\mu\text{S}/\text{cm}^{-1}$  y un incremento en la incidencia de deformidades en el mentón de larvas de quironómidos. En nuestro estudio registramos valores de conductividad en el orden de los 1400-1600  $\mu\text{S}/\text{cm}^{-1}$  en la cuenca baja. Estos valores podrían resultar en sí mismos un factor estresante importante más aún si consideramos que valores de conductividad de entre 800-1000  $\mu\text{S}/\text{cm}^{-1}$  han sido asociados a cambios mesurables en la estructura de la comunidad de macroinvertebrados acuáticos (Horrigan et al. 2005). Los efectos asociados a un incremento en la salinidad suelen actuar de manera aditiva con los asociados al estrés térmico (Velasco et al. 2019). La temperatura del agua es una de las principales variables que determinan la distribución de los quironómidos (Rossaro 1991) y variaciones de temperatura de rangos semejantes al observado en nuestro estudio (Cuadros 8 y 9) han sido asociadas a cambios importantes en la estructura de la comunidad de quironómidos en zonas tropicales y subtropicales (Helson, Williams, y Turner 2006; Puntí, Rieradevall, y Prat 2009) evidenciando la sensibilidad del grupo a esta variable. Tanto los referidos cambios en la estructura de la comunidad de macroinvertebrados y de quironómidos asociados a incrementos en la salinidad-conductividad (Kefford et al. 2003; Horrigan et al. 2005; Zinchenko et al. 2019) a la temperatura (Helson et al. 2006; Puntí et al. 2009) o a la influencia aditiva de ambos factores (Velasco et al. 2019), para ser mesurables, requieren que se produzca la reducción en las poblaciones o desaparición local de al menos un taxón. Dichos cambios “drásticos” han de haber sido precedidos por efectos subletales entre los que suelen encontrarse un incremento en la incidencia de deformidades en las larvas de quironómidos. Por ello resulta esperable el incremento observado en la incidencia de DS en relación con el incremento de la salinidad-conductividad y temperatura.

De igual manera, la estructura del sedimento es un factor muy importante en la distribución y diversidad de la comunidad de quironómidos (Pinha et al. 2013; Júnior, Perbiche-Neves, y Takeda 2016). No es objetivo de la presente investigación profundizar en los mecanismos últimos que ocasionan las deformidades en el área de estudio, más aún cuando la mayoría de los mecanismos fisiológicos asociados a la frecuencia y severidad de las deformidades en larvas de quironómidos permanecen sin esclarecer (Deliberalli et al. 2018). Sin embargo, la evidencia sugiere la probable influencia conjunta de factores como el contenido de materia orgánica en el sedimento, la salinidad, temperatura y la proporción de partículas de menor diámetro en el sedimento sobre el % DS. Tal y como puede apreciarse en los Cuadros 14 al 16 y la

Figura 26, esta relación va en el sentido de que: a mayor cantidad de materia orgánica en el sedimento, mayor salinidad, mayor temperatura y mayor proporción de partículas de pequeño diámetro en el sedimento corresponden mayores % DS. Esta tendencia tiene sentido a la luz de los trabajos citados previamente. En el árbol de regresiones generado, las variables, altura sobre el nivel del mar (m.s.n.m) y fecha 1 y 2 representan esencialmente la variación espacial y temporal en las variables identificadas por el modelo como más relevantes, cuya probable influencia fue discutida previamente.

Existe un consenso en que se manifiestan cambios en la composición taxonómica de la comunidad de quironómidos a lo largo de los ecosistemas fluviales, en respuesta a la variación en las condiciones del mismo (Cortese et al. 2019; Leszczyńska et al. 2019). Este recambio de especies ocurre con frecuencia a escalas espaciales reducidas (Karaouzas y Płóciennik 2016) de lo que deriva que cada taxón tendrá mayores probabilidades de encontrarse en un rango de condiciones cercano a su “óptimo” (Puntí et al. 2009). Los resultados incluidos en esta sección proceden de la evaluación de las deformidades en un mismo taxón (*Tanytarsus* sp.) a lo largo de más de 300 km del río Sonora, incluyendo dos grandes subcuencas, la del río Sonora y la del San Miguel. Aunque se ha argumentado que las deformidades representan una respuesta subletal al impacto antropogénico, relativamente independiente de las variaciones naturales del ambiente (Burt 1998), consideramos que en el presente estudio su variación representa una respuesta ante la combinación de un conjunto de condiciones estresantes para *Tanytarsus* sp., la mayoría de ellas derivadas de la variación natural a escala de cuenca. Lamentablemente no conocemos precedentes de estudios que hayan intentado caracterizar las variaciones en la incidencia de deformidades empleando un mismo taxón, a escalas tan amplias y considerando una variedad de variables relevantes como las que analizamos en este estudio. En cualquier caso, el resultado más relevante en este sentido es que la incidencia de DS puede estar influida a escalas espaciales y temporales relativamente amplias por la dinámica de factores ambientales muy probablemente naturales y diferentes a los considerados hasta el momento como teratógenos.

### 5.3 Variaciones intertaxonómicas

Los taxones que más frecuentemente han cumplido los requerimientos de abundancia y frecuencia para permitir el análisis de las variaciones intertaxonómicas en nuestro estudio, *Tanytarsus* sp., *Polypedilum* sp. y *Dicrotendipes* sp., han sido considerados comunes en estudios previos enfocados en el análisis de deformidades (Martinez et al. 2002; Burt, Ciborowski, y Reynoldson 2003; Zhang 2008; Odume et al. 2016). Estos taxones pertenecen a géneros que se distribuyen ampliamente ocupando una gran variedad de cuerpos de agua (Epler 2001) y que ya habían sido reportados para territorio mexicano (Spies y Reiss 1996; Vinogradova 2008). Los estudios previos, que incluyen varios taxones de quironómidos, coinciden con nuestros resultados al indicar una variación intertaxonómica importante en la incidencia de deformidades (Hudson y Ciborowski 1996; Nazarova et al. 2004; Odume et al. 2012; Weeraprapan et al. 2018). La causa de

estas diferencias ha sido escasamente abordada en los estudios disponibles, mencionándose como probables, diferentes hábitos tróficos (Warwick y Tisdale 1988; Dermott 1991) o una tolerancia diferencial de los taxones a los contaminantes (Hudson y Ciborowski 1996; Odume et al. 2016). En el caso de los géneros a los que pertenecen los taxones aquí estudiados, ha sido referida una dieta semejante, consistente en más de un 85 % de materia orgánica particulada fina (Henriques-Oliveira, Nessimian, y Dorvillé 2003; Galizzi, Zilli, y Marchese 2012; Ruiz, Rivera-Rondon, y Ovalle 2018) lo cual, a pesar de no ser un objetivo de esta investigación, ha sido confirmado por mí mediante la observación bajo el microscopio (con aumentos de hasta 400 X) del tracto digestivo de las larvas montadas completas de cada taxón, sitio y fecha de muestreo. Debido a ello, consideramos que las diferencias observadas en nuestro estudio están más relacionadas con una susceptibilidad propia de cada taxón a los posibles agentes teratogénicos que con una incorporación diferencial de estos a través de la dieta.

Los resultados de estudios previos donde se han recolectado en el mismo sitio y fecha larvas de los géneros *Tanytarsus*, *Polypedilum* y *Dicrotendipes* muestran resultados totalmente contradictorios entre sí y con los aquí reportados. Zhang (2008) encontró entre 1.96 y un 9.09 % más de deformidades en *Polypedilum* sp. respecto a *Tanytarsus* sp. en el área de los grandes lagos de Norteamérica. Burt, Ciborowski, y Reynoldson (2003) reportan un 58 % más de deformidades en *Polypedilum* sp. respecto a *Tanytarsus* sp. en la misma región. Sin embargo, Swansburg et al. (2002) refieren una incidencia de deformidades un 32 % superior, esta vez en larvas de *Tanytarsus* sp., respecto a las de *Polypedilum* sp. en varios sitios, en ríos de Canadá. En larvas de *Dicrotendipes* sp. se ha registrado una incidencia de deformidades desde poco más del 20 % superior hasta casi el doble respecto a *Polypedilum* sp. (Warwick 1990; Diggins y Stewart 1993; Zhang 2008), mientras que otros estudios reportan una incidencia semejante en taxones de ambos géneros (Madden et al. 1992; Weeraprapan et al. 2018). Nazarova et al. (2004) refiere igual incidencia de deformidades en larvas de *Dicrotendipes* sp. y *Tanytarsus* sp. mientras MacDonald y Taylor (2006) y Zhang (2008) reportan una incidencia más de un 75 % superior en *Dicrotendipes* sp.

Estas inconsistencias probablemente están relacionadas con dos factores ya mencionados al respecto en la sección anterior, el muy bajo tamaño de muestra y la subjetividad a la hora de identificar y por tanto cuantificar una deformidad ligera. El número promedio de larvas estudiadas para obtener los resultados de la presente sección fue para: *Tanytarsus* sp. >120, *Polypedilum* sp. > 107 y *Dicrotendipes* sp. > 103, cifras muy próximas a las sugeridas por (Hudson y Ciborowski 1996), lo cual le otorga fiabilidad al respecto a nuestros resultados.

En cuanto a la posible subjetividad de identificación y cuantificación de las DL podemos observar que la principal fuente de diferencias en la incidencia total de deformidades entre *Polypedilum* sp. y *Tanytarsus* sp. es el % DL (Fig. 29), mientras que en el caso de *Tanytarsus* sp. vs *Dicrotendipes* sp. y *Polypedilum* sp. vs

*Dicrotendipes* sp., la incidencia de este tipo de deformidades permanece semejante entre los pares de taxones (Figs. 31 y 33 respectivamente). Al analizar la variación del TSI y del % DT entre los pares de taxones resulta evidente que sus valores están fuertemente influenciados por la incidencia de DL y que las DS tienen una influencia menor.

La incidencia de DS se muestra semejante entre *Polypedilum* sp. y *Tanytarsus* sp. (Figs. 28 y 29) y resulta claramente mayor en *Tanytarsus* sp. y *Polypedilum* sp. respecto a *Dicrotendipes* sp. (Figs. 30 a la 33; Cuadro 17). Estas relaciones de valores sugieren que, como respuesta a las mismas condiciones ambientales, *Tanytarsus* sp. y *Polypedilum* sp. expresan una incidencia de DS semejante entre sí y superior a la de *Dicrotendipes* sp. No es posible en este estudio hablar sobre la sensibilidad o tolerancia de los taxones debido a que no analizamos nuestros datos como respuesta a una perturbación. Sin embargo, nuestros resultados indican que las variaciones intertaxonómicas son importantes. Esta información (resumida en el Cuadro 17) debe tenerse en cuenta para poder valorar objetivamente la incidencia de deformidades como respuesta a una perturbación determinada separándola de la variación natural. Partiendo de nuestros datos se obtiene un orden de incidencia de deformidades para los taxones estudiados como sigue:

*Dicrotendipes* sp. > *Tanytarsus* sp. ≈ *Polypedilum* sp.

Resulta interesante que Odume et al. (2016), analizando a lo largo de tres años solamente las deformidades severas en el mentón de las larvas de varios taxones y considerando entre las variables explicativas la concentración de Cr, Mn, Zn, Pb y Cu, establecen un orden de tolerancia totalmente coincidente para los géneros aquí estudiados.

## 6 Conclusiones

- No existe una variación espacial o temporal medible en los valores del Toxic Score Index, así como tampoco en los porcentajes de deformidades ligeras ni totales. Dentro de las métricas utilizadas para evaluar la incidencia de deformidades, solamente el porcentaje de deformidades severas (% DS) mostró patrones definidos.
- Las concentraciones de los metales evaluados (Al, As, Cu, Fe, Mn, Pb y Zn) se distribuyen espacialmente y muestran valores, dentro de los rangos que cabría esperar como resultado de procesos naturales derivados de la composición geológica de la cuenca y de los correspondientes procesos geomorfológicos. No se aprecia una relación entre el % DS y las concentraciones de estos metales, por tanto, se rechaza la hipótesis propuesta inicialmente en la presente investigación.
- La mayor parte de la variación en el % DS es explicada por la variación a escala de cuenca en variables ambientales (proporción de materia orgánica y de limos y arcillas en el sedimento, temperatura y salinidad-conductividad del agua) que fluctúan dentro de rangos semejantes a los que cabría esperar como resultado de procesos geomorfológicos y gradientes geográficos naturales.
- Existe una fuerte variación intertaxonómica en la incidencia de deformidades que parece responder a las sensibilidades respectivas a las condiciones ambientales de cada taxón. El rango de esta variación depende de la métrica utilizada para caracterizar la incidencia de deformidades y % DS muestra los resultados más consistentes a este respecto.

## 7 Recomendaciones y futuras líneas de trabajo

- Utilizar únicamente las deformidades severas, tipos II y III en esta investigación, para realizar los estudios de evaluación de impacto y para caracterizar en general la incidencia de deformidades. Como muestran los resultados, las tipo I resultan difíciles de asociar a factores causales.
- En estudios que abarquen la escala de cuenca es necesario considerar las variaciones de fondo o naturales en la incidencia de deformidades. Tal y como evidencian mis resultados, existe una variación estadísticamente significativa en la frecuencia de deformidades asociada a factores que parece variar naturalmente a esa escala. Sino se considera esa variación se pueden realizar interpretaciones erróneas de los resultados.
- Siempre que sea posible se debe utilizar un solo taxón para evaluar las variaciones espaciales y temporales en la incidencia de deformidades. La variación intertaxonómica, probablemente asociada a correspondientes diferencias en las sensibilidades, es muy notable y puede hacer muy difícil cualquier interpretación de resultados. Sería muy difícil saber si la diferencia entre dos sitios o fechas se debe a una probable perturbación o a diferencias naturales en la incidencia de deformidades entre taxones.
- Siempre que sea posible, se debe utilizar un número de individuos por taxón igual o superior a 50 en cada sitio y fecha para evaluar las variaciones espaciales y temporales en la incidencia de deformidades. Mientras menor sea el número de ejemplares utilizados más sensible será el valor del porcentaje de deformidades a la incidencia estocástica de estas.
- Deben desarrollarse investigaciones que evalúen la incidencia de deformidades en varios taxones de quironómidos a lo largo de cuencas o de secciones de ríos de longitud considerable, en condiciones de referencia, en áreas naturalmente ricas en metales pesados contrastándolas con otras áreas próximas pero con relativamente bajos valores de metales. Esto permitirá obtener evidencia sobre la variación natural en la frecuencia de las deformidades a estas escalas. A partir de los resultados aquí obtenidos, esperaríamos ver una variación espacial semejante en el porcentaje de deformidades entre ambas cuencas o secciones de ríos independientemente de que una tuviera mayores concentraciones de metales en el sedimento (siempre y cuando no se sobrepasen determinados niveles umbrales). Por otra parte, también permitirá obtener más información sobre la variación intertaxonómica, lo que podría conducir a establecer relaciones cuantitativas como las obtenidas en esta investigación. Estas relaciones serían de mucha utilidad para comparar mucho más precisamente sitios o fechas donde no se encontraron los mismos taxones.

## 8 Referencias bibliográficas

- Adham, Fatma K., Azza M. Khedre, Tarek G. Ismail, Mohamed El-Araby, Shahenda A. A. Abu Elela, y Wael M. Elsayed. 2016. "Buccal Deformities in Chironomid Larvae (Diptera: Chironomidae) as an Indicator Risk Assessment and Anthropogenic Stresses of Pollution in Fresh Water of the River Nile, Sohag Governorate, Egypt." *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences (JBES)* 8(6):37–48.
- Admiraal, W., C. Barranguet, S. A. M. Van Beusekom, E. A. J. Bleeker, F. P. Van Den Ende, H. G. Van Der Geest, D. Groenendijk, N. Ivorra, M. H. S. Kraak, y S. C. Stuijzand. 2000. "Linking Ecological and Ecotoxicological Techniques to Support River Rehabilitation." *Chemosphere* 41(1–2):289–95.
- Aguilar-Hinojosa, Yolanda, Diana Meza-Figueroa, Arturo I. Villalba-Atondo, Martín A. Encinas-Romero, Jesús L. Valenzuela-García, y Agustín Gómez-Álvarez. 2016. "Mobility and Bioavailability of Metals in Stream Sediments Impacted by Mining Activities: The Jaralito and the Mexicana in Sonora, Mexico." *Water, Air, and Soil Pollution* 227(345).
- Akyildiz, G. K., R. Bakir, S. Polat, y M. Duran. 2018. "Mentum Deformities of Chironomid Larvae as an Indicator of Environmental Stress in Büyük Menderes River, Turkey." *Inland Water Biology* 11(4):515–22.
- Al-Shami, Salman Abdo, Mad Rawi Che Salmah, Ahmad Abu Hassan, y Mohd Nor Siti Azizah. 2011. "Evaluation of Mentum Deformities of *Chironomus* Spp. (Chironomidae: Diptera) Larvae Using Modified Toxic Score Index (MTSI) to Assess the Environmental Stress in Juru River Basin, Penang, Malaysia." *Environmental Monitoring and Assessment* 177(1–4):233–44.
- Al-Shami, Salman, Rawi Che M. Salmah, Nor Siti M. Azizah, Ahmad Abu Hassan, y Arshad Ali. 2010. "Morphological Deformities in *Chironomus* spp. (Diptera: Chironomidae) Larvae as a Tool for Impact Assessment of Anthropogenic and Environmental Stresses on Three Rivers in the Juru River System, Penang, Malaysia." *Environmental Entomology* 39(1):210–22.
- Andersen, T., Peter S. Cranston, y John H. Epler, eds. 2013. "The Larvae of Chironomidae (Diptera) of the Holarctic Region — Keys and Diagnoses." *Insect Systematics & Evolution* Supplement:1–571.
- Arambourou, Hélène, Jean Nicolas Beisel, Philippe Branchu, y Vincent Debat. 2012. "Patterns of Fluctuating Asymmetry and Shape Variation in *Chironomus riparius* (Diptera, Chironomidae) Exposed to Nonylphenol or Lead." *PLoS ONE* 7(11):1–12.
- Arambourou, Hélène, Jean Nicolas Beisel, Philippe Branchu, y Vincent Debat. 2014. "Exposure to Sediments from Polluted Rivers Has Limited Phenotypic Effects on Larvae and Adults of *Chironomus riparius*." *Science of the Total Environment* 484(1):92–101.
- Arce, Maria Isabel, Daniel von Schiller, y Rosa Gómez. 2014. "Variation in Nitrate Uptake and Denitrification Rates across a Salinity Gradient in Mediterranean Semiarid Streams." *Aquatic Sciences* 76(2):295–311.
- Arimoro, Francis O. 2011. "Head Capsule Deformities in *Chironomus transvaalensis* (Diptera: Chironomidae) as Indicator of Environmental Stress in an Industrial Effluent-Impacted Stream in Southern Nigeria." *Fresenius Environmental Bulletin* 20(6):1360–65.
- Arimoro, Francis O., Yohanna I. Auta, Oghenekaro N. Odume, Unique N. Keke, y Adamu Z. Mohammed. 2018. "Mouthpart Deformities in Chironomidae (Diptera) as Bioindicators of Heavy Metals Pollution in Shiroro Lake, Niger State, Nigeria." *Ecotoxicology and Environmental Safety* 149:96–100.
- Arimoro, Francis Ofurum, Oghenekaro Nelson Odume, y Francis Kenechukwu Meme. 2015. "Environmental Drivers of Head Capsule Deformities in *Chironomus* spp. (Diptera: Chironomidae) in a Stream in North Central Nigeria." *Zoology and Ecology* 25(1):70–76.
- Armitage, P. D., D. Moss, J. F. Wright, y M. T. Furse. 1983. "The Performance of a New Biological Water Quality Score System Based on Macroinvertebrates over a Wide Range of Unpolluted Running-Water Sites." *Water Research* 17(3):333–47.
- Barbour, M. T., J. Gerritsen, G. E. Griffith, R. Frydenborg, E. McCarron, J. S. White, y M. L. Bastian. 1996. "A Framework for Biological Criteria for Florida Streams Using Benthic Macroinvertebrates." *Journal of the North American Benthological Society* 15(2):185–211.
- Barbour, Michael T., Jeroen Gerritsen, B. D. Snyder, y J. B. Stribling. 1999. *Rapid Bioassessment Protocols For*

- Use in Streams and Wadeable Rivers: Periphyton, Benthic Macroinvertebrates, and Fish*. Washington, DC.
- Barjaktarovic, L. y L. I. Bendell-Young. 2001. "Accumulation of <sup>109</sup>Cd by Second-Generation Chironominae Propagated from Wild Populations Sampled from Low-, Mid-, and High-Saline Environments." *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 40(3):339–44.
- Bhattacharyay, G., A. K. Sadhu, A. Mazumdar, y P. K. Chaudhuri. 2005. "Antennal Deformities of Chironomid Larvae and Their Use in Biomonitoring of Heavy Metal Pollutants in the River Damodar of West Bengal, India." *Environmental Monitoring and Assessment* 108(1–3):67–84.
- Bird, G. A. 1994. "Use of Chironomid Deformities to Assess Environmental Degradation in the Yamaska River, Quebec." *Environmental Monitoring and Assessment* 30(2):163–75.
- Bonada, Núria, Narcís Prat, Vincent H. Resh, y Bernhard Statzner. 2006. "Developments in Aquatic Insect Biomonitoring: A Comparative Analysis of Recent Approaches." *Annual Review of Entomology* 51(1):495–523.
- Bozanic, Milenka, Zoran Markovic, Miroslav Zivic, Biljana Dojcinovc, Aleksandar Peric, Marko Stankovic, y Ivana Zivic. 2019. "Mouthpart Deformities of *Chironomus plumosus* Larvae Caused by Increased Concentrations of Copper in Sediment from Carp Fish Pond." *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 19(3):251–59.
- Bradl, Heike. 2005. "Heavy Metals in the Environment: Origin, Interaction and Remediation. Volume 6." P. 282 in *Interface Science and Technology*. Academic Press.
- Buchman, M. F. 2008. *NOAA Screening Quick Reference Tables*. Seattle.
- Burt, John Armand. 1998. "Deformities and Fluctuating Asymmetry in Chironomidae (Diptera): Baseline and Stress-Induced Occurrence." University of Windsor.
- Burt, John, Jan J. H. Ciborowski, y Trefor B. Reynoldson. 2003. "Baseline Incidence of Mouthpart Deformities in Chironomidae (Diptera) From The Laurentian Great Lakes, Canada." *Journal of Great Lakes Research* 29(1):172–80.
- Buss, Daniel F., Daren M. Carlisle, Tae Soo Chon, Joseph Culp, Jon S. Harding, Hanneke E. Keizer-Vlek, Wayne A. Robinson, Stephanie Strachan, Christa Thirion, y Robert M. Hughes. 2015. "Stream Biomonitoring Using Macroinvertebrates around the Globe: A Comparison of Large-Scale Programs." *Environmental Monitoring and Assessment* 187(1):1–21.
- Cabral-Tena, Rafael Andrés, Alejandro Córdova, Francisco López-Galindo, Aura Aletse Morales-Aranda, Arnulfo Reyes-Mata, Alfonso Soler-Aburto, y Guillermo Horta-Puga. 2019. "Distribution of the Bioavailable and Total Content of Copper and Lead, in River Sediments of the Jamapa-Atoyac Fluvial System, Mexico." *Environmental Monitoring and Assessment* 191(214):17.
- Calmus, Thierry, Martín Valencia-Moreno, Rafael Salas del Río, Lucas Landín Ochoa, y Héctor Mendivil. 2016. *Estudio Geológico y Geoquímico de "Línea Base" En El Marco de La Evaluación Del Impacto Ambiental Asociado Al Derrame Del Represo de Lixiviados de La Mina Buenavista Del Cobre Hacia La Cuenca Del Río Sonora*. Ciudad de México.
- Campana, Olivia, Julián Blasco, y Stuart L. Simpson. 2013. "Demonstrating the Appropriateness of Developing Sediment Quality Guidelines Based on Sediment Geochemical Properties." *Environmental Science and Technology* 47(13):7483–89.
- Canfield, Timothy J., Nile E. Kemble, William G. Brumbaugh, F. James Dwyer, Chris G. Ingersoll, y James F. Fairchild. 1994. "Use of Benthic Invertebrate Community Structure and the Sediment Quality Triad to Evaluate Metal-contaminated Sediment in the Upper Clark Fork River, Montana." *Environmental Toxicology and Chemistry* 13(12):1999–2012.
- Chutter, F. M. 1995. "The Role of Aquatic Organisms in the Management of River Basins for Sustainable Utilisation." *Water Science and Technology* 32(5–6):283–91.
- CONAGUA. 2017. *Resultados de Calidad Del Agua de 5000 Sitios de Monitoreo*.
- CONAGUA. 2019. "Ríos Principales (Nacional)." Retrieved (<http://sina.conagua.gob.mx/sina/tema.php?tema=riosPrincipales&ver=mapa&o=2&n=nacional>).
- Cortese, Bianca, Juan Pablo Zannotto Arpellino, Analía Constanza Paggi, y Alberto Rodrigues Capítulo. 2019.

- "Chironomid Genera Distribution Related to Environmental Characteristics of a Highly Impacted Basin (Argentina, South America)." *Environmental Science and Pollution Research* 26(8):8087–97.
- Cranston, Peter S. 1995. "Introduction." Pp. 1–7 in *The Chironomidae. The biology and ecology of non-biting midges*, edited by P. D. Armitage, P. S. Cranston, and L. C. V Pinder. London, UK: Chapman & Hall.
- Crawford, Sarah E. y Karsten Liber. 2016. "Sediment Properties Influencing the Bioavailability of Uranium to *Chironomus dilutus* Larvae in Spiked Field Sediments." *Chemosphere* 148:77–85.
- Cushman, Robert M. 1984. "Chironomid Deformities as Indicators of Pollution from a Synthetic, Coal-derived Oil." *Freshwater Biology* 14(2):179–82.
- De'ath, Glenn y Katharina E. Fabricius. 2000. "Classification and Regression Trees: A Powerful Yet Simple Technique for Ecological Data Analysis." *Ecology* 81(11):3178–92.
- Deliberalli, Wanessa, Rogério L. Cansian, Albanin A. M. Pereira, Rafael C. Loureiro, Luiz U. Hepp, y Rozane M. Restello. 2018. "The Effects of Heavy Metals on the Incidence of Morphological Deformities in Chironomidae (Diptera)." *Zoologia* 35:1–7.
- Dermott, R. M. 1991. "Deformities in Larval *Procladius* spp. and Dominant Chironomini from the St. Clair River." *Hydrobiologia* 219:171–85.
- Dickman, M. y G. Rygiel. 1996. "Chironomid Larval Deformity Frequencies, Mortality, and Diversity in Heavy-Metal Contaminated Sediments of a Canadian Riverine Wetland." *Environment International* 22(6):693–703.
- Dickman, Mike, Ian Brindle, y Martin Benson. 1992. "Evidence of Teratogens in Sediments of the Niagara River Watershed as Reflected by Chironomid (Diptera: Chironomidae) Deformities." *Journal of Great Lakes Research* 18(3):467–80.
- Diggins, Thomas P. y Kenton M. Stewart. 1993. "Deformities of Aquatic Larval Midges (Chironomidae: Diptera) in the Sediments of the Buffalo River, New York." *Journal of Great Lakes Research* 19(4):648–59.
- Dolédec, Sylvain y Bernhard Statzner. 2008. "Invertebrate Traits for the Biomonitoring of Large European Rivers: An Assessment of Specific Types of Human Impact." *Freshwater Biology* 53(3):617–34.
- Environmental Protection Agency. USA. 2000. *Method 6010C. Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometry*. EPA. USA.
- Environmental Protection Agency. USA. 1998. *Method 7471B. Mercury in Solid or Semisolid Waste (Manual Cold-Vapor Technique)*. EPA. USA.
- EPA. 1996. *Calculation and Evaluation of Sediment Effect Concentrations for the Anhipod *Hyaella azteca* and the Midge *Chironomus riparius**. EPA 905-R96-008. Chicago, Illinois.
- Epler, John H. 2001. *Identification Manual for the Larval Chironomidae (Diptera) of North and South Carolina*. North Carolina Department of Environment and Natural Resources. Division of Water Quality.
- Frank, C. 1981. "Glycolytic Capacity of Chironomid Larvae from Polluted and Unpolluted Waters." *Verhandlungen Des Internationalen Verein Limnologie* 21:1627–30.
- Friberg, Nikolai, Núria Bonada, David C. Bradley, Michael J. Dunbar, Francois K. Edwards, Jonathan Grey, Richard B. Hayes, Alan G. Hildrew, Nicolas Lamouroux, Mark Trimmer, y Guy Woodward. 2011. "Biomonitoring of Human Impacts in Freshwater Ecosystems. The Good, the Bad and the Ugly." Pp. 1–68 in *Advances in Ecological Research*. Vol. 44, edited by G. Woodward. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier Ltd. Academic press.
- Fu, Lei, Xianbo Lu, Kai Niu, Jun Tan, y Jiping Chen. 2019. "Bioaccumulation and Human Health Implications of Essential and Toxic Metals in Freshwater Products of Northeast China." *Science of the Total Environment* 673:768–76.
- Gagliardi, Bryant S., Vincent J. Pettigrove, Sara M. Long, y Ary A. Hoffmann. 2016. "A Meta-Analysis Evaluating the Relationship between Aquatic Contaminants and Chironomid Larval Deformities in Laboratory Studies." *Environmental Science and Technology* 50(23):12903–11.
- Galizzi, M. Celeste, Florencia Zilli, y Mercedes Marchese. 2012. "Diet and Functional Feeding Groups of Chironomidae (Diptera) in the Middle Paraná River Floodplain (Argentina)." *Iheringia. Série Zoologia* 102(2):117–21.
- Gezie, Ayenew, Worku Legesse Mulat, Wassie Anteneh, Eshete Dejen, Helmut Kloos, y Seid Tiku Mereta. 2019.

- "Habitat Suitability Modelling of Benthic Macroinvertebrate Community in Wetlands of Lake Tana Watershed, Northwest Ethiopia." *Wetlands*.
- Giri, Subhasis, Zhen Zhang, Daryl Krasnuk, y Richard G. Lathrop. 2019. "Evaluating the Impact of Land Uses on Stream Integrity Using Machine Learning Algorithms." *Science of the Total Environment* 696:133858.
- Gómez, Rosa, Antonia Dolores Asencio, José María Picón, Rubén Del Campo, María Isabel Arce, María del Mar Sánchez-Montoya, María Luisa Suárez, y María Rosario Vidal-Abarca. 2016. "The Effect of Water Salinity on Wood Breakdown in Semiarid Mediterranean Streams." *Science of the Total Environment* 541:491–501.
- Govenor, Heather, Leigh Anne H. Krometis, y W. Cully Hession. 2017. "Invertebrate-Based Water Quality Impairments and Associated Stressors Identified through the US Clean Water Act." *Environmental Management* 60(4):598–614.
- Grebenjuk, L. P. y I. I. Tomilina. 2014. "Morphological Deformations of Hard-Chitinized Mouthpart Structures in Larvae of the Genus *Chironomus* (Diptera, Chironomidae) as the Index of Organic Pollution in Freshwater Ecosystems." *Inland Water Biology* 7(3):273–85.
- Groenendijk, Dick, Lidy W. M. Zeinstra, y Jaap F. Postma. 1998. "Fluctuating Asymmetry and Mentum Gaps in Populations of the Midge *Chironomus riparius* (Diptera: Chironomidae) from a Metal-Contaminated River." *Environmental Toxicology and Chemistry* 17(10):1999–2005.
- de Groot, Ane J. 1995. "Metals and Sediments: A Global Perspective." Pp. 1–20 in *Metal Contaminated Aquatic Sediments*, edited by H. E. Allen. Taylor and Francis Ltd.
- Gutierrez, Juan David, Wolfgang Riss, y Rodolfo Ospina. 2004. "Bioindicación de Da Calidad Del Agua Con Macroinvertebrados Acuáticos En La Sabana de Bogotá, Utilizando Redes Neuronales Artificiales." *Caldasia* 26(1):151–60.
- Gutierrez, Juan David, Wolfgang Riss, y Rodolfo Ospina. 2006. "Bioindicación de La Calidad Del Agua En La Sábana de Bogota-Colombia, Mediante La Utilización de La Lógica Difusa Neuroadaptativa Como Herramienta." *Caldasia* 28(1):45–56.
- Guzmán, Héctor M., Agustín Gómez-Álvarez, Jesús L. Valenzuela-García, Martín A. Encinas-Romero, Arturo I. Villalba-Atondo, y Kareen K. Encinas-Soto. 2019. "Assessment of the Impact on Sediment Quality from Abandoned Artisanal Mine Runoffs in a Semi-Arid Environment (the Sonora River Basin—Northwestern Mexico)." *Environmental Earth Sciences* 78(145):0.
- Hamilton, Andrew L. y Ole A. Saether. 1971. "The Occurrence of Characteristic Deformities in the Chironomid Larvae of Several Canadian Lakes." *The Canadian Entomologist* 103:363–68.
- Hammer, Oyvind, David. A. T. Harper, y Paul. D. Ryan. 2001. "PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis." *Palaeontologia Electronica* 4(1):9.
- Hare, Landis y John C. H. Carter. 1976. "The Distribution of *Chironomus* ( s . s . )? *cucini* ( Salinarius Group ) Larvae (Diptera: Chironomidae) in Parry Sound, Georgian Bay, with Particular Reference to Structural Deformities ." *Canadian Journal of Zoology* 54(12):2129–34.
- Hart, Barry T., Paul Bailey, Rick Edwards, Kent Hortle, Kim James, Andrew McMahon, Charles Meredith, y Kerrie Swadling. 1991. "A Review of the Salt Sensitivity of the Australian Freshwater Biota." *Hydrobiologia* 210:105–44.
- Haseena, Mehtab, Muhammad Malik Faheem, Asma Javed, Sidra Arshad, Nayab Asif, Sharon Zulfiqar, y Jaweria Hanif. 2017. "Water Pollution and Human Health." *Environmental Risk Assessment and Remediation* 1(3):16–19.
- Hauer, Richard F. y Vincent H. Resh. 2007. "Macroinvertebrates." Pp. 435–63 in *Methods in Stream Ecology*, edited by R. F. Hauer and G. A. Lamberti. San Diego, California: Academic Press. Elsevier.
- Hayes, Timothy, Satoshi Usami, Ross Jacobucci, y John J. Mcardle. 2015. "Using Classification and Regression Trees (CART) and Random Forests to Analyze Attrition : Results From Two Simulations." *Psychol Aging* 30(4):911–29.
- Heinis, Floor, Klaas R. Timmermans, y Wayland R. Swain. 1990. "Short-Term Sublethal Effects of Cadmium on the Filter Feeding Chironomid Larva *Glyptotendipes pallens* (Meigen) (Diptera)." *Aquatic Toxicology* 16:73–86.

- Hellawell, J. M. 1978. *Biological Surveillance of Rivers*. Stevenage: Water Research Center.
- Helson, Julie E., D. Dudley Williams, y Dorothea Turner. 2006. "Larval Chironomid Community Organization in Four Tropical Rivers: Human Impacts and Longitudinal Zonation." *Hydrobiologia* 559(1):413–31.
- Henriques-Oliveira, A. L., J. L. Nessimian, y L. F. Dorvillé. 2003. "Feeding Habits of Chironomid Larvae (Insecta: Diptera) from a Stream in the Floresta Da Tijuca, Rio de Janeiro, Brazil." *Brazilian Journal of Biology* 63(2):269–81.
- Hernandez Sampieri, Roberto, Carlos Fernandez Collado, y Maria del Pilar Baptista Lucio. 2010. *Metodología de La Investigación*. 5ta ed. Ciudad de México: McGRAW-HILL/ INTERAMERICANA EDITORES, S.A. DE C.V.
- Heylen, S. y N. De Pauw. 2002. "Mentum Deformities in *Chironomus* Larvae for Assessment of Freshwater Sediments in Flanders, Belgium." *Internationale Vereinigung Für Theoretische Und Angewandte Limnologie: Verhandlungen* 28(2):781–85.
- Hilsenhoff, William L. 1987. "An Improved Biotic Index of Organic Stream Pollution." *The Great Lakes Entomologist* 20(1):31–39.
- Hilsenhoff, William L. 1988. "Rapid Field Assessment of Organic Pollution with a Family-Level Biotic Index." *Journal of the North American Benthological Society* 7(1):65–68.
- Hirabayashi, Kimio, Makoto Ichikawa, Shunsuke Okada, y Masaru Yamamoto. 2018. "Change of Macroinvertebrate Communities in the 1930s, 1970s and 2015 in the Mesotrophic Lake Nojiri, Central Japan." *Journal of Limnology* 77(1):81–87.
- Horrigan, Nelli, Satish Choy, Jonathan Marshall, y Friedrich Recknagel. 2005. "Response of Stream Macroinvertebrates to Changes in Salinity and the Development of a Salinity Index." *Marine and Freshwater Research* 56(6):825–33.
- Hudson, Lori A. y Jan J. H. Ciborowski. 1996a. "Spatial and Taxonomic Variation in Incidence of Mouthpart Deformities in Midge Larvae (Diptera: Chironomidae: Chironomini)." *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 53:297–304.
- Hudson, Lori A. y Jan J. H. Ciborowski. 1996b. "Teratogenic and Genotoxic Responses of Larval *Chironomus salinarius* Group (Diptera: Chironomidae) to Contaminated Sediment." *Environmental Toxicology and Chemistry* 15(8):1375–81.
- Hynes, H. B. N. 1960. *The Biology of Polluted Waters*. Liverpool: Liverpool University Press.
- Janssens De Bisthoven, L. G., K. R. Timmermans, y F. Ollevier. 1992. "The Concentration of Cadmium, Lead, Copper and Zinc in *Chironomus gr. thummi* Larvae (Diptera, Chironomidae) with Deformed versus Normal Menta." *Hydrobiologia* 239:141–49.
- Janssens de Bisthoven, Luc y F. Ollevier. 1989. "Some Experimental Aspects of Sediment Stress on *Chironomus gr. thummi* Larvae (Diptera: Chironomidae)." *Acta Biologica Debrecina. Supplementum Oecologica Hungarica* 3:147–55.
- Jenkins, R. A., K. R. Wade, y E. Pugh. 1984. "Macroinvertebrate–Habitat Relationships in the River Teifi Catchment and the Significance to Conservation." *Freshwater Biology* 14(1):23–42.
- Jeyasingham, Kanapathippillai y Nicholas Ling. 1997. "Head Capsule Deformities in *Chironomus zealandicus* (Diptera: Chironomidae): Influence of Site and Substrate." *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research* 31(2):175–84.
- Jones, John Iwan, John F. Murphy, Adrian L. Collins, Kate L. Spencer, Philip S. Rainbow, Amanda Arnold, James L. Pretty, Arabella M. L. Moorhouse, Victor Aguilera, Paul Edwards, Fred Parsonage, Hugh Potter, y Paul Whitehouse. 2018. "The Impact of Metal-Rich Sediments Derived from Mining on Freshwater Stream Life." P. 79 in *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. Vol. 238, edited by P. de Voogt. Springer.
- Júnior, Sidnei Pressinatte, Gilmar Perbiche-Neves, y Alice Michiyo Takeda. 2016. "The Environmental Heterogeneity of Sediment Determines Chironomidae (Insecta: Diptera) Distribution in Lotic and Lentic Habitats in a Tropical Floodplain." *Insect Conservation and Diversity* 9(4):332–41.
- Kalita, Suravi, Hari Prasad Sarma, y Arundhuti Devi. 2019. "Sediment Characterization and Spatial Distribution of Heavy Metals in the Sediment of a Tropical Freshwater Wetland of Indo-Burmese Province." *Environmental Pollution* 250:969–80.

- Karaouzas, Ioannis y Mateusz Płóciennik. 2016. "Spatial Scale Effects on Chironomidae Diversity and Distribution in a Mediterranean River Basin." *Hydrobiologia* 767(1):81–93.
- Karr, James R. 1991. "Biological Integrity : A Long-Neglected Aspect of Water Resource Management." *Ecological Applications* 1(1):66–84.
- Kefford, Ben J., Phil J. Papas, y Dayanthi Nugegoda. 2003. "Relative Salinity Tolerance of Macroinvertebrates from the Barwon River, Victoria, Australia." *Marine and Freshwater Research* 54(6):755–65.
- Kime, D. 1998. *Endocrine Disruption in Fish*. Boston: Kluwer Academic Publishers.
- Kolwitz, R. y M. Marsson. 1902. "Grundsätze Für Die Biologische Beurtheilung Des Wassers Nach Seiner Flora Und Fauna." *Mitteilungen Aus Der Prüfungsanstalt Für Wasserversorgung Und Abwasserbeseitigung* 1:33–72.
- Kolwitz, R. y M. Marsson. 1908. "Ökologie Der Pflanzlichen Saprobien." *Berichte Der Deutschen Botanischen Gesellschaft* 26(7):505–19.
- Kosalwat, Prapimpan y Allen W. Knight. 1987. "Chronic Toxicity of Copper to a Partial Life Cycle of the Midge, *Chironomus decorus*." *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 16(3):283–90.
- Koyama, Akihiko, Ryutei Inui, Yoshihisa Akamatsu, y Norio Onikura. 2019. "Physicochemical Factors Affecting Goby Fauna in the Intertidal Zones of Temperate Riverine Estuaries of the Seto Inland Sea." *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 219:24–32.
- Kwak, I. S. y W. Lee. 2005. "Mouthpart Deformity and Developmental Retardation Exposure of *Chironomus plumosus* (Diptera: Chironomidae) to Tebufenozide." *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 75(5):859–65.
- Lenat, David R. 1993. "Using Mentum Deformities of Chironomus Larvae to Evaluate the Effects of Toxicity and Organic Loading in Streams." *Journal of the North American Benthological Society* 12(3):265–69.
- Lencioni, Valeria, Enrico Mezzanotte, Camilla Spagnol, y Leonardo Latella. 2018. "Effects of Human Impacts on Diversity and Distribution of Chironomids (Diptera: Chironomidae) in Prealpine Springs." *Journal of Limnology* 77(1):203–12.
- Leszczyńska, Joanna, Maria Grzybkowska, Łukasz Głowacki, y Małgorzata Dukowska. 2019. "Environmental Variables Influencing Chironomid Assemblages (Diptera: Chironomidae) in Lowland Rivers of Central Poland." *Environmental Entomology* 48(4):988–97.
- Li, Li, Binghui Zheng, y Lusan Liu. 2010. "Biomonitoring and Bioindicators Used for River Ecosystems: Definitions, Approaches and Trends." *Procedia Environmental Sciences* 2:1510–24.
- Loh, Pei Sun, Chen Tung Arthur Chen, Gusti Z. Anshari, Jiann Yuh Lou, Jough Tai Wang, Shu Lun Wang, y Bing Jye Wang. 2016. "Sedimentary Organic Matter and Phosphate along the Kapuas River (West Kalimantan, Indonesia)." *Journal of Chemistry* 2016(6874234):9.
- Lu, Yonglong, Shuai Song, Ruoshi Wang, Zhaoyang Liu, Jing Meng, Andrew J. Sweetman, Alan Jenkins, Robert C. Ferrier, Hong Li, Wei Luo, y Tieyu Wang. 2015. "Impacts of Soil and Water Pollution on Food Safety and Health Risks in China." *Environment International* 77:5–15.
- MacDonald, Erin E. y Barry R. Taylor. 2006. "Incidence of Mentum Deformities in Midge Larvae (Diptera:Chironomidae) from Northern Nova Scotia, Canada." *Hydrobiologia* 563(1):277–87.
- Madden, C. P., A. D. Austin, y P. J. Suter. 1995. "Pollution Monitoring Using Chironomidae Larvae: Whats a Deformity?" Pp. 89–101 in *Chironomids: From Genes To Ecosystems*, edited by P. S. Cranston. CSIRO.
- Madden, C. P., P. J. Suter, B. C. Nicholson, y A. D. Austin. 1992. "Deformities in Chironomid Larvae as Indicators of Pollution (Pesticide) Stress." *NEIHERLANDS JOURNAL OF AQUATIC ECOLOGY* 26(2–4):551–57.
- Majumdar, Uttaran y Debbarayan Saha. 2013. "Mouth Parts Deformities in *Chironomus mayri* (Diptera: Chironomidae) Larvae as Indicators of Pollution in River Damodar, West Bengal, India." *Journal of Today's Biological Sciences: Research & Review (JTBSRR)* 2(2):77–82.
- Martinez, E. A., B. C. Moore, J. Schaumloffel, y N. Dasgupta. 2002. "The Potential Association between Menta Deformities and Trace Elements in Chironomidae (Diptera) Taken from a Heavy Metal Contaminated River." *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 42(3):286–91.
- Martinez, E. A., L. Wold, B. C. Moore, J. Schaumloffel, y N. Dasgupta. 2006. "Morphologic and Growth Responses in *Chironomus tentans* to Arsenic Exposure." *Archives of Environmental Contamination and*

- Toxicology* 51(4):529–36.
- Martinez, Edward A., Barry C. Moore, John Schaumloffel, y Nairanjana Dasgupta. 2004. "Teratogenic versus Mutagenic Abnormalities in Chironomid Larvae Exposed to Zinc and Lead." *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 47(2):193–98.
- Menezes, Salomé, Donald J. Baird, y Amadeu M. V. M. Soares. 2010. "Beyond Taxonomy: A Review of Macroinvertebrate Trait-Based Community Descriptors as Tools for Freshwater Biomonitoring." *Journal of Applied Ecology* 47(4):711–19.
- Meregalli, G., L. Pluymers, y F. Ollevier. 2001. "Induction of Mouthpart Deformities in *Chironomus riparius* Larvae Exposed to 4-n-Nonylphenol." *Environmental Pollution* 111:241–46.
- Millán, A., J. Velasco, C. Gutiérrez-Cánovas, P. Arribas, F. Picazo, D. Sánchez-Fernández, y P. Abellán. 2011. "Mediterranean Saline Streams in Southeast Spain: What Do We Know?" *Journal of Arid Environments* 75(12):1352–59.
- Mohamed Lotfi, Naira, Rowaida Saleh Ahmed, Sahar Ahmed El-Shatoury, y Amro Hanora. 2016. "In Situ Morphological Abnormalities in the Mouthparts of *Chironomus transvaalensis* (Non-Biting Midges) Stressing Their Role as Bioindicators." *Journal of Entomology and Zoology Studies* 4(4):1299–1305.
- Montaño-Campaz, Milton Leoncio, Lucimar Gomes-Dias, Beatriz Edilma Toro-Restrepo, y Víctor Hugo García-Merchán. 2019. "Incidence of Deformities and Variation in Shape of Mentum and Wing of *Chironomus columbiensis* (Diptera, Chironomidae) as Tools to Assess Aquatic Contamination." *PLoS ONE* 14(1):1–20.
- Morais, S. S., J. Malozzi, A. L. Viana, T. H. Viana, y M. Callisto. 2010. "Diversity of Larvae of Littoral Chironomidae (Diptera: Insecta) and Their Role as Bioindicators in Urban Reservoirs of Different Trophic Levels." *Brazilian Journal of Biology* 70(4):995–1004.
- Nazarova, Larisa B., H. Wolfgang Riss, Antje Kahlheber, y Bernd Werding. 2004. "Some Observations of Buccal Deformities in Chironomid Larvae (Diptera: Chironomidae) from Ciénaga Grande de Santa Marta, Colombia." *Caldasia* 26(1):275–90.
- Nyakeya, Kenya, J. M. Nyamora, y Emmy Kerich. 2018. "Incidence of Larvae Deformities in *Chironomus* Species (Diptera: Chironomidae) as Bio-Indicators of Water Quality in Lake Victoria Basin, Kenya." *African Journal of Education, Science and Technology* 4(3):47–60.
- Ochieng, H., E. D. De Ruyter Van Steveninck, y F. M. Wanda. 2008. "Mouthpart Deformities in Chironomidae (Diptera) as Indicators of Heavy Metal Pollution in Northern Lake Victoria, Uganda." *African Journal of Aquatic Science* 33(2):135–42.
- Odume, O. N., W. J. Muller, C. G. Palmer, y F. O. Arimoro. 2012. "Mentum Deformities in Chironomidae Communities as Indicators of Anthropogenic Impacts in Swartkops River." *Physics and Chemistry of the Earth* 50–52:140–48.
- Odume, Oghenekaro Nelson, Carolyn G. Palmer, Francis O. Arimoro, y Paul K. Mensah. 2016. "Chironomid Assemblage Structure and Morphological Response to Pollution in an Effluent-Impacted River, Eastern Cape, South Africa." *Ecological Indicators* 67:391–402.
- Oertel, Nándor y János Salánki. 2003. "Biomonitoring and Bioindicators in Aquatic Ecosystems." Pp. 219–46 in *Modern Trends in Applied Aquatic Ecology*, edited by R. S. Ambasht and N. K. Ambasht. Kluwer Academic/Plenum Publishers.
- Oetken, Matthias, Jean Bachmann, Ulrike Schulte-Oehlmann, y Jörg Oehlmann. 2004. "Evidence for Endocrine Disruption in Invertebrates." *International Review of Cytology* 236:1–44.
- Paggi, Analía. 1999. "Los Chironomidae Como Indicadores de Calidad de Ambientes Dulceacuicolas." *Revista de La Sociedad Entomológica Argentina* 58(1–2):202–7.
- Pansu, Marc y Jacques Gautheyrou. 2006. "CHAPTER 2. Particle Size Analysis." Pp. 15–64 in *Handbook of Soil Analysis: Mineralogical, Organic and Inorganic Methods*, edited by M. Pansu and J. Gautheyrou. Springer.
- Petersen, Lena B. M. y Robert C. Petersen. 1983. "Anomalies in Hydropsychid Capture Nets from Polluted Streams." *Freshwater Biology* 13(2):185–91.
- Pettigrove, V. 1989. "Larval Mouthpart Deformities in *Procladius paludicola* Skuse (Diptera: Chironomidae) from the Murray and Darling Rivers, Australia." *Hydrobiologia* 179:111–17.

- Pinha, GD., D. Aviz, DR. Lopes Filho, DK. Petsch, MR. Marchese, y AM. Takeda. 2013. "Longitudinal Distribution of Chironomidae (Diptera) Downstream from a Dam in a Neotropical River." *Brazilian Journal of Biology* 73(3):549–58.
- Planelló, Rosario, María J. Servia, Pablo Gómez-Sande, Óscar Herrero, Fernando Cobo, y Gloria Morcillo. 2015. "Transcriptional Responses, Metabolic Activity and Mouthpart Deformities in Natural Populations of *Chironomus riparius* Larvae Exposed to Environmental Pollutants." *Environmental Toxicology* 30(4):383–95.
- Prat, Narcís Blanca Ríos, Raúl Acosta, y Maria Rieradevall. 2009. "Los Macroinvertebrados Como Indicadores de Calidad de Las Aguas." P. 656 in *Macroinvertebrados Bentónicos Sudamericanos: sistemática y biología*, edited by E. Domínguez y H. R. Fernández. Tucumán: Fundación Miguel Lillo.
- Puntí, Tura, Maria Rieradevall, y Narcís Prat. 2009. "Environmental Factors, Spatial Variation, and Specific Requirements of Chironomidae in Mediterranean Reference Streams." *Journal of the North American Benthological Society* 28(1):247–65.
- Reeve, Roger. 2002. "Chapter 1. Introduction." Pp. 1–10 in *Introduction to Environmental Analysis*, edited by R. Reeve. John Wiley & Sons Ltd.
- Rehman, Inayat ur, Muhammad Ishaq, Liaqat Ali, Sardar Khan, Imtiaz Ahmad, Imran Ud Din, y Hameed Ullah. 2018. "Enrichment, Spatial Distribution of Potential Ecological and Human Health Risk Assessment via Toxic Metals in Soil and Surface Water Ingestion in the Vicinity of Sewakht Mines, District Chitral, Northern Pakistan." *Ecotoxicology and Environmental Safety* 154:127–36.
- Reynolds, Steven K. y Leonard C. Ferrington. 2014. "Differential Morphological Responses of Chironomid Larvae to Severe Heavy Metal Exposure (Diptera : Chironomidae)." *Journal of the Kansas Entomological Society* 75(3):172–84.
- Riani, Ety, Yoyok Sudarso, y Muhammad R. Cordova. 2014. "Heavy Metals Effect on Unviable Larvae of *Dicortendipes simpsoni* (Diptera: Chironomidae), a Case Study from Saguling Dam, Indonesia." *AAFL Bioflux* 7(2):76–84.
- Richardson, Susan D., Michael J. Plewa, Elizabeth D. Wagner, Rita Schoeny, y David M. DeMarini. 2007. "Occurrence, Genotoxicity, and Carcinogenicity of Regulated and Emerging Disinfection by-Products in Drinking Water: A Review and Roadmap for Research." *Mutation Research - Reviews in Mutation Research* 636(1–3):178–242.
- Rosa Vescovi, Beatriz Jabour Figueiraujo, Luciana Falci Rodrigues Theza, Gilmar Simões de Oliveira, y Roberto Alves da Gama. 2014. "Chironomidae and Oligochaeta for Water Quality Evaluation in an Urban River in Southeastern Brazil." *Environmental Monitoring and Assessment* 186(11):7771–79.
- Rosenberg, David M. 1992. "Freshwater Biomonitoring and Chironomidae." *NETHERLANDS JOURNAL OF AQUATIC ECOLOGY* 26(2–4):101–22.
- Rosenberg, David M. y Vincent H. Resh, eds. 1993. *Freshwater Biomonitoring and Benthic Macroinvertebrates*. Springer, US.
- Rossaro, Bruno. 1991. "Factors That Determine Chironomidae Species Distribution in Fresh Waters." *Bolletino Di Zoologia* 58(3):281–86.
- Ruiz-Moreno, Jeanet Liliana, Rodulfo Ospina-Torres, y Wolfgang Riss. 2000. "Guía Para La Identificación Genérica de Larvas de Quironómidos (Diptera: Chironomidae) de La Sabana de Bogotá. II. Subfamilia Chironominae." *Caldasia* 22(1):15–33.
- Ruiz, Yulibey Caleño, Carlos Alberto Rivera-Rondon, y Hernando Ovalle. 2018. "Hábitos Alimentarios de Quironómidos (Diptera: Chironomidae) En Lagos Del Páramo de Chingaza, Colombia." *Revista de Biología Tropical* 66(1):136–48.
- Saha, Debnarayan y Abhijit Mazumdar. 2014. "Incidence of Mentum Deformity of Chironomid Larvae (Diptera: Chironomidae) Prevalent in Rice Agro-Ecosystem of Hooghly District, West Bengal: A Sign of Pesticide Induced Stress?" *The Bioscan* 9(3):117–22.
- Saleem, Muhammad, Javed Iqbal, y Munir H. Shah. 2019. "Seasonal Variations, Risk Assessment and Multivariate Analysis of Trace Metals in the Freshwater Reservoirs of Pakistan." *Chemosphere* 216:715–24.

- Salmelin, Johanna, Kari Matti Vuori, y Heikki Hämäläinen. 2015. "Inconsistency in the Analysis of Morphological Deformities in Chironomidae (Insecta: Diptera) Larvae." *Environmental Toxicology and Chemistry* 34(8):1891–98.
- Sangpradub, Narumon. 2017. "Benthic Macroinvertebrates in Streams Contaminated by Acid Mine Drainage—A Pilot Study from Thailand." *Philippine Journal of Systematic Biology* 11(1):71–77.
- Segnini, Samuel. 2003. "El Uso de Los Macroinvertebrados Bentónicos Como Indicadores de La Condición Ecológica de Los Cuerpos de Agua Corriente." *ECOTROPICOS* 16(2):45–63.
- Servia, M. J., F. Cobo, y M. A. González. 2000. "SEASONAL AND INTERANNUAL VARIATIONS IN THE FREQUENCY AND SEVERITY OF DEFORMITIES IN LARVAE OF *CHIRONOMUS RIPARIUS* (MEIGEN, 1804) AND *PRODIAMESA OLIVACEA* (MEIGEN, 1818) (DIPTERA, CHIRONOMIDAE) COLLECTED IN A POLLUTED SITE." *Environmental Monitoring and Assessment* 64:617–26.
- Servia, María J. 2002. "El Estudio de Las Deformidades En Macroinvertebrados Acuáticos." *Boletín de La Asociación Española de Entomología* 26(1–2):165–76.
- Servia, Mariá J., Fernando Cobo, y Marcos A. González. 2004. "Effects of Short-Term Climatic Variations on Fluctuating Asymmetry Levels in *Chironomus riparius* Larvae at a Polluted Site." *Hydrobiologia* 523:137–47.
- Spies, Martin y Friedrich Reiss. 1996. "Catalog and Bibliography of Neotropical and Mexican Chironomidae (Insecta, Diptera)." *Spixiana Supplement* 22:61–119.
- Springer, Monika. 2010. "Capítulo 3. Biomonitoring Acuático." Pp. 53–59 in *Revista de Biología Tropical*. Vol. 58.
- Strayer, David L., Sarah E. May, Pamela Nielsen, Wilfried Wollheim, y Sharon Hausam. 1997. "Oxygen, Organic Matter, and Sediment Granulometry as Controls on Hyporheic Animal Communities." *Archiv Fur Hydrobiologie* 140(1):131–44.
- Su, Chao, Yonglong Lu, Andrew C. Johnson, Yajuan Shi, Meng Zhang, Yueqing Zhang, Monika D. Juergens, y Xiaowei Jin. 2017. "Which Metal Represents the Greatest Risk to Freshwater Ecosystem in Bohai Region of China?" *Ecosystem Health and Sustainability* 3(2):1–9.
- Sutherland, Ross A. 1998. "Loss-on-Ignition Estimates of Organic Matter and Relationships to Organic Carbon in Fluvial Bed Sediments." *Hydrobiologia* 389(1–3):153–67.
- Swansburg, Erin O., Wayne L. Fairchild, Brian J. Fryer, y Jan J. H. Ciborowski. 2002. "Mouthpart Deformities and Community Composition of Chironomidae (Diptera) Larvae Downstream of Metal Mines in New Brunswick, Canada." *Environmental Toxicology and Chemistry* 21(12):2675–84.
- Thorp, James H., Martin C. Thoms, y Michael D. DeLong. 2008. *The Riverine Ecosystem Synthesis. Towards Conceptual Cohesiveness in River Science*. Academic Press. Elsevier.
- Urk, Geert van, Frans C. M. Kerkum, y Henk Smit. 1992. "Life Cycle Patterns, Density, and Frequency of Deformities in *Chironomus* Larvae (Diptera: Chironomidae) over a Contaminated Sediment Gradient." *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 49:2291–99.
- Vannote, Robin L., G. Wayne Minshall, K. W. Cummins, J. R. Sedell, y Colbert E. Cushing. 1980. "The River Continuum Concept." *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 37(1):130–37.
- Velasco, Josefa, Cayetano Gutiérrez-Cánovas, María Botella-Cruz, David Sánchez-Fernández, Paula Arribas, José Antonio Carbonell, Andrés Millán, y Susana Pallarés. 2019. "Effects of Salinity Changes on Aquatic Organisms in a Multiple Stressor Context." *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 374(20180011).
- Vermeulen, A. C., G. Liberloo, P. Dumont, F. Ollevier, y B. Goddeeris. 2000. "Exposure of *Chironomus riparius* Larvae (Diptera) to Lead, Mercury and  $\beta$ -Sitosterol: Effects on Mouthpart Deformation and Moulting." *Chemosphere* 41(10):1581–91.
- Vermeulen, Angelo C. 1995. "Elaborating Chironomid Deformities as Bioindicators of Toxic Sediment Stress: The Potential Application of Mixture Toxicity Concepts." *Annales Zoologici Fennici* 32(3):265–85.
- Verniest, Fabien y Sabine Greulich. 2019. "Methods for Assessing the Effects of Environmental Parameters on Biological Communities in Long-Term Ecological Studies - A Literature Review." *Ecological Modelling* 414(108732).

- Di Veroli, A., F. Santoro, M. Pallottini, R. Selvaggi, F. Scardazza, D. Cappelletti, y E. Goretti. 2014. "Deformities of Chironomid Larvae and Heavy Metal Pollution: From Laboratory to Field Studies." *Chemosphere* 112:9–17.
- Di Veroli, Alessandra, Roberta Selvaggi, y Enzo Goretti. 2012. "Chironomid Mouthpart Deformities as Indicator of Environmental Quality: A Case Study in Lake Trasimeno (Italy)." *Journal of Environmental Monitoring* 14(5):1473–78.
- Villa, Sara, Valeria Di Nica, Francesco Bellamoli, Tanita Pescatore, Claudia Ferrario, Antonio Finizio, y Valeria Lencioni. 2018. "Effects of a Treated Sewage Effluent on Behavioural Traits in *Diamesa cinerella* and *Daphnia magna*." *Journal of Limnology* 77(Special Issue 1):121–30.
- Vinogradova, Evgenia M. 2008. "Six New Species of *Polypedilum* Kieffer, 1912, from the Yucatán Peninsula (Insecta, Diptera, Chironomidae)." *Spixiana* 31(2):277–88.
- Warwick, W. F. 1990. "Morphological Deformities in Chironomidae (Diptera) Larvae from the Lac St. Louis and Laprairie Basins of the St. Lawrence River." *Journal of Great Lakes Research* 16(2):185–208.
- Warwick, W. F., J. Fitchko, P. M. McKee, D. R. Hart, y A. J. Burt. 1987. "The Incidence of Deformities in *Chironomus* spp. from Port Hope Harbour, Lake Ontario." *Journal of Great Lakes Research* 13(1):88–92.
- Warwick, W. F. y N. A. Tisdale. 1988. "Deformities in *Chironomus*, *Cryptochironomus* and *Procladius* Larvae (Diptera: Chironomidae) from Two Differentially Stressed Sites in Tobin Lake, Saskatchewan." *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 45:1123–44.
- Warwick, William Frank. 1980. "Pasqua Lake, Southeastern Saskatchewan: A Preliminary Assessment of Trophic Status and Contamination Based on Chironomidae (Diptera)." Pp. 255–67 in *Chironomidae Ecology, Systematics Cytology and Physiology*, edited by D. A. Murray. Pergamon Press Ltd.
- Warwick, William Frank. 1991. "Indexing Deformities in Ligulae and Antennae of *Procladius* Larvae (Diptera: Chironomidae): Application to Contaminant-Stressed Environments." *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 48:1151–66.
- Watts, M. M. y D. Pascoe. 1996. "Use of the Freshwater Macroinvertebrate *Chironomus riparius* (Diptera: Chironomidae) in the Assessment of Sediment Toxicity." *Water Science and Technology* 34(7–8):101–7.
- Watts, Matthew M., David Pascoe, y Kathleen Carroll. 2003. "Exposure to 17 $\alpha$ -Ethinylestradiol and Bisphenol A - Effects on Larval Moulting and Mouthpart Structure of *Chironomus riparius*." *Ecotoxicology and Environmental Safety* 54(2):207–15.
- Weeraprapan, Pimchanoke, Somporn Chantara, Munetsugu Kawashima, Weerasak Roongruangwong, Rungnapa Tagun, y Chitchol Phalaraksh. 2018. "Mouthpart Deformities in Non-Biting Midge Larvae from a Cadmium Contaminated Stream in Northern Thailand." *ScienceAsia* 44(2):67–73.
- Weinstein, John E. 2003. "Influence of Salinity on the Bioaccumulation and Photoinduced Toxicity of Fluoranthene to an Estuarine Shrimp and Oligochaete." *Environmental Toxicology and Chemistry* 22(12):2932–39.
- Wiederholm, T. 1984. "Incidence of Deformed Chironomid Larvae (Diptera : Chironomidae) in Swedish Lakes." *Hydrobiologia* 109:243–49.
- Williams, Natalia, Diego Añón Suárez, Maria Rieradevall, Andrea Rizzo, Romina Daga, María A. Arribére, y Sergio Ribeiro Guevara. 2019. "Response of Chironomidae to Environmental Disturbances in a High Mountain Lake in Patagonia during the Last Millennium." *Quaternary Research* 1–15.
- Wright, J. F., D. Moss, P. D. Armitage, y M. T. Furse. 1984. "A Preliminary Classification of Running-water Sites in Great Britain Based on Macro-invertebrate Species and the Prediction of Community Type Using Environmental Data." *Freshwater Biology* 14(3):221–56.
- Zhang, Chang, Zhi gang Yu, Guang ming Zeng, Min Jiang, Zhong zhu Yang, Fang Cui, Meng ying Zhu, Liu qing Shen, y Liang Hu. 2014. "Effects of Sediment Geochemical Properties on Heavy Metal Bioavailability." *Environment International* 73:270–81.
- Zhang, Jian. 2008. "Zoobenthic Community Composition and Chironomidae (Diptera) Mouthpart Deformities as Indicators of Sediment Contamination in the Lake Huron-Lake Erie Corridor of the Laurentian Great Lakes." Library and Archives Canada.
- Zhong, Huan, Lisa Kraemer, y Douglas Evans. 2012. "Effects of Aging on the Digestive Solubilization of Cu from

- Sediments." *Environmental Pollution* 164:195–203.
- Zhong, Huan, Lisa Kraemer, y Douglas Evans. 2013. "Influence of Contact Time and Sediment Composition on the Bioavailability of Cd in Sediments." *Environmental Pollution* 173:11–16.
- Zinchenko, T. D., L. V. Golovatyuk, y E. V. Abrosimova. 2019. "Non-Biting Midges (Diptera, Chironomidae) in the Benthic Communities of Saline Rivers in the Lake Elton Basin: Diversity, Salinity Tolerance, and Distribution." *Entomological Review* 99(6):820–35.
- Žunić, Milenka, Ivana Živić, Marko Stanković, KATARINA Stojanović, y Zoran Marković. 2015. "Morphological Deformities of Mouthparts in Genus *Chironomus* (Diptera: Chironomidae) Induced by Heavy Metals." Pp. 540–45 in VII INTERNATIONAL CONFERENCE "WATER & FISH." Belgrade.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS



Cuernavaca, Morelos; abril 23, 2020

**Comisión de Seguimiento Académico  
Maestría en Biología Integrativa de la  
Biodiversidad y la Conservación  
Presente**

Como integrante del jurado y después de haber evaluado la tesis titulada "Análisis de deformidades en el mentón de larvas de quironómidos (Diptera, Chironomidae) en una cuenca rica en metales" del alumno **Orestes Carlos Bello González**, con número de matrícula **10013144**, aspirante al grado de Maestro en Biología Integrativa de la Biodiversidad y la Conservación, considero que la tesis reúne los requisitos para ser presentada y defendida en el examen de grado. Por lo tanto, emito mi **VOTO APROBATORIO**.

Agradezco de antemano la atención que se sirva prestar a la presente.

Atentamente

Dr. Norman Mercado Silva  
PITC

Centro de Investigación en Biodiversidad y Conservación.  
Universidad Autónoma del Estado de Morelos  
Correo E.: [norman.mercado@uaem.mx](mailto:norman.mercado@uaem.mx)  
Extensión Tel.: 3174



Fecha: 27/04/2020

**Comisión de Seguimiento Académico  
Maestría en Biología Integrativa de la  
Biodiversidad y la Conservación  
Presente**

Como integrante del jurado y después de haber evaluado la tesis titulada "Análisis de deformidades en el mentón de larvas de quironómidos (Diptera, Chironomidae) en una cuenca rica en metales" del alumno **Orestes Carlos Bello González**, con número de matrícula **10013144**, aspirante al grado de Maestro en Biología Integrativa de la Biodiversidad y la Conservación, considero que la tesis reúne los requisitos para ser presentada y defendida en el examen de grado. Por lo tanto, emito mi **VOTO APROBATORIO**.

Agradezco de antemano la atención que se sirva prestar a la presente.

Atentamente

---

**Dra. Perla Alonso EguíaLis**





**UASLP**  
Universidad Autónoma  
de San Luis Potosí



COORDINACIÓN PARA  
LA INNOVACIÓN Y LA  
APLICACIÓN DE LA  
CIENCIA Y LA TECNOLOGÍA

San Luis Potosí, S.L.P. a 27 de abril de 2020

**COMISIÓN DE SEGUIMIENTO ACADÉMICO  
MAESTRÍA EN BIOLOGÍA INTEGRATIVA DE LA  
BIODIVERSIDAD Y LA CONSERVACIÓN  
PRESENTE**

Como integrante del jurado y después de haber evaluado la tesis titulada "*Análisis de deformidades en el mentón de larvas de quironómidos (Diptera, Chironomidae) en una cuenca rica en metales*" del alumno **Orestes Carlos Bello González**, con número de matrícula **10013144**, aspirante al grado de *Maestro en Biología Integrativa de la Biodiversidad y la Conservación*; considero que la tesis reúne los requisitos para ser presentada y defendida en el examen de grado. Por lo tanto, emito mi **VOTO APROBATORIO**.

Agradezco de antemano la atención que se sirva prestar a la presente y quedo de ustedes.

Atentamente



Dr. César Ilizaliturri Hernández  
Profesor Investigador Tiempo Completo  
Coordinador del Centro en Investigaciones Aplicadas en Ambiente y Salud (CIAAS)  
e-mail: cesar.ilizaliturri@uaslp.mx; ilizaliturri.ca@hotmail.com  
Ext: 8463  
Web: <http://ecorisk.wordpress.com/about/>

[www.uaslp.mx](http://www.uaslp.mx)

Sierra Leona No. 550,  
Lomas 2a. Secc. • CP 78210  
San Luis Potosí, S.L.P., México  
tel. (444) 826 1450 ext. 8424 y 8413



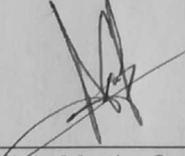
Fecha: 22 de abril de 2020

**Comisión de Seguimiento Académico  
Maestría en Biología Integrativa de la  
Biodiversidad y la Conservación  
Presente**

Como integrante del jurado y después de haber evaluado la tesis titulada "Análisis de deformidades en el mentón de larvas de quironómidos (Diptera, Chironomidae) en una cuenca rica en metales" del alumno **Orestes Carlos Bello González**, con número de matrícula **10013144**, aspirante al grado de Maestro en Biología Integrativa de la Biodiversidad y la Conservación, considero que la tesis reúne los requisitos para ser presentada y defendida en el examen de grado. Por lo tanto emito mi **VOTO APROBATORIO**.

Agradezco de antemano la atención que se sirva prestar a la presente.

Atentamente



---

Dra. Angélica María Corona López  
Profesora e Investigadora Tiempo Completo Titular B



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS



CENTRO DE  
INVESTIGACIONES  
BIOLOGICAS  
UAEM

Cuernavaca, Mor., a 13 de mayo del 2020.

**Comisión de Seguimiento Académico**  
**Maestría en Biología Integrativa de la**  
**Biodiversidad y la Conservación**  
**Presente**

Como integrante del jurado y después de haber evaluado la tesis titulada “Análisis de deformidades en el mentón de larvas de quironómidos (Diptera, Chironomidae) en una cuenca rica en metales” del alumno **Orestes Carlos Bello González**, con número de matrícula **10013144**, aspirante al grado de Maestro en Biología Integrativa de la Biodiversidad y la Conservación, considero que la tesis reúne los requisitos para ser presentada y defendida en el examen de grado. Por lo tanto emito mi **VOTO APROBATORIO**.

Agradezco de antemano la atención que se sirva prestar a la presente.

Atentamente

Dra. Elsa Arce Uribe

Profesora Investigadora CIB-UAEM

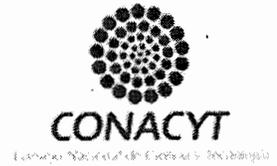




**INSTITUTO DE ECOLOGÍA, A.C.**

**Red de Biodiversidad y Sistemática**

*"2020, Año de Leona Vicario, Benemérita Madre de la Patria"*



Xalapa, Ver., a 29 de abril de 2020

**Comisión de Seguimiento Académico  
Maestría en Biología Integrativa de la  
Biodiversidad y la Conservación  
Presente**

Como integrante del jurado y después de haber evaluado la tesis titulada "Análisis de deformidades en el mentón de larvas de quironómidos (Diptera, Chironomidae) en una cuenca rica en metales" del alumno **Orestes Carlos Bello González**, con número de matrícula **10013144**, aspirante al grado de Maestro en Biología Integrativa de la Biodiversidad y la Conservación, considero que la tesis reúne los requisitos para ser presentada y defendida en el examen de grado. Por lo tanto emito mi **VOTO APROBATORIO**.

Agradezco de antemano la atención que se sirva prestar a la presente.

Atentamente

**Dr. Rodolfo Novelo Gutiérrez**