

LOS INDICADORES BIOLÓGICOS

Nora Gómez
Eduardo Domínguez
Alberto Rodrigues Capítulo
Hugo R. Fernández

LOS INDICADORES BIOLÓGICOS

Nora Gómez, Eduardo Domínguez,
Alberto Rodríguez Capítulo y Hugo R. Fernández

RESUMEN

Los indicadores biológicos sintetizan información del medio que habitan, por lo tanto su aporte al diagnóstico de la calidad ambiental de los ecosistemas acuáticos resulta un complemento indispensable de otros tipos de mediciones como las que brindan los parámetros físico-químicos. Su uso como biomonitores puede ser considerado, además de una herramienta de evaluación ambiental, un potente medio de comunicación. En este capítulo se expone el empleo de distintos niveles de organización biológica que se pueden utilizar para evaluar las consecuencias de un impacto natural o antropogénico en un cuerpo de agua. Se presentan desde indicadores de cambios moleculares y bioquímicos hasta los que involucran la estructura y funcionamiento del ecosistema. Se exponen las ventajas y desventajas del uso de los principales grupos de organismos acuáticos que se pueden emplear en el monitoreo, los principales métodos de evaluación biológica y las escalas temporales en el empleo de indicadores biológicos.

Palabras clave: Biomonitorio, calidad del agua, evaluación biológica, índices bióticos.

ABSTRACT

Biological indicators synthesize information of the environment they inhabit. Therefore, their contribution to the diagnosis of the environmental quality of aquatic ecosystems is an indispensable complement of other types of measurements such as the physico-chemical ones. The use of biomonitors can be considered as a potent tool for environmental assessment and a powerful means of communication. In this chapter the use of indicators of molecular and biochemical changes to those that involve the structure and functioning of the ecosystem are described. The advantages and disadvantages of the use of the main groups of aquatic organisms that can be used in monitoring, the main biological assessment methods and the time scales in the use of biological indicators are exposed.

Keywords: Biomonitoring, water quality, biological assessment, biotic index.

INTRODUCCIÓN

El ambiente está expuesto a cambios rápidos y frecuentes, enfrentándose a un número cada vez mayor de contaminantes, algunos incluso desconocidos, que se combinan con el cambio climático y con la pérdida de biodiversidad para amenazar a casi todos los ecosistemas del mundo. Este complejo sistema de interacciones e interrelaciones requieren intensificar los esfuerzos para procesar y proporcionar información integrada sobre el estado de la calidad ambiental. En este contexto los indicadores biológicos son reconocidos, por su capacidad de sintetizar información del medio en el que se encuentran, como excelentes herramientas para la gestión y la comunicación dado que proporcionan información única y complementaria de otros tipos de mediciones como las que proveen los parámetros físico-químicos. El monitoreo es definido como un proceso de vigilancia que busca asegurar que las condiciones de control de calidad están siendo alcanzadas. La vigilancia es una búsqueda sistemática y ordenada de toma de datos, con métodos estándares y procedimientos que permiten realizar comparaciones entre regiones (Cairns, 2002). De este modo, el biomonitoreo es estrictamente reservado para procesos de monitoreo que involucren organismos vivos.

En los ecosistemas acuáticos es posible reconocer una gran variedad de hábitats que albergan una rica diversidad de organismos, los cuales, a través de su existencia en un espacio y tiempo, son capaces de desarrollar estrategias para adaptarse a los distintos factores ambientales, detectando permanentemente lo que ocurre en su entorno, constituyéndose así en bioindicadores (Margalef, 1983). Si bien se pueden reconocer muchos indicadores biológicos o bioindicadores en los ecosistemas acuáticos no todos reúnen las condiciones para ser considerados biomonitores, para lo cual se requiere que puedan proveer información de carácter cuantitativo sobre la calidad del ambiente, pudiendo emplearse para tal fin un organismo, una parte del mismo o bien una comunidad de organismos (Markert et al., 2003). Se pueden utilizar distintos niveles de organización para evaluar las consecuencias de un impacto en un cuerpo de agua, desde el subcelular hasta el de ecosistema, analizando desde cambios moleculares y bioquímicos hasta cambios en la estructura y funcionamiento del ecosistema (Fig.1).

La selección de los niveles de organización a definir frente a un impacto sobre el ambiente dependerá de la escala de respuesta que se busque. Se pueden encontrar desde respuestas inmediatas hasta las que requieren años o décadas en manifestarse. (Fig.2).

El uso de organismos como indicadores biológicos para detectar cambios ambientales en los ecosistemas acuáticos tiene varias ventajas, entre las más importantes se destacan:

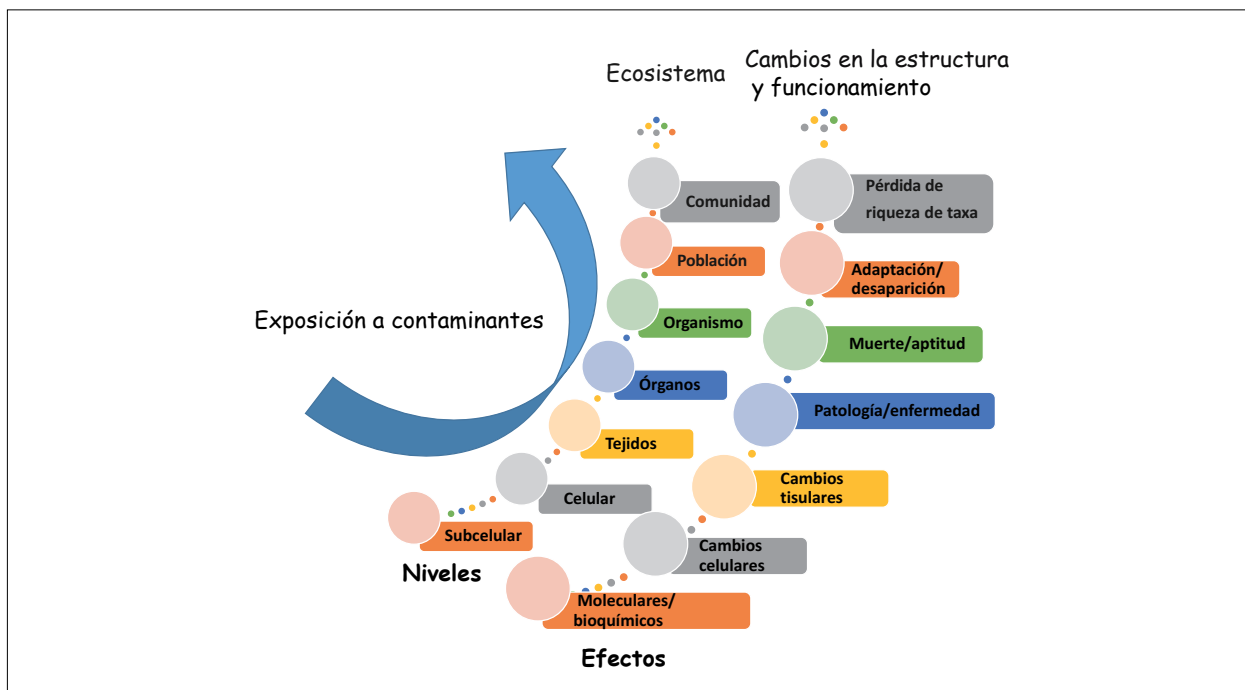


Figura 1: Niveles de organización y efectos que se pueden observar en la biota como consecuencias de un impacto ambiental antropogénico en los ecosistemas acuáticos.

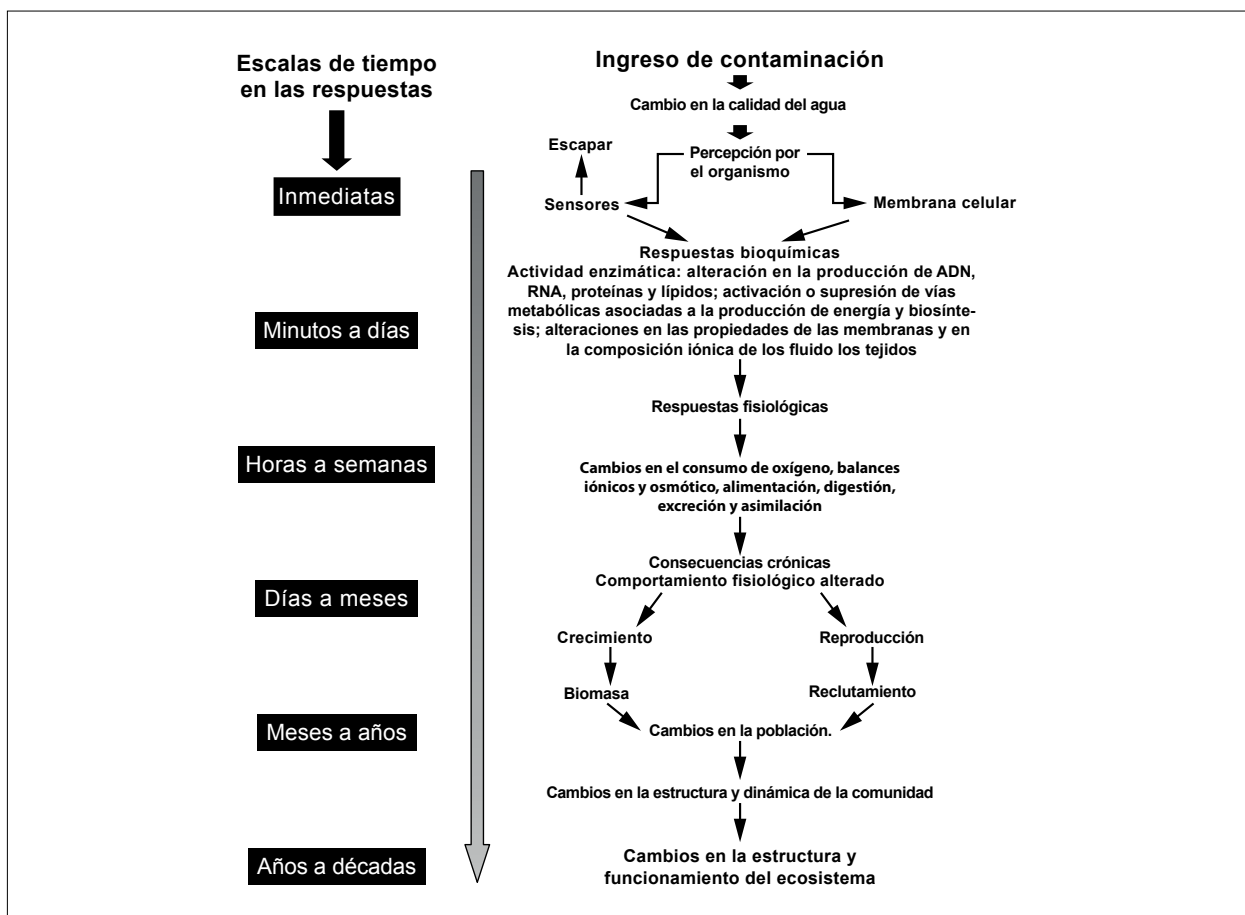


Figura 2: Sucesión de cambios esperados en la biota frente a una perturbación en un ecosistema acuáticos (modificado de Vernberg, & Vernberg, 1981).

I. Las poblaciones de organismos que se hallan en la naturaleza reúnen información que los análisis físico-químicos no detectan, en tal sentido las especies y comunidades bióticas responden a efectos acumulativos intermitentes, que en un muestreo de variables químicas o físicas pueden pasar inadvertidos.

II. La vigilancia biológica evita la determinación regular de un número excesivo de parámetros físicos y químicos, ya que en los organismos se sintetizan o confluyen una buena parte de la información aportada por aquellas variables.

III. Los indicadores biológicos permiten detectar la aparición de elementos contaminantes nuevos o insospechados, incluso en bajas concentraciones, ya que muchas

sustancias se acumulan en el cuerpo de ciertos organismos (bioacumulación) y por lo tanto analizar estas concentraciones en esos indicadores puede reflejar el nivel de contaminación ambiental.

IV. Como resulta imposible extraer muestras de toda la biota acuática, la selección de algunas pocas especies indicadoras simplifica y reduce los costos de la valoración sobre el estado del ecosistema, favoreciendo la captura de información pertinente y desechando así una cantidad de datos difíciles de manejar e interpretar.

Existen una gran diversidad de organismos que se pueden emplear en los diagnósticos ambientales y para la selección de estos se deben considerar las ventajas y desventajas que presentan (Tabla 1).

Tabla 1. Principales grupos de organismos acuáticos empleados como indicadores biológicos, ventajas y desventajas de su empleo, extraído de UNESCO-WHO-UNEP (1996).

	Ventajas	Desventajas
Bacterias	Metodología de rutina bien desarrollada. Rápida respuesta a los cambios ambientales, incluida la contaminación. Indicadores de contaminación fecal. Facilidad para obtener las muestras.	Las poblaciones se recuperan rápidamente de la contaminación intermitente. Se requiere equipamiento especializado para el procesamiento de las muestras.
Protozoos	Son conocidos los valores de tolerancia a la contaminación con materia orgánica. Facilidad para obtener las muestras.	Se requiere un buen conocimiento taxonómico.
Algas	Las tolerancias a la contaminación están bien documentadas en la bibliografía. Indicadores útiles de eutrofización y aumento de la turbidez.	Se requiere de un buen conocimiento taxonómico. Pueden presentarse algunos problemas vinculados con la forma de colectar las muestras.
Macroinvertebrados	Diversidad de formas y hábitos. Muchas de las especies son sedentarias. Ciclos de vida largos que facilitan la interpretación de los efectos de contaminación en períodos prolongados. Muestreo cualitativo fácil y sencillo. Se dispone de buenas claves taxonómicas.	El muestreo cuantitativo es difícil. El tipo de sustrato y la preferencia de algunas especies sobre otras condicionan la extracción de la muestra. Las especies pueden derivar con el movimiento del agua. Se deben conocer los ciclos de vida para interpretar la ausencia de especies.
Macrófitas	Especies generalmente arraigadas. Facilidad para visualizarlas e identificarlas. Buenas indicadoras del enriquecimiento con nutrientes y sólidos suspendidos.	Las respuestas a la contaminación pueden ser ambiguas. A menudo toleran la contaminación intermitente. Alta dependencia de la estacionalidad.
Peces	Métodos de muestreo bien desarrollados. Respuestas fisiológicas inmediatas. Pueden indicar cambios en la cadena alimentaria. Facilidad para identificarlos.	Las especies pueden movilizarse para evitar la contaminación.

MÉTODOS DE EVALUACIÓN CON INDICADORES BIOLÓGICOS

Cuando se produce el ingreso de un contaminante o acontece otro evento que perturba las condiciones ecológicas de un sistema acuático tanto de origen natural (actividad volcánica, incendios por causas naturales, aludes, sequías, inundaciones, etc.) como de origen antropogénico (ej. dragados, construcción de presas, contaminantes, etc.) se generan una serie de cambios en los organismos y en la composición de las comunidades, cuya magnitud depende del tiempo que dure la perturbación, su intensidad y naturaleza (UNESCO-WHO-UNEP, 1996). A modo de ejemplo, el estudio de los cambios que acontecen en la riqueza de

taxa y en el porcentaje de especies sensibles, tolerantes y muy tolerantes a la contaminación en los ensambles de macroinvertebrados y diatomeas bentónicas en cursos de agua expuestos a fuentes de contaminación, permite evaluar el impacto y la capacidad de recuperación del sistema acuático aguas abajo de las mismas (Fig.3). Hasta aquí los impactos antrópicos a los que hacemos referencia son puntuales, es decir, ingreso de contaminantes, dragado en un tramo, etc., separándolos de los impactos de tipo difuso como el aporte de nutrientes o pesticidas de campos de cultivos por escorrentía, vientos, etc. Lo mismo para casos de aportes de sales por uso en carreteras con nieve, o casos de precipitaciones ácidas o metales pesados proveniente de la circulación de vehículos en rutas o en ciudades.

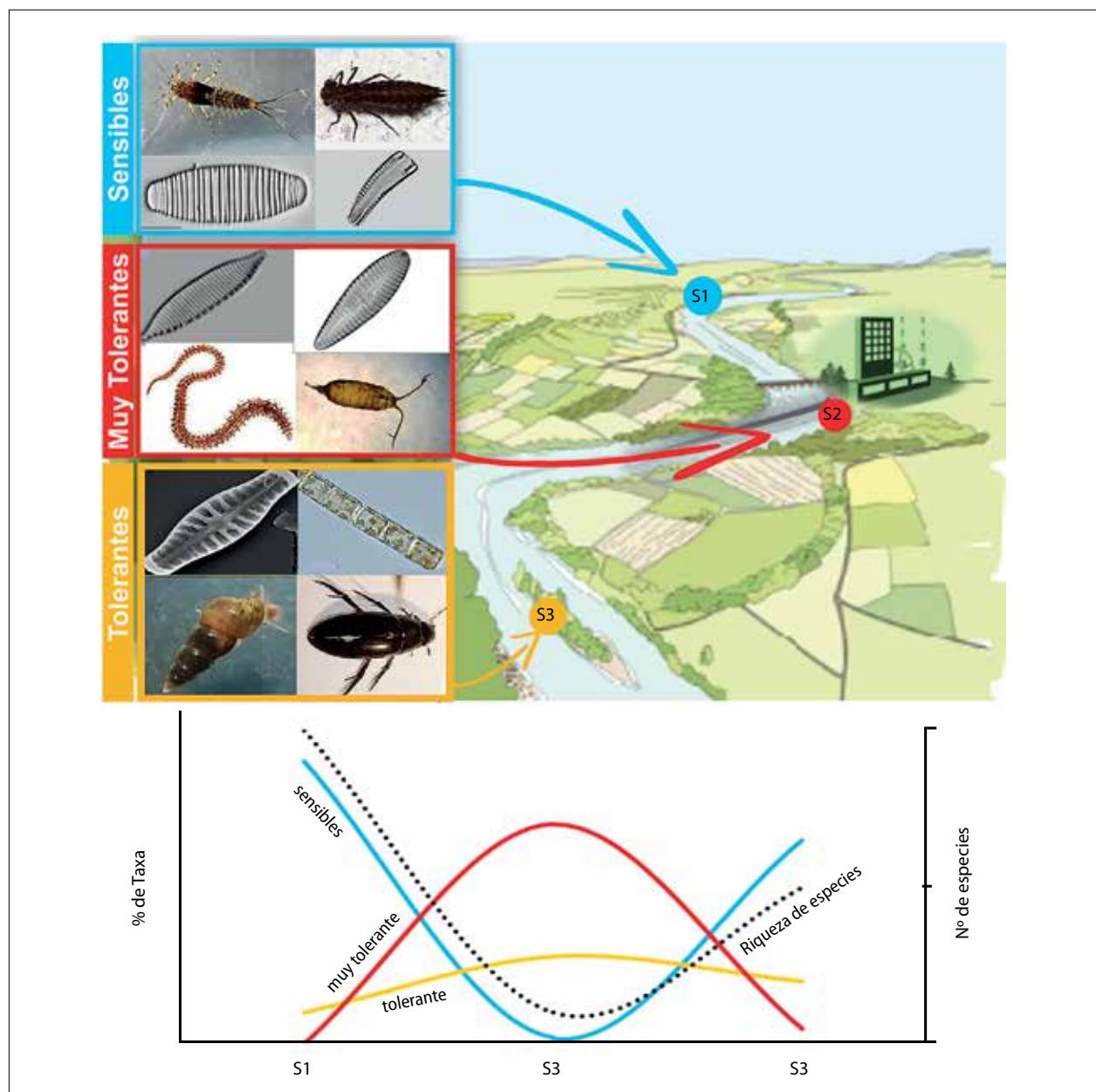


Figura 3: Ejemplo de los cambios en la riqueza de taxa y tolerancia de las diatomeas y macroinvertebrados bentónicos aguas arriba (S1), en el sector afectado por las fuentes de contaminación (S2), y aguas debajo de las mismas (S3).

Desde hace mucho tiempo se usan también las medidas de diversidad clásicas para evaluar un cambio en la comunidad de un sitio o tramo de un cuerpo de agua. De tal forma, tomando en cuenta las distintas respuestas de los organismos a los cambios ambientales se pueden distinguir diferentes métodos para evaluar la calidad biológica del agua tales como: índices de diversidad, de similitud, índices bióticos, enfoques multimétricos y multivariados, grupos funcionales de alimentación, rasgos biológicos, etc. Asimismo, la bioacumulación y las respuestas de los organismos frente a la toxicidad de los contaminantes resultan un componente importante en los programas de monitoreo (Markert et al., 2003).

Los indicadores bióticos necesitan no solo indicar la interacción a largo plazo de varias condiciones ambientales, sino también reaccionar a un cambio repentino de factores importantes.

Existen varias alternativas en la selección de los indicadores para el biomonitoreo, dependiendo del tipo de cuerpo de agua. En el caso de arroyos y ríos, los macroinvertebrados, perifiton o biofilms y peces son los más utilizados, en tanto para lagos, lagunas y grandes ríos el plancton es la comunidad más usada.

PRINCIPALES MÉTODOS DE EVALUACIÓN BIOLÓGICA

Índices bióticos

Entre la amplia diversidad de comunidades o asociaciones de especies que se pueden emplear en un biomonitoreo, los macroinvertebrados y las diatomeas bentónicas son los más utilizados en sistemas fluviales a nivel internacional. Entre las diferentes métricas empleadas para el monitoreo, los índices bióticos son seleccionados frecuentemente en los programas de monitoreo; esto es porque pueden responder mejor a un tipo de contaminación (por ejemplo materia orgánica, nutrientes, etc.), a un tipo de cuerpo de agua (lago, laguna, río etc.) o bien a una tipología particular, por ejemplo ríos de llanura, de montaña, etc.

Al momento de seleccionar un índice biótico para el monitoreo se deben tener en cuenta aspectos relacionados con la topografía, estacionalidad, hidrología y características del hábitat físico. Existen numerosos índices bióticos, muchos de ellos diseñados especialmente para el hemisferio norte (Barbour et al., 1999), que han sido también reportados para el hemisferio sur y particularmente para Sudamérica (Domínguez & Fernández, 1998; Rodrigues Capítulo y Gómez, 2004; Pavé y Marchese, 2005; Silveira et al., 2005; Baptista et al., 2007; Figueroa et al., 2007; Dos Santos et al., 2011; Miserendino, et al., 2016; Roldan-Perez, 2016; etc.). Algunos índices han sido modificados por su practicidad

para aplicarlos en otras zonas, como por ejemplo el índice BMWP (Biological Monitoring Working Party) desarrollado para cursos de agua europeos (Armitage et al., 1983) y muy difundido su uso en Sudamérica, pero que muchas veces ha necesitado de adaptaciones para su empleo (por ejemplo Domínguez & Fernández, 1998). La validez de estas modificaciones, basadas en los valores de tolerancia asignados a los organismos, fueron evaluados a nivel mundial por Chang et al., (2014), concluyendo que en general son aceptables, aunque debería desarrollarse un método de asignación de estos valores.

En los casos en los que resultara necesario generar un nuevo índice porque los existentes no se adaptan a las condiciones locales que se pretende evaluar, se deben tener en consideración una serie de pasos. En primer lugar es necesario extraer correctamente la muestra biológica (ej. macroinvertebrados, diatomeas, peces, plancton, etc.) empleando los protocolos correspondientes y considerando los distintos tipos de hábitats (ej. zonas de corriente rápida o lenta), tipos de sustratos disponibles en los cursos de agua (ej. rocas, grava, arena, limo, arcillas, plantas e incluso sustratos artificiales) (Barbour et al., 1999; Biggs & Kilroy, 2000). Simultáneamente a la extracción de la muestra biológica deben realizarse mediciones en campo de parámetros físico-químicos (ej. oxígeno disuelto, conductividad, turbidez, pH, etc.), y extraer muestras de agua para la determinación de otros parámetros como la demanda biológica de oxígeno (DBO), demanda química de oxígeno (DQO) y nutrientes, entre otros. Esta información permitirá la caracterización de la calidad del agua en la que fueron colectados los organismos. También, como dato complementario es conveniente la caracterización del hábitat (ej. cobertura de macrófitas, fuentes de contaminación, estado del cauce y de la ribera, etc.). A partir de una base de datos lo suficientemente amplia que incluya parámetros de sitios con muy buena a muy mala calidad del agua se asignan los valores de tolerancia de los organismos a la contaminación según las distintas calidades del agua en la que fueron hallados. Para establecer estas relaciones se recurren a técnicas estadísticas tales como correlaciones paramétricas y no paramétricas, y análisis multivariados entre otras; estas permiten distinguir taxa sensibles, tolerantes y muy tolerantes, permitiendo asignar valores de manera confiable para identificar las distintas calidades del agua (Fig. 4). Una vez clasificados los taxa de acuerdo a su tolerancia a la contaminación se establece la modalidad del cálculo para obtener el valor del índice biótico (ej. ecuaciones, sumatorias de valores asignados a los taxa en relación con su sensibilidad a la contaminación, tablas estándar de doble entrada que contemplan la sensibilidad de los organismos y riqueza taxonómica, etc.). Una vez obtenido el índice se procede a la validación del mismo para confirmar la confiabilidad o solidez del mismo.

Los distintos valores del índice que indican las distintas calidades del agua se pueden representar con

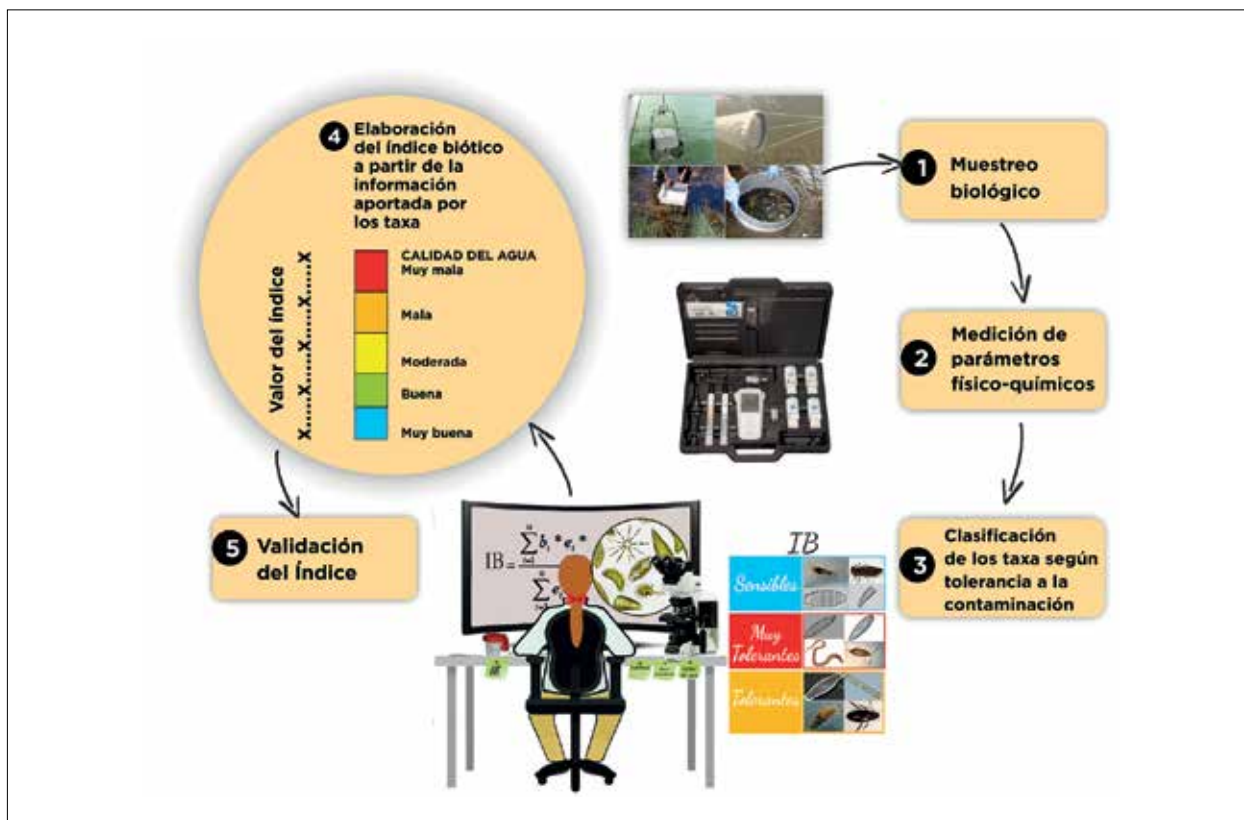


Figura 4: Secuencias de pasos en la elaboración de un índice biótico.

distintos colores establecidos internacionalmente (rojo, naranja, amarillo, verde, azul, que identifican desde una calidad del agua muy mala a muy buena) o con otros tipos de simbologías. En las Figs. 5 y 6 se ejemplifica la representación de índices bióticos empleados en el monitoreo de la cuenca Matanza-Riachuelo, un curso de agua sometido a un proceso de rehabilitación, en el que se aplican índices bióticos para su monitoreo. En distintos capítulos de este libro se encontrarán ejemplos de aplicación de índices bióticos para distintas ecorregiones del país.

También existen índices multimétricos para el monitoreo de cursos de agua, los cuales surgen de la selección de distintas métricas que contemplan aspectos como la abundancia, riqueza de especies, tolerancia a la contaminación, características tróficas, etc. Uno de los más conocidos es el Índice de Integridad Biótica desarrollado por Karr et al., (1986) el cual integra 12 métricas biológicas basadas en el ensamble de peces, considerando la composición taxonómica, la abundancia, características tróficas y condición de los peces. En América del Sur también tenemos ejemplos de aplicación de índices multimétricos utilizando macroinvertebrados (Moya et al., 2011; Villamarín et al., 2014) o integrando métricas provenientes de los ensambles de fitoplancton, de diatomeas y macroinvertebrados bentónicos (Gómez et al., 2012).

Cabe resaltar que la ventaja del uso de los índices bióticos radica en que son relativamente simples de calcular, no requieren equipamientos sofisticados como pueden necesitar otro tipo de indicadores (ej. métodos fisiológicos, bioquímicos o ensayos ecotoxicológicos, entre otros). Sin embargo como desventajas suelen requerir de una identificación taxonómica por parte de expertos, ya que si bien algunos se pueden calcular a partir de la identificación a nivel de familia, otros requieren ser identificados a nivel de especie. Por otra parte se debe tener en cuenta cuál fue el objetivo para el cual fue implementado y no pretender que explique condiciones ambientales que el mismo no contempló en su desarrollo.

Es importante destacar aquí que la multiplicidad de índices que se han desarrollado, en cierta forma responden a factores biológicos, ecológicos e históricos que condicionan la distribución de las especies. Así, por ejemplo, un índice que se aplica en una ecorregión, puede no ser válido en otra, ya que no se encontrarán los mismos organismos, y por lo tanto los valores de los índices serán diferentes. Otro caso típico es que en el mismo río, la comunidad biológica que se encontrará en altura será diferente de aquella que se encuentre en la llanura y por lo tanto no es posible que un solo índice sirva para todo el río. Por otra parte, porciones de diferentes ríos que se encuentran en la misma ecorregión, sí tendrán comunidades semejantes y por lo tanto será aplicable el mismo

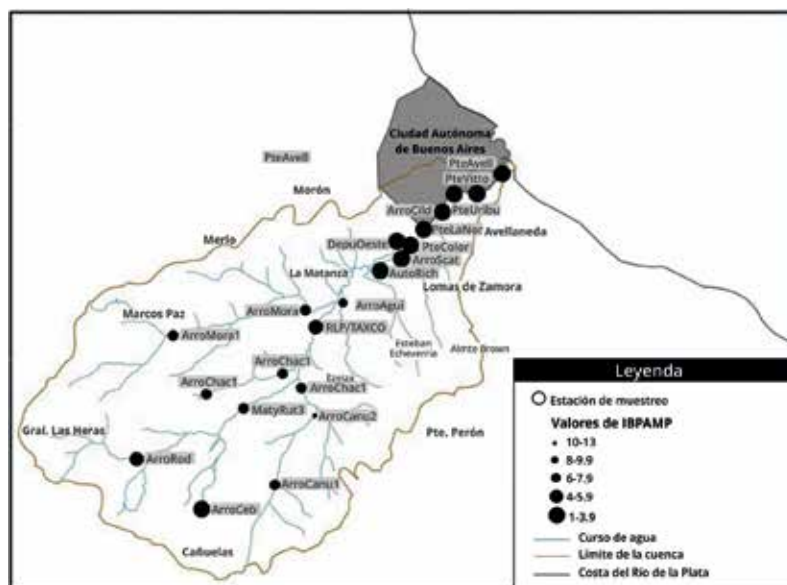


Figura 6: Mapa de la cuenca Matanza-Riachuelo y los valores del Índice Biótico Pampeano (IBPAMP) (Rodríguez Capítulo et al., 2001).

índice. Un buen ejemplo de esto es que un mismo índice puede aplicarse con muy pocos ajustes en las selvas montañas desde Catamarca hasta el sur de Bolivia, mientras que las comunidades (y por lo tanto los índices) de un río de montaña de Tucumán no podrán aplicarse al mismo río, en la misma provincia, en su tramo de llanura. Por esta razón la tipología de los ríos, con sus caracterizaciones de cuerpos de agua de una determinada región, puede ayudar en la determinación de la posibilidad de aplicación de ciertos índices en otras regiones (Wasson et al., 1998; Moya et al., 2003; Pero et al., 2019).

ÍNDICES DE DIVERSIDAD Y SIMILITUD

Los ecosistemas se caracterizan por una gran diversidad de especies, la mayoría de las cuales están representadas por relativamente pocos individuos. Cuando, por ejemplo, la contaminación cambia la condición previa, algunos taxa se benefician, favorecidos por la reducida competencia con otras especies y por su tolerancia a una menor calidad del agua, lo cual disminuye la diversidad. En tal sentido las diferencias en la diversidad de especies pueden ser utilizadas para detectar cambios en la calidad del agua o cambios a lo largo del tiempo en un sitio determinado (Washington, 1984). Sin embargo la diversidad de especies también puede aumentar con una contaminación leve, o bien puede ser muy baja donde está naturalmente limitado por las condiciones del hábitat, como en pequeños manantiales y cabeceras. Los índices de diversidad responden mejor a situaciones de estrés severo como por ejemplo la causada por la contaminación tóxica o física. La capacidad discriminadora de un índice es fundamental para encontrar diferencias con la comunidad de referencia

ya sea temporal o espacial; se puede ver una discusión en Magurran (1989). Existe una profusa información acerca de esta metodología que puede ser consultadas en UNESCO-WHO-UNEP (1996), Barbour et al. (1999).

MÉTODOS MICROBIOLÓGICOS

Las comunidades bacterianas naturales de las aguas dulces son en gran parte responsables de la autpurificación, a través de los procesos que biodegradan la materia orgánica. Son particularmente importantes en relación a la descomposición de las aguas residuales y pueden indicar la presencia de distintos niveles de materia orgánica. Además, los efluentes de aguas residuales domésticas también contienen un gran número de especies bacterianas que proceden del intestino del hombre y otros mamíferos. Estas bacterias, en particular *Escherichia coli*, pueden utilizarse como indicadores de la presencia de materia fecal humana y otros patógenos posiblemente asociados con ella. Dado que la presencia de materia fecal en cuerpos de agua presenta riesgos significativos para la salud, cuando el agua se utiliza para distintos usos como por ejemplo recreación con contacto directo, para beber o higiene personal, se requiere de la evaluación de la calidad del agua. Por lo tanto, se han desarrollado diversos métodos microbiológicos para detectar la presencia de bacterias fecales (APHA, 1992) que son frecuentemente utilizados en los sistemas de monitoreo del agua, especialmente la destinada a uso como agua potable y recreacional. Este tipo de métodos es uno de los más empleados en los programas de monitoreo, que a modo de ejemplos se aplican en la Cuenca Matanza-Riachuelo, en la Franja Costera Sur del Río de la Plata, (<http://www.bdh>).

acumar.gov.ar/bdh3/analisisdemuestra_listado.php?x-gap_param_idmeasuretype=5&xgap_historical=reset) y en la cuenca del río Salí (<https://www.argentina.gob.ar/interior/secretaria-de-infraestructura-y-politica-hidrica/comite-de-cuenca-del-rio-sali-dulce>), entre otros ecosistemas acuáticos del país.

MÉTODOS FISIOLÓGICOS Y BIOQUÍMICOS

La respuesta fisiológica de un organismo al cambio en el ambiente en el que vive puede ser utilizada para la evaluación biológica de la calidad del agua, aunque es poco frecuente su inclusión en los programas de monitoreo de la Argentina. Entre estos métodos figura la determinación de los niveles de glucosa en la sangre, del glucógeno en el hígado y los músculos de los peces como indicador de estrés. También se suele emplear la medición de enzimas específicas como por ejemplo la colinesterasa en tejidos de organismos acuáticos como un indicador temprano del estrés debido a la deficiencia de oxígeno o a la presencia de productos químicos orgánicos. También existen otros métodos más simples y económicos como estimar la tasa de crecimiento de microalgas (por ejemplo *Scenedesmus quadricauda* o *Selenastrum capricornutum* o la bacteria *Escherichia coli*) en muestras de agua bajo condiciones estandarizadas. Este último caso permite determinar la cantidad de compuestos orgánicos biodegradables y en el caso de las algas indica la tendencia a la eutrofización. Otro tipo de evaluación consiste en la medición de la producción potencial de oxígeno, para lo cual se emplean muestras de agua que contienen el plancton nativo que se incuba en botellas claras y oscuras durante un tiempo determinado (generalmente 24 horas). Este procedimiento puede llevarse a cabo en el laboratorio, utilizando incubadoras a 20 °C e iluminación estandarizada, o en el propio río. La producción neta de oxígeno es un indicador de la actividad del fitoplancton y también de la inhibición por toxicidad en el medio, especialmente cuando se correlaciona con la concentración de la clorofila. Otro método es el de consumo adicional de oxígeno, para lo cual se estimula el crecimiento bacteriano empleando peptona o glucosa que se agregan a la muestra de agua. Si la actividad bacteriana es normal, la respiración asociada con la reducción del sustrato adicional conduce a un mayor consumo de oxígeno. Si las bacterias son inhibidas por un agente tóxico en la muestra, el consumo de oxígeno cesa, o es muy bajo al final de la experiencia (UNESCO/WHO/UNEP, 1996).

La concentración de clorofila proporciona información sobre la biomasa algal y permite evaluar los procesos de eutrofización; esta puede ser medida por distintas metodologías empleando espectrofotometría, cromatografía líquida (HPLC) o fluorímetros. En el caso de las mediciones de fluorescencia, las mismas permiten además evaluar la presencia de sustancias tóxicas ya que esta puede

alterarse o inhibirse por el estrés de carácter tóxico. Las comparaciones de fluorescencia natural con la producida en presencia de una posible contaminación han sido empleadas como un indicador útil de la calidad del agua (Friedrich & Pohlmann, 2009).

ENSAYOS DE TOXICIDAD CON ORGANISMOS ACUÁTICOS

Algunos procedimientos estandarizados de laboratorio son empleados para evaluar los efectos tóxicos de compuestos sobre organismos acuáticos.

La toxicidad sobre la biota puede actuar de dos formas: aguda o crónica. La toxicidad aguda suele ser causada por la exposición a una gran dosis de un compuesto tóxico durante un período de tiempo corto, y generalmente produce la muerte. Esto puede ser usado para determinar la concentración letal (CL) de un compuesto o efluente durante un período dado. Así, por ejemplo, la concentración que mata el 50 % de los organismos en una prueba dentro de las 48 horas se denomina CL 50. En tanto la toxicidad crónica es causada por dosis muy bajas de un compuesto tóxico durante un largo período y puede ser letal o sub-letal; en este último caso el efecto no es suficiente para causar la muerte. Los efectos pueden ocurrir a nivel bioquímico, fisiológico o de comportamiento, incluyendo mutagenicidad y genotoxicidad. Se pueden emplear para este tipo de respuestas bacterias, algas, protozoos, invertebrados y peces, entre otros, dependiendo de la reacción esperada (ej. reproducción, movimiento, tasas de crecimiento, inhibición de luminiscencia, etc.). Se requieren distintas escalas de tiempo según el tipo de respuesta esperada, que puede fluctuar desde minutos a días. Desde hace unas décadas se cuenta con métodos estandarizados para aplicar este tipo de metodología (APHA, 1992). Se encuentran ejemplos de su aplicación en ecosistemas acuáticos de la Argentina en otros capítulos de este libro.

BIOACUMULACIÓN

Muchos organismos son capaces de acumular contaminantes en su cuerpo y esto se conoce como bioacumulación; algunos pueden hacer esto a lo largo de toda su vida sin efectos adversos detectables en su fisiología. Estas especies pueden tener mecanismos de desintoxicación y no resultar afectadas. Otros organismos, en cambio, acumulan contaminantes durante un período y solo sufren efectos adversos cuando los niveles son críticos.

Cuando un organismo que ha acumulado un contaminante es ingerido por otro organismo, que a su vez acumula el contaminante en los tejidos, da lugar al proceso que se conoce como "transferencia del poluyente en la cadena alimentaria". Los organismos que se encuentran

en los niveles superiores de ésta pueden así acumular los contaminantes en concentraciones mucho más altas que las que ocurren en el agua o en el material particulado, dando lugar a un proceso que se conoce como "biomagnificación".

Por otra parte la recolección de organismos del ambiente para el análisis químico, conocida como "monitoreo pasivo", o bien por la exposición deliberada de organismos en el medio, conocida como "monitoreo activo", permite realizar análisis químicos de muestras de agua de difícil determinación debido a las concentraciones extremadamente bajas en que se suelen encontrar algunos contaminantes (por ejemplo metales pesados o algunos biocidas). Por lo tanto, los procesos de bioacumulación permiten la detección de algunos contaminantes que suelen pasar desapercibidos en el ambiente. Sin embargo debe tenerse en cuenta que existen procesos naturales que afectan el metabolismo de los organismos y consecuentemente pueden afectar la acumulación de contaminantes. Algunos organismos pueden acumularlos a lo largo de toda su vida mientras otros solo lo hacen durante un período de crecimiento. Por lo tanto los organismos colectados para monitoreo deben ser de un tamaño comparable o de edad similar. También, la condición fisiológica de un organismo puede afectar la bioacumulación (período de reproducción, inanición, etc.) y debe ser tenida en cuenta.

A modo de ejemplo en la Argentina, en el estuario del Río de la Plata, a través de métodos de análisis de la bioacumulación, distintos metales traza fueron detectados en un pecicípodo (Bilos et al., 2009) y en un pez detritívoro se midieron las concentraciones de bifenilos policlorados y bifenil éteres polibromados (Cappelletti et al., 2014). También este tipo de metodología ha sido empleada en el monitoreo del río Uruguay para evaluar el impacto de la industria productora de pasta de celulosa sobre este curso de agua (Colombo, 2010)

MÉTODOS HISTOLÓGICOS Y MORFOLÓGICOS

La presencia de contaminantes puede también manifestarse a través de cambios morfológicos o histológicos en los organismos, como por ejemplo deformaciones en la morfología y patrones de ornamentación en diatomeas, tumores en peces, piezas bucales de quironómidos, etc.). El porcentaje de este tipo de anomalías es un indicador de problemas vinculados con la contaminación de carácter tóxico. A modo de ejemplo en la Argentina se empleó el porcentaje de anomalías de los frústulos de diatomeas para evaluar los efectos de un efluente textil en un arroyo pampeano (Gómez y Licursi, 2003) y también este indicador es empleado en el monitoreo de la cuenca Matanza – Riachuelo.

MÉTODOS MOLECULARES

En los últimos años se han realizado algunos esfuerzos para aplicar técnicas moleculares como herramientas de biomonitoreo. Los enfoques moleculares utilizados en el monitoreo se centran principalmente en la identificación de especies y la diversidad genética. Sin lugar a dudas las resoluciones taxonómicas más finas son valoradas ya que permiten obtener un análisis más completo de la salud de los ecosistemas acuáticos. Mientras la identificación de género o de especie para macroinvertebrados, biofilms y plancton requiere de técnicas específicas para minimizar errores de identificación, las mismas pueden resolverse rápidamente mediante marcadores moleculares. Existen evidencias que demuestran la precisión y efectividad de los métodos basados en ADN como herramientas de biomonitoreo (PCR-RFLP, T-RFLP y COI secuenciación) los cuales se han utilizado en quironómidos, diatomeas y biofilms de sistemas acuáticos (Carew et al, 2003; Szabó et al., 2007, Morin et al., 2016). También, los enfoques moleculares proporcionan los medios para poder detectar el daño celular en respuesta a cambios ambientales, específicamente cambios inmediatos en la expresión génica. El monitoreo mediante el uso de la actividad del gen como indicador implica la detección de cambios en la transcripción de genes y los niveles relativos de ARN mensajero específico que se producen como resultado del contacto con productos químicos xenobióticos (sustancias ajenas a los ambientes naturales) presentes en el medio ambiente. Los productos proteicos que se sintetizan en respuesta al cambio ambiental representan el efecto terminal en una vía bioquímica regulada por diversos mecanismos de control celular.

Aunque la aplicación de la diversidad genética molecular en el monitoreo es aún incipiente, estas medidas genéticas moleculares prometen una gran potencialidad para contribuir a mejorar el campo de la bioindicación. Con estas técnicas de ADN ambiental (Environmental DNA, eDNA) se pueden realizar monitoreos no invasivos, ya que se filtran ciertas cantidades de agua para concentrar restos de ADN, y luego estas se comparan con bases de datos pre existentes de esos lugares, para determinar la integridad de las comunidades (Taberlet et al., 2018). Hasta ahora estas técnicas se han usado principalmente en estudios de biodiversidad y conservación (Cilleros et al., 2018) pero presentan un gran potencial para la bioindicación. En países que albergan una gran diversidad en sistemas acuáticos y que han estado expuestos a un grave deterioro ambiental por causas antropogénicas, estas herramientas podrían ser muy útiles para tener una visión más completa sobre la biodiversidad y de esta manera proponer estrategias viables de conservación, manejo, protección y aprovechamiento de los recursos a diferentes escalas espaciales (Serrato Díaz et al., 2013). Sin embargo, por el momento son técnicas demasiado costosas para poder ser aplicadas a gran escala en nuestro país.

PRESENTACIÓN DE LOS RESULTADOS DEL BIOMONITOREO

La presentación de los resultados es un aspecto clave en la comunicación entre los profesionales que generan la información y a quienes va dirigida, ya sea organismos de planeamiento y gestión, agencias de control o público en general (Figs. 5 y 6). Este proceso debe proporcionar de manera clara y entendible la información necesaria para la toma de decisiones, la elección de las soluciones más adecuadas para mejorar la calidad del agua, para preservar un ecosistema o bien para dar a conocer y para control por parte de la sociedad de una problemática ambiental. Por este motivo la integración, velocidad de procesamiento e interpretación correcta de los datos son fundamentales para que la información generada llegue de manera adecuada a personas con formaciones diferentes.

Los datos de la calidad biológica del agua se pueden presentar bajo distintas modalidades tales como tablas, gráficos o mapas. Los dos últimos son más apropiados para visualizar la información, ya que los conjuntos de datos se pueden mostrar de manera tal que permitan la comparación entre sitios de muestreos dentro de un área de estudio. También son más efectivos para captar la atención del lector, especialmente para los que no tienen conocimientos técnicos sobre el tema. Muchas personas además son mucho más receptivas a la presentación visual que a la información escrita.

Por otra parte hay que considerar a quién está dirigida la información; si se trata de un informe técnico es recomendable la incorporación total de los datos, seleccionando gráficos y mapas adecuados que reflejen claramente la calidad biológica y que serán utilizados por personal especializado. Por otro lado, para no especialistas, para fines educativos, etc., un resumen de gráficas representativas es recomendable (ej. cartillas, trípticos, aplicaciones para celular, etc.). Las presentaciones resumidas se diseñan generalmente en relación con un propósito específico que se quiere comunicar. Cuando se usan gráficos, es esencial que los datos se presenten de manera clara y precisa. La clave para producir gráficos efectivos es examinar los datos y decidir qué características y cuáles relaciones quieren ser mostradas (variaciones temporales, correlaciones entre los biomonitores y las variables abióticas, comparaciones de series temporales y espaciales, etc.), como así también información complementaria como por ejemplo la vinculada a la calidad del hábitat, hidrología, etc.

Como se dijo, la calidad biológica y ecológica se ve afectada por una variedad de factores naturales y antropogénicos. Dado que los datos a menudo se miden en diferentes unidades, o escalas temporales y espaciales, y las fuentes de información son muy diversas (por ejemplo,

mapas convencionales, imágenes satelitales y datos obtenidos en el campo), el análisis de estos y otros factores es una tarea complicada que requiere mucho tiempo y conocimientos específicos. Como consecuencia de esto es cada vez más frecuente el empleo de los sistemas de información geográfica (SIG) como una herramienta que permita el análisis de diversos tipos de datos. Este permite analizar y mostrar múltiples capas de información referenciadas geográficamente. Dado que los SIG son capaces de combinar grandes bases de datos de varias fuentes, son una herramienta útil para muchos aspectos de las investigaciones y de la gestión. Esto es debido a que permite por ejemplo identificar y determinar la extensión espacial de una respuesta biológica y vincularlas a problemas de calidad del agua, del uso del suelo o bien de factores naturales, entre otros. Todo esto sin desconocer la importancia de las redes sociales como modo instantáneo de divulgación de la información y donde la sociedad del conocimiento busca participar en las decisiones (UNESCO, 2005). Incluso hoy es motivo de desarrollo la instrumentación accesible al ciudadano para integrar la red de vigilancia desde una aplicación en teléfonos celulares cuyo impacto apenas empezamos a percibir (Cochoero, 2018).

ESTADO ECOLÓGICO

Como se dijo, la comunidad biótica refleja de múltiples formas la calidad o "salud" del ecosistema, siendo una expresión de la calidad biológica del mismo (Prat et al., 2009). Este concepto es esencial para introducir otro como la integridad ecológica de un sistema acuático (U.S. EPA, 1990). La integridad ecológica se puede representar por la intersección de subsistemas como la integridad de la calidad del agua, de la biota y del hábitat, volviéndola un concepto de gestión operativo para los ecosistemas acuáticos con el fin de mantener accesibles sus bienes y servicios. En esta tarea "la gobernabilidad del agua" crea un conjunto de sistemas políticos, sociales, económicos y administrativos encargados de gestionar la sostenibilidad de estos ecosistemas. Por lo tanto, debe diseñar y adoptar las leyes, las políticas y las instituciones necesarias para llevar adelante esta tarea. Para ello se ha introducido el concepto de "estado ecológico", como una expresión de la calidad de la estructura y el funcionamiento de los ecosistemas acuáticos asociados a las aguas superficiales (DOCE, 2000). Se busca así establecer un marco para la protección de las aguas superficiales continentales, previniendo todo deterioro adicional y protegiendo y mejorando el estado de los ecosistemas acuáticos, terrestres y humedales directamente dependientes de los primeros. Para ello se usan, por ejemplo, medidas específicas de reducción progresiva de los vertidos, mediante la interrupción o la supresión gradual de los vertidos, las emisiones y las pérdidas de sustancias peligrosas. La Argentina se

encuentra ante una situación muy especial con su Plan Nacional del Agua gestado en la Secretaría del Interior, Obras Públicas y Vivienda que debe ser integrado con el Programa de Gestión Ambiental del agua y los ecosistemas acuáticos de la secretaría de Ambiente y Desarrollo Sustentable. En este último al menos hoy, parece haberse cumplido con la observación realizada hace 12 años cuando se discutían las metodologías a aplicar en Argentina: bioindicación, bioensayos, o alguna combinación de estos (Fernández et al., 2006). Hoy pareciera que la bioindicación es el camino elegido, con enfoque ecosistémico y apuntando a la gobernanza a largo plazo (<https://www.argentina.gob.ar/noticias/ambiente-y-conicet-trabajan-por-la-preservacion-de-los-ecosistemas-acuaticos>).

CONSIDERACIONES FINALES

El uso de la biota proporciona una medida capaz de integrar los impactos que puede recibir un cuerpo de agua. Por lo tanto los organismos pueden ser utilizados para proporcionar mecanismos de alerta temprana de posibles daños ambientales.

Como se ha señalado a lo largo de este capítulo, existen diversas técnicas de biomonitorio para cuantificar el impacto humano en torno a los ecosistemas acuáticos. Sin embargo, debido a las nuevas tendencias en la política ambiental nacional sobre el agua nos enfrentamos a nuevas demandas de herramientas efectivas para correlacionar el estado actual de los ecosistemas y la gestión para la conservación y la restauración. Por lo tanto, hay cada vez más indicadores entre los que se incluyen las medidas funcionales, como la actividad enzimática microbiana, luminiscencia bacteriana, fotosíntesis, respiración, actividad locomotora, metabolismo de la comunidad (productividad primaria y respiración), absorción y espiral de nutrientes, producción secundaria, además de los rasgos biológicos y los grupos funcionales alimentarios.

Para concluir, es importante enfatizar que los indicadores biológicos pueden ser considerados, además de una herramienta de evaluación ambiental, como un potente medio de comunicación. A través de ellos se pueden hacer conocer los problemas detectados a los diferentes actores de la comunidad, con formaciones y conocimientos muy disímiles, con el objetivo de que se apropien de esta información y la difundan en sus respectivas áreas de influencia. Es importante tener en cuenta esto en el momento de diseñar los métodos de bioindicación y la presentación de los resultados, para que ellos sean accesibles al público en general.

BIBLIOGRAFÍA

APHA 1992. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 18th Edition, American Public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA) and Water Pollution Control Federation (WPCF), Washington DC.

Armitage, P.D., Moss, D., Wright, J.F. & 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): 333-347.

Baptista, D., Buss, D., Egler, M., Giovanelli, A., Silveira, M. & J. Nessimian. 2007. A multimetric index based on benthic macroinvertebrates for evaluation of Atlantic Forest streams at Rio de Janeiro State, Brazil. *Hydrobiologia*, 575: 83-94.

Barbour, M.T., Gerritsen J., Snyder B.D. & J.B. Stribling. 1999. *Rapid Bioassessment Protocols for Use in Streams and Wadeable Rivers: Periphyton, Benthic Macroinvertebrates and Fish*. Second Edition. EPA 841-B-99-002. U.S. Washington, D.C.: Environmental Protection Agency; Office of Water.

Biggs, B.J.F., & C. Kilroy. 2000. Stream Periphyton Monitoring Manual. New Zealand Institute Water and Atmosphere for Ministry for the Environment, Christchurch, New Zealand. En: http://www.niwa.co.nz/sites/default/files/import/attachments/peri_complete.pdf.

Bilos, C., Colombo, J.C., Skorupka, C.N., Demichelis, S.O. & L.M. Tatone. 2009. Size-related trace metal bioaccumulation in Asiatic Clams (*Corbicula fluminea*) from the Río de la Plata Estuary, Argentina. *International Journal Environment and Health*, 3: 390-409.

Cairns, J. 2002. Environmental monitoring for the preservation of global biodiversity: the role in sustainable use of the planet. *International Journal of Sustainable Development and World Ecology*, 9(2), 135-150.

Carew, M. E., Pettigrove V. & A.A. Hoffmann. 2003. Identifying chironomids (Diptera: Chironomidae) for biological monitoring with PCR-RFLP. *Bulletin Entomological Research*, 93: 483-490.

Chang, F. H., Lawrence, J. E., Rios-Touma, B., & V. H. Resh. 2014. Tolerance values of benthic macroinvertebrates for stream biomonitoring: assessment of assumptions underlying scoring systems worldwide. *Environmental Monitoring and Assessment*, 186 (4), 2135-2149.

Cilleros, K., Valentini, A., Allard, L., Dejean, T., Etienne, R., Grenouillet, G., Iribar A., Taberlet, P., Vigoroux, R. & S. Brosse. 2018. Unlocking biodiversity and conservation studies in high diversity environments using environmental DNA (eDNA): a test with Guianese freshwater fishes. *Molecular Ecology Resources*, 2018: 1-20.

- Cochero, J. 2018. AppEAR: Una aplicación móvil de ciencia ciudadana para mapear la calidad de los hábitats acuáticos continentales. *Ecología Austral*, 28: 467 – 479.
- Colombo, J.C. 2010. Programa de Vigilancia Ambiental del Río Uruguay: Estudios biogeoquímicos en el río Uruguay en el área de Gualaguaychú y zonas aledañas. Informe Final Noviembre 2008 - Marzo 2010, Secretaría de Ambiente y Desarrollo Sustentable de la Nación. 63 pp.
- Cappelletti, N., Speranza, E., Tatone, L., Astoviza, M., Migoya, M.C. & J.C. Colombo. 2014. Bioaccumulation of dioxin like PCBs and PBDEs by detritus-feeding fish in the Río de la Plata Estuary, Argentina. *Environmental Science and Pollution Research*, 22 (9): 7093-7100.
- Domínguez, E. y H.R. Fernández, 1998. Calidad de los ríos de la cuenca del Salí (Tucumán, Argentina) medida por un índice biótico. *Conservación de la Naturaleza*, N° 12. 40 pp. Fundación Miguel Lillo, Tucumán.
- Dos Santos, D. A., Molineri, C., Reynaga, M. C. & C. Basualdo. 2011. Which index is the best to assess stream health? *Ecological Indicators*, 11: 582-589.
- Fernandez, H., Domínguez, E., Romero, F. y M. G. Cuezco. 2006. La calidad del agua y la bioindicación: en los ríos de montaña del Noroeste argentino. *Conservación de la Naturaleza*, N° 16. 36 pp. Fundación Miguel Lillo.
- Figuroa, R., Palma, A., Ruiz, V. & X. Niel. 2007. Análisis comparativo de índices bióticos utilizados en la evaluación de la calidad de las aguas de un río mediterráneo de Chile: río Chillán, VIII Región. *Revista Chilena de Historia Natural*, 80: 225–242.
- Friedrich G. & M. Pohlmann. 2009. Long-term plankton studies at the lower Rhine/Germany. *Limnologica* 39(1): 14-39.
- Gómez, N., & M. Licursi. 2001. The Pampean Diatom Index (IDP) for assessment of rivers and streams in Argentina. *Aquatic Ecology*, 35 (2):173-181.
- Gómez, N. & M. Licursi. 2003. Abnormal forms in *Pinnularia gibba* (Bacillariophyceae) in a polluted lowland stream from Argentina. *Nova Hedwigia*, 77 (3): 389-398.
- Gómez N., Licursi M., Bauer D.E., Ambrosio E.S. & A. Rodrigues Capítulo. 2012. Assessment of biotic integrity of the Coastal Freshwater Tidal Zone of a temperate estuary of South America through multiple indicators. *Estuaries and Coasts*, 35 (5):1328-1339.
- Karr, J.R., K.D. Fausch, P.L. Angermeier, P.R. Yant & I.J. Schlosser. 1986. *Assessing biological integrity in running waters: a method and its rationale*. Illinois Natural History Survey Special Publication, 5. 28 p.
- Lavarias, S., Ocon, C., López van Oosterom, V., Laino, A., Medesani, D. A., Fassiano, A., Garda, H., Donadelli, J., Ríos de Molina, M. & A. Rodrigues Capítulo. 2017. Multibiomarker responses in aquatic insect *Belostoma elegans* (Hemiptera) to organic pollution in freshwater system. *Environmental Science Pollution Research*, 24: 1322-1337.
- Magurran, A. E. 1989. *La diversidad ecológica y su medición*. Ediciones Vedral, Barcelona. 200 pp.
- Margalef, R. 1983. *Limnología*. Barcelona: Omega. 1010 pp.
- Markert, B., Breure, A. & H. Zechmeister. 2003. *Bioindicators and Biomonitoring. Principles, Concepts and Applications*. Amsterdam: Elsevier.
- Miserendino, M.L, A.M. Kutschker, C. Brand, L. La Manna, C.Y. Di Prinzio, G. Papazian & J. Bava. 2016. Ecological status of a Patagonian mountain river: usefulness of environmental and biotic metrics for rehabilitation assessment. *Environmental Management*, 57:1166-87.
- Morin, S., Gómez, N., Tornés, E., Licursi, M., & J. Rosebery. 2016. Benthic diatom monitoring and assessment of freshwater environments: standard methods and future challenges. In Anna M. Romani A.M., Guasch, H. & M.D. Dolors Balaguer (Eds.) *Aquatic Biofilms: Ecology, Water Quality and Wastewater*, pp 111-124.
- Moya, N., Goitia, E., y M. Siles. 2003. Tipología de ríos de la región del piedemonte andino en Cochabamba. *Revista Boliviana de Ecología*, 13: 95-115.
- Moya, N., Hughes, R. M., Domínguez, E., Gibon, F. M., Goitia, E., & T. Oberdorff. 2011. Macroinvertebrate-based multimetric predictive models for evaluating the human impact on biotic condition of Bolivian streams. *Ecological Indicators*, 11(3): 840-847.
- Pavé, P. y M. Marchese. 2005. Invertebrados bentónicos como indicador de calidad de ríos urbanos (Paraná-Entre Ríos). *Ecología Austral*, 15: 185-197.
- Pero, E. J., Hankel, G. E., Molineri, C., & E. Domínguez. 2019. Correspondence between stream benthic macroinvertebrate assemblages and ecoregions in northwestern Argentina. *Freshwater Science*, 38(1), 64-76.
- Prat N., Ríos, B. Acosta R. y M. Rieradevall. 2009. Los macroinvertebrados como indicadores de calidad de las aguas. En Domínguez E. y H. R. Fernández (Eds.), *Macroinvertebrados bentónicos sudamericanos. Sistemática y biología*. Fundación Miguel Lillo, Argentina, pp. 631-654.
- Rodriguez Capítulo, A., M. Tangorra & C. Ocón. 2001. Use of benthic macroinvertebrates to assess the biologist status of pampean streams in Argentina. *Aquatic Ecology*, 35:109-119.

Rodrigues Capítulo, A. y N. Gómez. 2004. Diatomeas y macroinvertebrados bentónicos en el monitoreo de sistemas lóticos bonaerenses. *Biología Acuática*, n°21. http://www.bacuatica.org/BA_ant/ba21.pdf

Roldan-Pérez, G. 2016. Los macroinvertebrados como bio-indicadores de la calidad del agua: cuatro décadas de desarrollo en Colombia y Latinoamérica. *Revista Academia. Colombiana de Ciencias. Exactas. Físicas y Naturales*, 40 (155): 254-274.

Serrato Díaz, A., Cornejo Romero, A. A. y O. Castro. 2013. La biodiversidad y evolución en ambientes acuáticos analizadas con herramientas moleculares. *Hidrobiológica*, 23:275-286.

Silveira, M. P., Baptista, D. F., Buss, D. F., Nessimian, J. L. & M. Egler. 2005. Application of biological measures for stream integrity assessment in south-east Brazil. *Environmental Monitoring and Assessment*, 101:117-128.

Szabó, K.É., Ács, É., Kiss, K.T., Eiler, A., Makk, J., Plenković-Moraj, A., Tóth, B. & S. Bertilsson. 2007. Periphyton-based water quality analysis of a large river (River Danube, Hungary): exploring the potential of molecular fingerprinting for biomonitoring. *Archiv Fur Hydrobiology. Suppl.*, 161 (3-4): 365-382.

Taberlet, P., Bonin, A., Zinger, L. & E. Coissac. 2018. *Environmental DNA: For Biodiversity Research and Monitoring*. Oxford University Press.

UNESCO/WHO/UNEP. 1996. *Water Quality Assessments - A Guide to Use of Biota, Sediments and Water in Environmental Monitoring*. Second ed. London: Ed. E and FN Spon.

UNESCO 2005. *Hacia las sociedades del conocimiento*. Impreso por Jouve, Mayenne France. 244 pp.

Vernberg, F.J. & W.B. Vernberg. 1981. *Functional adaptations of marine organisms*. Academic Press, New York.

Villamarín, C., Prat, N., y M. Rieradevall. 2014. Caracterización física, química e hidromorfológica de los ríos altoandinos tropicales de Ecuador y Perú. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 42(5):1072-1086.

Washington, H. G. 1984. Diversity, biotic and similarity indices-a review with special relevance to aquatic ecosystems. *Water Research*, 18: 653-694.

Wasson, J. G., R. Marín, Guyot, J.L. & L. Maridet. 1998. Hydro-morphological variability and benthic community structure in five high altitude Andean streams (Bolivia). *Verhein International Verein. Limnology* 26(3): 1169-1173.

