

Algunos aspectos de la ontogenia de las deformidades larvarias de *Chironomus riparius* Meigen, 1804 (Diptera, Chironomidae)

María J. Servia, Fernando Cobo & Marcos González

Dpto. de Biología Animal. Facultad de Biología. 15782 Santiago de Compostela. (A Coruña). España.

RESUMEN

Varios estudios han demostrado la ocurrencia de deformidades en las larvas de algunos géneros de Quironómidos relacionadas con diferentes compuestos químicos. Sin embargo, son escasos los datos experimentales sobre la inducción de deformidades, y la ontogenia de estas disrupciones fisiológicas también continúa considerablemente desconocida.

Los resultados de nuestro trabajo muestran la presencia de claras deformidades (incluyendo Köhn gaps) en el primer estadio larvario de *Chironomus riparius* Meigen, 1804, y también altas frecuencias de éstas en los estadios más avanzados. Además de esto, se encontró que larvas cultivadas en concentraciones crecientes de fenol (rangos de 0,001 g/l a 0,1 g/l) mostraban mayores frecuencias de anomalías morfológicas.

Palabras clave: *Chironomus riparius*, deformidades, ontogenia, fenol.

ABSTRACT

Various studies have demonstrated the occurrence of deformities in the larvae of several chironomid genera in relation to different chemical compounds. However, experimental data about the induction of deformities are scarce, and the ontogeny of these morphological disruptions also remains largely unknown.

The results of our work show the presence of clear deformities, including *Köhn gaps*, in the first instar larvae of *Chironomus riparius* Meigen, 1804, and also higher frequencies in older instars. Larvae growing in increasing concentrations of phenol (ranging from 0.001 g/l to 0.1 g/l) showed a higher frequency of morphological anomalies.

Key words: *Chironomus riparius*, deformities, ontogeny, phenol.

INTRODUCCIÓN

En los últimos quince años se ha producido un gran aumento del número de publicaciones en las que se realizan descripciones de malformaciones en diversas estructuras larvarias de Quironómidos capturados en lugares contaminados. Estas anomalías representan efectos subletales de los contaminantes, y pueden ser consideradas como una de las primeras señales de degradación del medio por contaminantes químicos (Warwick, 1990). Aunque en la mayoría de los casos se ha hecho referencia a tipos generales de

contaminación (industrial, agrícola, urbana), se han citado como posibles agentes causales de estas deformidades diferentes sustancias, tales como metales pesados, pesticidas, hidrocarburos aromáticos policíclicos, disolventes orgánicos como el xileno y el tolueno, etc. (Hamilton & Saether, 1971; Cushman, 1984; Warwick, 1985; Kosalwat & Knight, 1987; Madden *et al.*, 1992; Janssens de Bisthoven *et al.*, 1995, 1997; Dickman & Rygiel, 1996). Sin embargo, los datos experimentales sobre la inducción de estas malformaciones son aún bastante inconsistentes, y por ello la identificación de aquellas sustancias

que están implicadas en dicho proceso constituye un área prioritaria de estudio (Rosenberg, 1992; Vermeulen, 1998).

A pesar de que las deformidades han sido utilizadas como indicadores en numerosos estudios de toxicidad de sedimentos, todavía existen aspectos de la ontogenia de las mismas sin esclarecer. Además, son los últimos estadios larvarios los únicos estudiados en la bibliografía existente, no habiendo sido citadas ni estudiadas las posibles aberraciones presentes en los primeros estadios larvarios.

Así, los objetivos del presente trabajo son los siguientes:

- El conocimiento de los porcentajes de deformidades presentes en el primer estadio larvario de *Chironomus riparius* Meigen, 1804, y las características de las mismas.
- El estudio de la evolución de estas aberraciones en los diferentes estadios, con el objetivo de detectar una posible reversibilidad de las mismas.
- La posible inducción de deformidades en el laboratorio, mediante la utilización de diferentes concentraciones de fenol.

MATERIAL Y MÉTODOS

En 1997 se recolectaron, en una estación situada en el río Sar, (U.T.M. 29TNH3045) (A Coruña, NW España) numerosas larvas de *Chironomus riparius* en fase de prepupa. Ésta estación se encuentra aguas abajo de la planta depuradora que recoge los vertidos urbanos e industriales de Santiago de Compostela, la cual es incapaz de eliminar toda la carga contaminante de los mismos, por lo que en esta sección el río Sar se caracteriza por un estado de enriquecimiento orgánico notable.

Las larvas fueron trasladadas al laboratorio, situando su contenedor bajo una trampa de emergencia, con el objetivo de obtener puestas a partir de los individuos adultos. Éstas fueron colocadas en placas Petri, junto con agua procedente del lugar de recolección de las larvas y,

una vez eclosionadas, con los individuos obtenidos se realizaron varios estudios. En primer lugar, parte de las larvas de primer estadio se utilizaron para la elaboración de preparaciones microscópicas, y así poder comprobar la posible existencia de deformidades en las mismas.

Por otra parte, algunas de las larvas recién eclosionadas fueron trasladadas a tubos de cultivo de pequeño tamaño, con el fin de mantener los individuos aislados. De este modo, pueden obtenerse las cápsulas cefálicas de cada uno de los diferentes estadios larvarios, ya que las mudas permanecen en el lugar de cultivo.

Con el objetivo de estudiar el posible efecto teratológico sobre larvas criadas en laboratorio de diferentes concentraciones de un contaminante, se elaboraron disoluciones de fenol (0.0001 g/l 0.001 g/l, 0.01 g/l y 0.1 g/l) en agua destilada. Éstas se utilizaron como medio de cultivo de larvas de primer estadio, procedentes de las puestas originales.

El fenol y sus derivados son compuestos tóxicos frecuentemente presentes en los cursos de agua, bien como consecuencia de vertidos industriales o como producto de degradación de compuestos de uso frecuente como pesticidas, herbicidas, fungicidas, etc.

Las restantes larvas eclosionadas de las puestas se mantuvieron en el mismo medio de cultivo, y las cápsulas de los diferentes estadios fueron estudiadas una vez que las últimas larvas que habían alcanzado el cuarto estadio habían pupado ya o bien habían muerto.

Todo el material obtenido se preparó para su observación microscópica según los métodos descritos por Warwick & Casey (1982) y Warwick (1985).

RESULTADOS

Como puede observarse en la Tabla 1, parte de las larvas de primer estadio recogidas de las puestas iniciales presentaban ya deformidades en sus cápsulas cefálicas (entre un 1% y un 5%). La mayoría de las deformidades resultaron ser *Köhn gaps*, un tipo de anomalía que ha sido observado

Tabla 1. Porcentaje de deformidades en individuos de primer estadio recién eclosionados. *Frequency of deformities in newly-hatched first instar larvae.*

Puesta	Nº larvas	Nº deformes	% deformes
1	64	1	1.56
2	64	3	4.69
3	77	1	1.30
4	80	2	2.50

con frecuencia en lugares gravemente contaminados, e incluso ha sido relacionado con la presencia de metales pesados y otros contaminantes altamente peligrosos (Köhn & Frank, 1980; Janssens de Bisthoven, 1995).

En cuanto a las larvas eclosionadas de las puestas y cultivadas individualmente, se ha detectado la reversibilidad de las deformidades entre los diferentes estadios. Así, de un ejemplar cultivado se obtuvieron todas las cápsulas de las diferentes etapas larvianas. Su observación al microscopio reveló que, mientras las cápsulas correspondientes al primer y tercer estadio no presentaban ningún tipo de alteración apreciable, el diente central del mentum del segundo y cuarto estadios aparecía hendido, constituyendo un ejemplo claro de lo que en la bibliografía se denomina deformidad ligera.

Por lo que respecta a las larvas cultivadas en medios con diferentes concentraciones de fenol, en la tabla 2 se puede observar la mayor tendencia de los individuos a presentar deformidades en aquellos medios con mayores concentraciones de contaminante

Tabla 2. Porcentaje de deformidades en los individuos obtenidos de los cultivos en fenol. *Occurrence of deformities in individuals obtained from cultures with phenol.*

Fenol (g/l)	Nº larvas	Nº deformes	% deformes
0.0001	15	0	0
0.001	8	0	0
0.01	41	3	7.3
0.1	22	3	13.6

En la Tabla 3 se recogen los datos correspondientes al conjunto del material obtenido una vez finalizados los cultivos exentos de fenol. En la misma puede verse como la frecuencia de deformidades en los diferentes estadios varía en gran medida, siendo la más baja la presente en las larvas recién eclosionadas. Sin embargo, es notable el aumento del número de deformidades en los estadios segundo y tercero, y el descenso de las mismas en el cuarto.

DISCUSIÓN

La presencia de deformidades en estadios larvianos de Quironómidos se considera una consecuencia de la exposición de los individuos a diversos agentes contaminantes. Sin embargo, existe un gran vacío en el estudio del origen de dichas anomalías. Janssens de Bisthoven (1995) y Aston (1998) fueron los primeros en abordar el estudio de las posibles aberraciones morfológicas que podrían estar presentes en larvas recién eclosionadas, ya que ello contribuiría sin duda a un mejor conocimiento de las causas que provocan su aparición. Sin embargo, ninguno de los dos autores obtuvo resultados positivos, probablemente debido a que, según nuestros resultados, las frecuencias en dicho estadio son muy bajas, por lo que resulta imprescindible el estudio un gran número de individuos para poder observar alguna deformidad.

El hecho de que estas aberraciones estén presentes ya en larvas de primer estadio plantea varias posibles explicaciones:

- El lugar donde fueron recogidas las larvas para iniciar el cultivo presenta un alto grado

Tabla 3. Material total obtenido de las puestas incubadas. *Total material obtained from the incubated egg masses.*

Estadio	Nº larvas	Nº deformes	% deformes
I	375	9	2.4
II	128	16	12.5
III	152	14	9.2
IV	57	3	5.26

de contaminación (Servia, 1996; Servia *et al.*, 1998a, b) que podría tener efectos mutagénicos y las anomalías observadas podrían haber sido transmitidas de una generación a la siguiente.

- Podría tratarse también de una posible influencia del medio de cultivo (agua procedente del lugar de recolección) sobre la fase de huevo, siendo los contaminantes presentes en el mismo los causantes de las aberraciones.
- Hasta el momento no existe ningún tipo de estudio que permita descartar la posibilidad de que este tipo de aberraciones aparezcan de forma espontánea por defectos naturales del desarrollo.

Resulta por ello imprescindible analizar en profundidad todas estas posibilidades, ya que un mejor conocimiento de las causas que provocan la aparición de deformidades facilitará una correcta interpretación de los estudios en los que son utilizadas como bioindicadores.

Por otra parte, tal y como ya ha sido señalado en la introducción de este trabajo, otro campo de investigación prioritario sobre deformidades lo constituye la identificación de posibles agentes teratógenos. Así, el hecho de que nuestros resultados muestren un incremento del número de deformidades en concentraciones crecientes de un contaminante como es el fenol, podría ser considerado como reflejo de la naturaleza teratógena de dicha sustancia.

La mayor parte de los trabajos hasta ahora realizados sobre deformidades en larvas de Quironómidos han centrado sus investigaciones básicamente en las larvas de último estadio. Sin embargo, y como hemos podido comprobar tanto en los cultivos individuales como en los generales, es posible que las mismas sean reversibles entre los diferentes estadios de un mismo individuo. Por ello, sería conveniente ampliar este tipo de estudios a las larvas de los estadios más tempranos, ya que de otra forma podrían quedar ocultos posibles efectos de los contaminantes sobre los organismos.

BIBLIOGRAFÍA

- ASTON, W. A. 1998. *Morphological deformities in chironomid larvae (Chironomidae: Diptera: Biomarkers of urban polluted sediments)*. Ph.D. Thesis, Staffordshire University, England. 245 pp.
- CUSHMAN, R. M. 1984. Chironomid deformities as indicators of pollution from a synthetic, coal-derived oil. *Freshwat. Biol.*, 14: 179-182.
- DICKMAN, M. & G. RYGIEL, 1996. Chironomid larval deformity frequencies, mortality and diversity in heavy-metal contaminated sediments of a Canadian riverine wetland. *Environ. Internat.*, 22(6): 693-703.
- HAMILTON, A. L. & O. A. SAETHER, 1971. The occurrence of characteristic deformities in the chironomid larvae of several Canadian lakes. *Can. Ent.*, 103: 363-368.
- JANSSENS DE BISTHOVEN, L. 1995. *Morphological deformities in Chironomus gr. thummi (Diptera, Chironomidae) as bioindicators for micropollutants in sediments of Belgian lowland rivers*. Ph.D. thesis, Catholic University of Leuven, Belgium. 259 pp.
- JANSSENS DE BISTHOVEN, L., C. HUYSMANS & F. OLLEVIER, 1995. The *in situ* relationships between sediment concentrations of micropollutants and morphological deformities in *Chironomus gr. thummi* larvae (Diptera, Chironomidae) from lowland rivers (Belgium): a spatial comparison. In: *Chironomids: From genes to ecosystems*. P. S. Cranston (ed.): 63-80. CSIRO Publications. Canberra.
- JANSSENS DE BISTHOVEN, L., C. HUYSMANS, R. VANNEVEL, G. GOEMANS & F. OLLEVIER, 1997. Field and experimental morphological response of *Chironomus* larvae (Diptera, Nematocera) to xylene and toluene. *Neth. J. Zool.*, 47(2): 227-239.
- KÖHN, T & C. FRANK, 1980. Effect of thermal pollution on the chironomid fauna in an urban channel. In: *Chironomidae. Ecology, Systematics, Cytology and Physiology*. D.A. Murray (ed.): 187-194. Pergamon Press. Oxford.
- KOSALWAT, P. & A. W. KNIGHT, 1987. Chronic toxicity of copper to a partial life cycle of the midge *Chironomus decorus*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 16: 283-290.
- MADDEN, C. P., P. J. SUTER, B. C. NICHOLSON & A. D. AUSTIN, 1992. Deformities in chironomid larvae as indicators of pollution (pesticide) stress. *Neth. J. Aquat. Ecol.*, 26: 551-557.

- ROSENBERG, D. M. 1992. Freshwater biomonitoring and Chironomidae. *Neth. J. Aquat. Ecol.*, 26(2-4): 101-122.
- SERVIA, M. J. 1996. *Contribución al estudio de las deformidades larvarias en Quironómidos (Diptera, Chironomidae) y su relación con el estrés ambiental en aguas dulces de Galicia (N. O. de España)*. Tesis de Licenciatura. 136 pp.
- SERVIA, M. J., F. COBO & M. A. GONZÁLEZ, 1998a. Deformities in larval *Procladius olivaceus* (Meigen, 1818) (Diptera, Chironomidae) and their use as bioindicators of toxic sediment stress. *Hydrobiologia*, 385: 153-162.
- SERVIA, M. J., F. COBO & M. A. GONZÁLEZ, 1998b. Evaluación del nivel de estrés ambiental en diversos ecosistemas acuáticos de Galicia, mediante el estudio de deformidades en larvas de *Chironomus riparius* Meigen, 1804 (Diptera, Chironomidae). *Nova Acta Científica Compostelana (Biología)*, 8: 271-280.
- VERMEULEN, A. 1998. *Head capsule deformation in Chironomus riparius larvae (Diptera): causality, ontogenesis and its application in biomonitoring*. Ph.D. Thesis, Royal Belgian Institute of Natural Sciences, Belgium. 207 pp.
- WARWICK, W. F. 1985. Morphological abnormalities in Chironomidae (Diptera) larvae as measures of toxic stress in freshwater ecosystems: Indexing antennal deformities in *Chironomus* Meigen. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 42: 1881-1914.
- WARWICK, W. F. 1990. The use of morphological deformities in chironomid larvae for biological effects monitoring. *Environment Canada Inland Waters Directorate Sci. Series*, 173(43). 34 pp.
- WARWICK, W. F. & C. A. CASEY, 1982. Sampling chironomid communities in lakes. Can. Dep. Environ., Inland Waters Dir., Natl. Water Res. Inst., Tech. Rep. W. N. R.-PR-82-02, 43 pp.