

## **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)**

M. J. SERVIA, F. COBO & M. A. GONZÁLEZ

*Departamento de Biología Animal. Facultad de Biología  
Universidad de Santiago. 15706 Santiago de Compostela. España*

*(Recibido, julio de 1997. Aceptado, septiembre de 1997)*

### **Resumen**

SERVIA, M. J., COBO, F. & GONZÁLEZ, M. A. (1998). 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

Se ha recolectado un total de 2669 larvas de *Chironomus riparius* Meigen, 1804 en diversos medios acuáticos de Galicia, en las que han sido observadas deformidades en piezas bucales y antenas. Las frecuencias más altas de ejemplares deformes se han detectado en las estaciones en las que, *a priori*, las larvas soportan niveles de estrés más elevados, tanto químico como físico. Es de destacar el hecho de que el estrés físico por sí mismo parece ser capaz de provocar deformidades en los ejemplares. En relación con el tipo de estructura deforme, la evolución observada entre las diferentes estaciones podría estar relacionada con un tipo de respuesta cuántica similar a la propuesta por WARWICK (1988).

**Palabras clave:** Diptera, Chironomidae, *Chironomus riparius*, deformidades, contaminación, Galicia, España.

### **Abstract**

SERVIA, M. J., COBO, F. & GONZÁLEZ, M. A. (1998). Assessment of the environmental stress in different Galician freshwater ecosystems by means of the study of *Chironomus riparius* Meigen, 1804 larval deformities (Diptera, Chironomidae). *Nova Acta Científica Compostelana (Biología)*, 8: 271-280

A total of 2669 larvae of *Chironomus riparius* Meigen, 1804 were collected from different freshwater environments in Galicia, observing deformities in larval mouthparts and antennae. The frequencies of these deformities were higher at sites in which larvae were assumed to be under higher levels of chemical or physical stress. It is important to show up that physical stress could induce deformities in larvae. In relation to the type of deformed structures, the evolution observed between the different sites could be related to a quantal dose response as the described by WARWICK (1988).

**Key words:** Diptera, Chironomidae, *Chironomus riparius*, deformities, pollution, Galicia, Spain.

## INTRODUCCIÓN

El elevado número de sustancias que hoy en día entran en los ecosistemas acuáticos hace que cualquier intento de caracterización química de los contaminantes se convierta en una tarea larga y costosa, que se complica por el hecho de que multitud de sustancias actúan simultánea y sinérgicamente (WARWICK, 1988). Por lo tanto, usando únicamente medidas físicas y químicas, los efectos generados sobre los organismos de un ecosistema contaminado pueden no ser del todo comprendidos (ROSENBERG & RESH, 1993).

La mayor parte de los organismos macrobénticos que pueblan las aguas epicontinentales están expuestos, en un creciente número de casos, a mezclas de contaminantes durante todo su ciclo o al menos durante algunas fases del mismo. Esto hace que presenten el potencial necesario como bioindicadores para la observación directa del conjunto de efectos de los contaminantes sobre los ecosistemas acuáticos.

El primer estudio exhaustivo sobre deformidades en larvas de Quironómidos fue realizado por HAMILTON & SAETHER (1971) en varios lagos canadienses, aunque previamente BRINKHURST *et al.* (1968) habían citado ya la existencia de varias larvas deformes del género *Chironomus* en el lago Erie (Canada). La idea de que estas deformidades pudieran estar relacionadas con el estrés ambiental ha persistido desde entonces. Este hecho ha provocado el desarrollo de una metodología específica para el tratamiento del material a estudiar, destacando los trabajos de WARWICK & CASEY (1982) y WARWICK (1985), en los cuales se describe con detalle toda la técnica.

Durante la realización de un estudio sobre el nivel de estrés ambiental en diversos ecosistemas acuáticos de Galicia hemos recolectado gran cantidad de larvas de Quironómidos, fundamentalmente individuos de IV estadio de la especie *Chironomus riparius* Meigen, 1804, lo que nos ha llevado a adaptar a las características de los medios acuáticos estudiados y del material obtenido la metodología descrita en los dos trabajos anteriores.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Durante los muestreos se ha recolectado un total de 2669 larvas de *Chironomus riparius*, que se han montado en preparaciones microscópicas. Se trata fundamentalmente de larvas del último estadio, aunque en algunos casos no se descarta que pertenezcan al límite superior de variación del estadio III.

Como ya hemos mencionado anteriormente, la metodología utilizada en nuestro trabajo sigue las pautas marcadas por WARWICK & CASEY (1982) y WARWICK (1985) para este tipo de estudios.

Para la recolección de larvas en los sedimentos finos que caracterizaban alguna de las estaciones, se utilizó un muestreador tipo corer de 7,5 cm de diámetro y 35 cm de longitud, lo que permite controlar especialmente la superficie muestreada, dato de mayor interés que el de la profundidad, ya que las larvas de IV estadio se encuentran en la capa más superficial de los sedimentos. En otras estaciones con menor abundancia de partículas finas, y en las cuales no se tomaban datos de superficie de las muestras, la recolección se llevó a cabo con una pequeña red de mano de 15 cm de diámetro, 20 cm de profundidad y 250  $\mu\text{m}$  de luz de malla.

Todas las muestras fueron fijadas con formol al 4% y etiquetadas convenientemente antes de su traslado al laboratorio, donde los ejemplares obtenidos fueron pasados a viales etiquetados que contenían etanol de 70°, siendo almacenados hasta su posterior observación.

Debido a que no se observaron malformaciones en otras estructuras que no fueran las presentes en la cápsula cefálica, éstas se aclararon por digestión con KOH al 8% para ser montadas en preparaciones utilizando formaldehído de dimetil hidantoína (D.M.H.F.), cuyas características como medio de inclusión son descritas por STEEDMAN (1958). Este medio presenta la ventaja de que puede ser disuelto en agua, lo cual facilita muchas de las operaciones que con él se realizan.

Las cápsulas se disponían con la parte ventral hacia arriba, ejerciéndose después una ligera

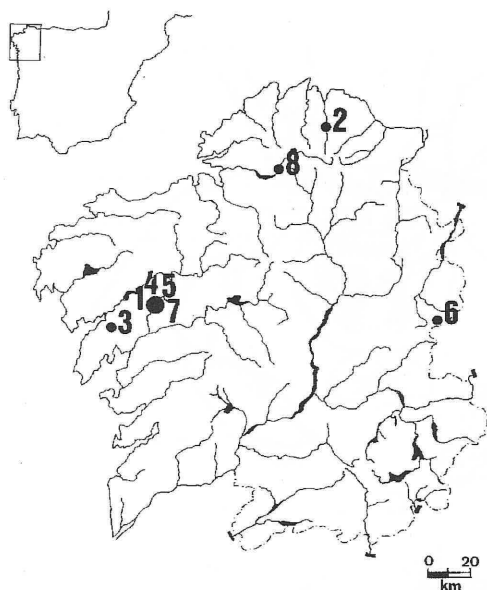


Fig. 1. Situación de las estaciones de muestreo. (1) Bertamiráns. (2) Atián. (3) Tállara. (4) Monte da Condesa. (5) Bama. (6) Piornedo. (7) Ames. (8) Forcadelo.

presión sobre las mismas para facilitar la apertura de las mandíbulas y evitar así la superposición con otras estructuras.

Las estaciones de muestreo visitadas para la recolección del material fueron las siguientes (Fig. 1):

1. Bertamiráns. Río Sar (A Coruña; U.T.M.: 29TNH3045). Su elección se debe al buen conocimiento que poseemos de sus características, tanto desde el punto de vista fisicoquímico como faunístico (COBO, 1988; COBO *et al.*, 1989; COBO & GONZÁLEZ, 1991).

Aguas arriba (4 Km) se encuentra la estación depuradora municipal de la Silvouta, que recoge los vertidos urbanos e industriales de Santiago de Compostela. Su funcionamiento, en general, es deficiente, ya que es incapaz de eliminar toda la carga contaminante de los mismos, por lo que

este tramo del Sar se caracteriza por presentar una compleja mezcla de contaminantes procedentes tanto de vertidos domésticos como industriales.

2. Atián. Río Landro (Lugo; U.T.M.: 29TPJ128214). Esta estación se encuentra a 16 Km del nacimiento del río. Las actividades de una piscifactoría, situada antes del punto de recogida de las muestras, elevan las concentraciones de nitritos y amonio (PAZ, 1993), aunque sus aguas permanecen con concentraciones de oxígeno próximas a la saturación.

3. Tállara. Arroyo temporal (Lousame, A Coruña; U.T.M.: 29TNH1032). Se trata de un arroyo temporal que vierte al río Tállara, que recibe fundamentalmente aportes de materia orgánica y vertidos domésticos.

4. Monte da Condesa. Arroyo temporal (Santiago, A Coruña; U.T.M.: 29TNH3647). Es una pequeña canalización abierta en la que el agua procede de la red de abastecimiento de Santiago, y por ello presenta elevados índices de cloración en determinadas épocas.

5. Bama. Arroyo temporal (A Coruña; U.T.M.: 29TNH5247). Las larvas aquí recogidas proceden de un pequeño arroyo al que vierte una industria láctea.

6. Piornedo. Cubetas graníticas (Lugo; U.T.M.: 29TPH7446). Los ejemplares utilizados fueron recogidos en pequeñas cubetas sobre rocas graníticas, cercanas al río de Piornedo (Sierra de Ancares, Lugo). Los individuos aquí muestreados se hallan expuestos a condiciones extremas de temperatura y conductividad.

7. Ames. Depósito temporal (A Coruña; U.T.M.: 29TNH3242). Se recolectaron larvas en un pequeño depósito que recoge únicamente agua de lluvia. Debido a sus dimensiones limitadas sufre, al igual que la estación anterior, y aunque en diferente grado, variaciones en las condiciones fisicoquímicas del agua.

8. Forcadelo. Río Eume (A Coruña; U.T.M.: 29TNJ0692). Se trata de una estación localizada en el río Eume a su paso por Pontes de García Rodríguez, en el punto de vertido de un desagüe urbano.

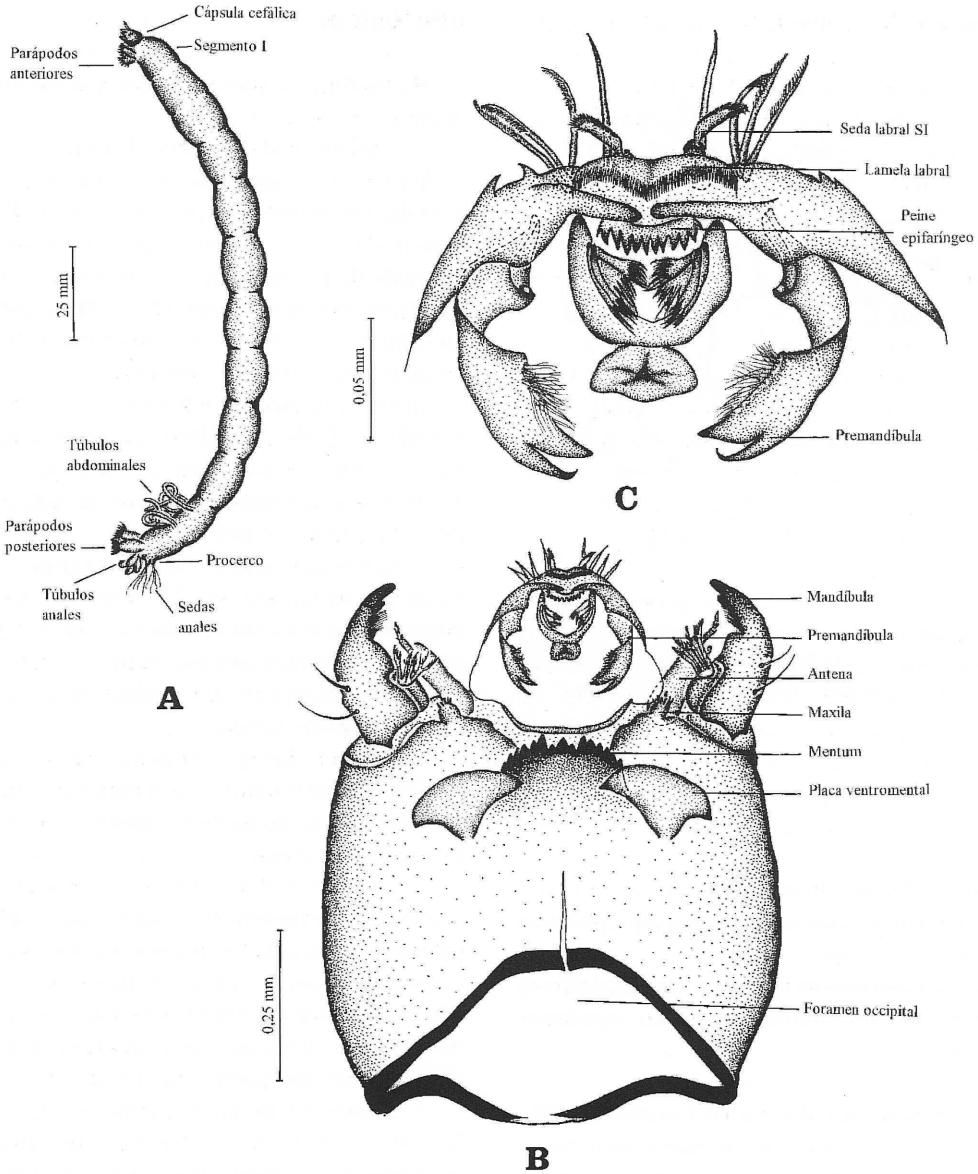


Fig. 2. Morfología larvaria de *Chironomus riparius*. A: Larva, vista lateral. B: Cápsula cefálica, vista ventral. C: Detalle de la zona labral, vista ventral.

## RESULTADOS

En la Fig. 2 se representa, en vista ventral, la cápsula cefálica sin malformaciones de una larva de *Chironomus riparius*, tal y como podría observarse tras su preparación microscópica. En ella, el aplastamiento de la cápsula facilita la

apertura de las mandíbulas y, por tanto, una correcta visión de las antenas y la zona labral.

Las descripciones, sin duda más detalladas, de los diferentes tipos de deformidades presentes en este género las realizaron WARWICK (1985) y WARWICK & TISDALE (1988). La mayor parte de éstas han sido observadas durante la realización

de este estudio; a ellas habría que añadir alguna deformidad característica, como son los *espacios de Köhn*, en lugares del mentum no señalados anteriormente por este autor, como es el caso de los dientes laterales y marginales (Fig. 3).

El número y frecuencia de deformidades en larvas de *Chironomus riparius* en las distintas estaciones se recoge en la Tabla I.

Observando individualmente la frecuencia de larvas deformes en cada estación (Fig. 4), presentan los valores más elevados Forcadelo (21,4%), Bertamiráns (15,4%), Piornedo (13,3%) y Tállara (11,6%), mientras que Ames (6,9%), Bama (5,8%), Monte da Condesa (4,9%) y Atián (4,4%) presentan frecuencias sensiblemente más bajas. Es destacable el hecho de que los valores más altos se presenten en aquellas estaciones que, bien por sus especiales condiciones fisicoquímicas (Piornedo) o bien por las características de los vertidos que presentan (Forcadelo, Bertamiráns), sean aquellas en las que, *a priori*, las larvas soportan niveles de estrés más elevados. Por ello, y de acuerdo con las características mesológicas de las estaciones, podríamos establecer dos grandes grupos: uno en el que se incluirían las estaciones de Piornedo y Ames, y que podríamos denominar "Grupo con estrés no antrópico", y otro que englobaría a las restantes estaciones y que constituiría el "Grupo con estrés antrópico".

En relación con el tipo de estructura deforme (Fig. 5), y excluyendo de este análisis las estaciones de Forcadelo y Atián debido al bajo número de ejemplares recogidos en las mismas, resulta especialmente llamativo el caso de Piornedo, donde más de la mitad de los ejemplares deformes corresponden a larvas que presentan algún tipo de irregularidad en las antenas, fenómeno que no se repite en ninguna otra estación. Asimismo, es destacable el hecho de que ciertas estructuras, como las premandíbulas, lamelas labrales y sedas labrales, aparezcan deformadas en aquellas estaciones con un nivel de estrés más alto.

## DISCUSIÓN

En los últimos años asistimos a un continuo incremento de datos empíricos sobre la inducción de deformidades por determinados tipos de contaminantes (hipótesis Hamilton/Saether). Algunos trabajos (KOSALWAT & KNIGHT, 1987; GUCHTE & URK, 1989) han proporcionado indicios experimentales de que los metales pesados están relacionados directamente con la aparición de deformidades en el *pecten* epifaríngeo de distintas especies de *Chironomus*. Estas prometedoras observaciones en cuanto a la especificidad de las respuestas están lejos de establecer, todavía, relaciones causales precisas y, consecuentemente, no podemos afirmar de forma categórica, a la luz de la información actual, hasta qué punto la frecuencia de deformidades, por sí misma, indica la existencia de una situación de estrés tóxico o si esta variable es realmente un índice fiable de la contaminación. Dificulta esta tarea la ausencia de observaciones sobre la frecuencia natural de las anomalías morfológicas presentes en individuos de poblaciones que habitan ambientes prístinos y el papel que juegan en la interpretación de los datos las variaciones temporales. Por ello, se han utilizado frecuentemente como valores de referencia los obtenidos a partir de estudios realizados con material subfósil, en los cuales se observa que las frecuencias de ejemplares deformes varían entre 0 y 0,8% (WARWICK, 1980; WIEDERHOLM, 1984; KLINK, 1985). En áreas ligeramente contaminadas, que reciben aportes muy limitados de sustancias químicas de origen antrópico y que fueron usadas en estudios anteriores como lugares de referencia, la frecuencia de ejemplares deformes varía entre 0 y 8% (WIEDERHOLM, 1984; WARWICK, 1985; GUCHTE & URK, 1989; DERMOTT, 1991; DICKMAN *et al.*, 1992; MADDEN *et al.*, 1992; URK *et al.*, 1992; BIRD, 1994).

Los resultados de nuestro estudio muestran cómo las frecuencias obtenidas en las estaciones con mayor aporte de contaminantes (Bertamiráns,

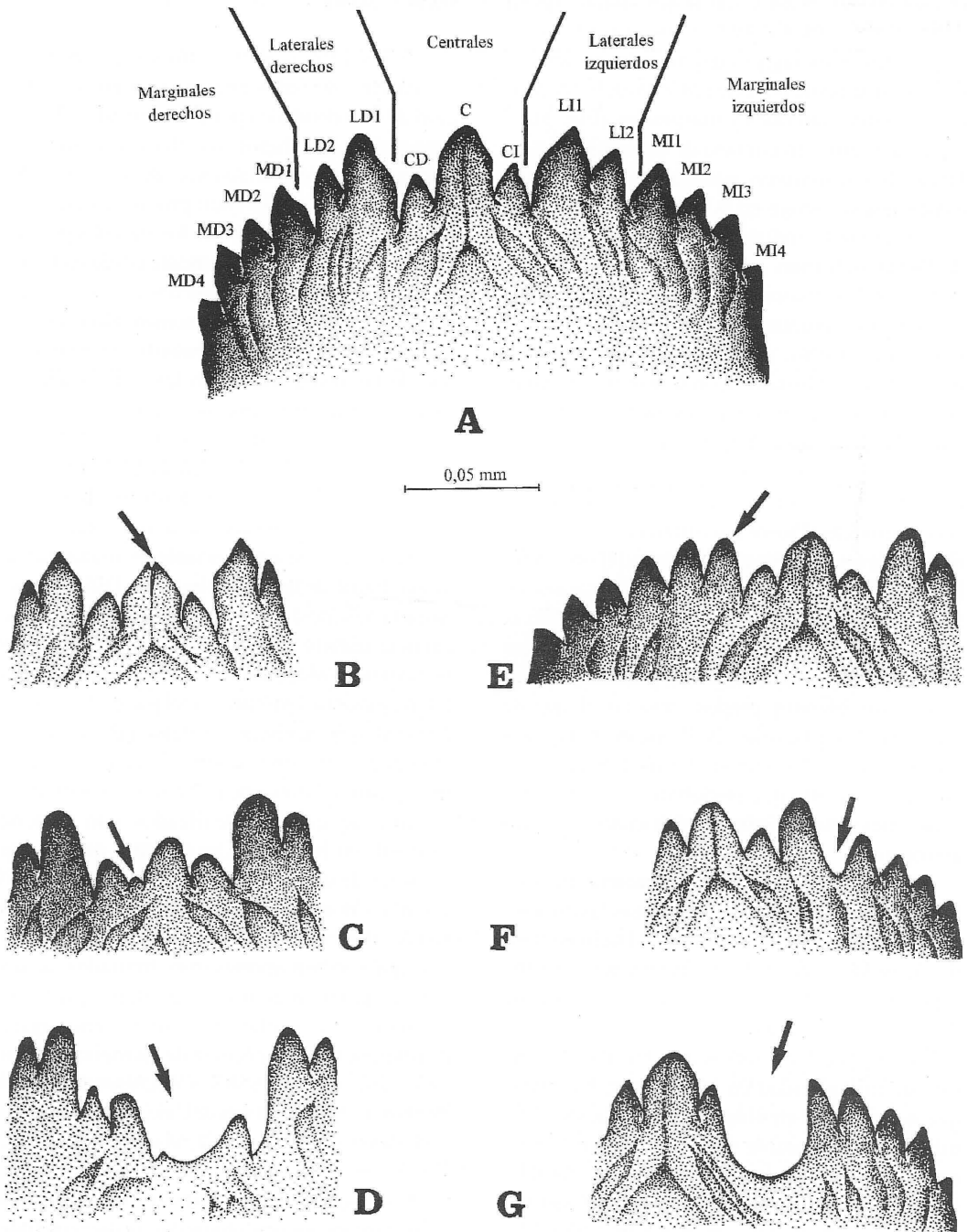


Fig. 3. Deformidades en el mentum de *Chironomus riparius*. A: Mentum normal. B-D: Deformidades en los dientes centrales. E-G: Deformidades en los dientes laterales.

TÁBLA I. Número de larvas (n) de *Chironomus riparius* recolectadas, larvas deformes y larvas anómalas según el tipo de estructura afectada

LUGAR	Chir.		Deformes		Mentum		Mandíb.		Premand.		Antenas		Peine		Lamela		Sedas	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Bertamiráns	1932		298	15,4	163	8,4	43	2,2	8	0,4	6	0,3	71	3,7	19	1	7	0,4
Tállara	267		31	11,6	16	6	5	1,9	0	0	1	0,4	7	2,6	1	0,4	3	1,1
M. da Condesa	144		7	4,9	3	2,1	1	0,7	1	0,7	1	0,7	2	1,4	0	0	0	0
Atián	23		1	4,4	1	4,4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Forcadelo	28		6	21,4	5	17,9	1	3,6	0	0	1	3,6	0	0	0	0	0	0
Bama	86		5	5,8	2	2,3	0	0	0	0	1	1,2	2	2,3	0	0	0	0
Piornedo	45		6	13,3	2	4,4	0	0	0	0	4	8,9	0	0	0	0	0	0
Ames	144		10	6,9	3	2,1	4	2,8	0	0	2	1,4	1	0,7	0	0	0	0

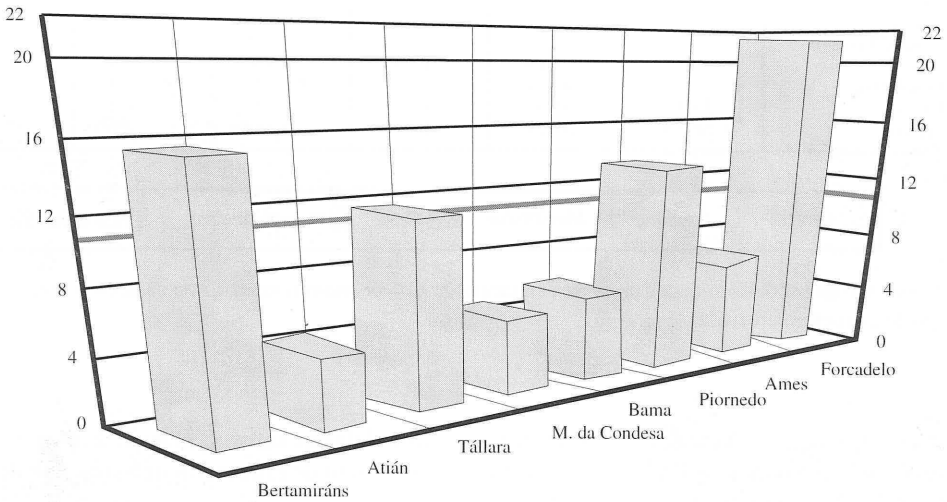
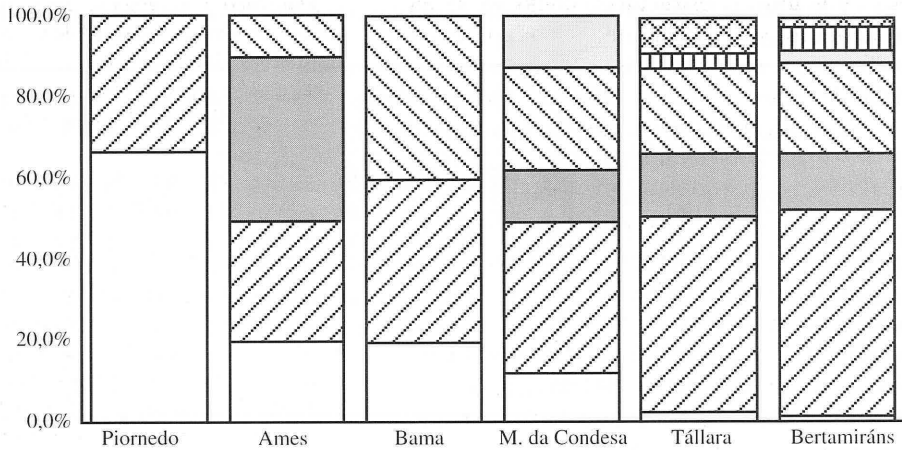


Fig. 4. Frecuencia de aparición de larvas deformes de *Chironomus riparius* en las distintas estaciones de muestreo. El valor medio de estas frecuencias viene marcado por la línea gruesa, situada en el 10,47%.

Forcadelo, Tállara) corroboran la hipótesis de Hamilton/Saether aunque, sin embargo, la estación de Piornedo, a pesar de no recibir ningún aporte de tipo antrópico, presenta una frecuencia de ejemplares deformes relativamente alta. Este hecho muestra cómo, en ausencia de cualquier tipo de aporte contaminante de cierta importancia, el estrés físico por sí mismo parece ser capaz de provocar deformidades en los ejemplares, incluso en frecuencias mayores que las que aparecen en lugares en los que sí existe un aporte de diferentes sustancias.

En cuanto al tipo de estructura deforme, WARWICK (1988) formuló una teoría relativa a este fenómeno que denominó "Hipótesis de dosis-respuesta cuántica", según la cual, ante un aumento de contaminación en el ambiente, las poblaciones de larvas mostrarían cambios en la frecuencia de aparición de deformidades en diferentes estructuras. En primer lugar plantea una relación dosis-respuesta en forma de campana para las antenas; así, una correlación negativa entre un contaminante y un tipo de deformidad podría ser explicada si consideramos que este



Sedas					9,1%	2,2%
Lamela					3,0%	6,0%
Premandíbulas				12,5%		2,5%
Peine		10,0%	40,0%	25,0%	21,2%	22,4%
Mandíbulas		40,0%		12,5%	15,1%	13,6%
Mentum	33,3%	30,0%	40,0%	37,5%	48,5%	51,4%
Antenas	66,7%	20,0%	20,0%	12,5%	3,0%	1,9%

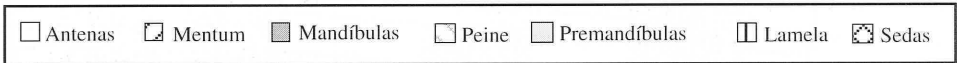


Fig. 5. Reparto de las deformidades presentes en larvas de *Chironomus riparius* de cada estación, en función del tipo de estructura afectada.

hecho corresponde a la parte derecha de la curva de respuesta. Asimismo, indica que, una vez la respuesta de las antenas se ve saturada, y ante una mayor concentración de sustancias tóxicas, son otras estructuras menos sensibles, como el mentum o las mandíbulas, las que pasan a presentar deformidades siguiendo el mismo patrón de respuesta.

En nuestro caso resultan especialmente llamativos los resultados obtenidos en la estación de Piornedo, donde más de la mitad de los ejemplares deformes corresponde a larvas que presentan algún tipo de irregularidad en las antenas, fenómeno que no se repite en ninguna otra estación. Asimismo, es destacable el hecho de que ciertas estructuras, como son las premandíbulas, lamelas labrales y sedas labrales, aparezcan deformadas en aquellas estaciones con un nivel de estrés más alto, lo que lleva a que,

a medida que aumenta el nivel, aumente también el número de estructuras que presentan irregularidades.

Al comparar estas tendencias de manera individual, según la estructura afectada y en las distintas estaciones del grupo de estrés antrópico, tan sólo resulta estadísticamente significativa ( $\chi^2$ ,  $p < 0,05$ ) la observada en el mentum, cuyos valores aumentan a medida que lo hace el grado de estrés, aunque en algunas de las restantes piezas existe también una tendencia al aumento o a la disminución a lo largo de ese gradiente. Así, por ejemplo, se puede observar una disminución del porcentaje de ejemplares que presentan deformidades en las antenas, mientras que aumenta el de aquellos que presentan lamelas irregulares. En cuanto a las mandíbulas, peine epifaríngeo, premandíbulas y sedas labrales, su comportamiento no resulta tan claro, aunque

estas dos últimas estructuras, como ya se ha comentado anteriormente, sólo aparecen malformadas en las estaciones con un mayor grado de estrés.

Varios autores (MADDEN *et al.*, 1992; JANSSENS DE BISTHOVEN & SPEYBROECK, 1994; JANSSENS DE BISTHOVEN *et al.*, 1995) han obtenido resultados en diversos estudios que parecen respaldar la "Hipótesis de dosis-respuesta cuántica" de WARWICK (1988); por ello, y a pesar de que en conjunto el modelo de respuesta de cada estructura en este estudio no aparece claramente definido, el aumento que hemos observado del número de estructuras deformes en función del aumento de los niveles de estrés podría estar relacionado con un tipo de respuesta similar al propuesto por este autor. Esta observación apoya la asunción de que el análisis de la frecuencia de individuos deformes y la de cada estructura cefálica podrían ser utilizados para obtener información sobre las afinidades entre estaciones sometidas a diferentes grados de alteración y deducir asimismo la gravedad relativa de sus niveles de estrés.

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se ha realizado con el apoyo del proyecto XUGA 20001A96 y gracias a la concesión de una beca predoctoral por parte de la Xunta de Galicia. Queremos agradecer, asimismo, la colaboración de dos anónimos revisores.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BIRD, G. A. (1994). Use of chironomid deformities to assess environmental degradation in the Yamaska River, Quebec. *Environ. Monit. Assess.*, **30**: 163-175.
- BRINKHURST, R. O., HAMILTON, A. L. & HERRINGTON, H. B. (1968). *Components of the bottom fauna of the St. Lawrence Great Lakes*. Great Lakes Institute, No. PR33. University of Toronto, Toronto.
- COBO, F. (1988). *Los Quironómidos (Diptera, Chironomidae) de los ríos Ulla y Sar. Estudio faunístico y ecológico*. Tesis doctoral (inéd.). Universidad de Santiago de Compostela.
- COBO, F. & GONZÁLEZ, M. A. (1991). Etude de la dérive des exuvies nymphales de Chironomidés dans la rivière Sar (NO. Espagne). *Spixiana*, **14**(2): 193-203.
- COBO, F., GONZÁLEZ, M. A. & RAMIL, J. (1989). Quironómidos (Diptera: Chironomidae) del río Ulla, I. *Bol. Asoc. esp. Entom.*, **13**: 301-310.
- DERMOTT, R. M. (1991). Deformities in larval *Procladius* spp. and dominant *Chironomini* from the St. Clair River. *Hydrobiologia*, **219**: 171-185.
- DICKMAN, M., BRINDLE, I. & BENSON, M. (1992). Evidence of teratogens in sediments of the Niagara River Watershed as reflected by chironomid (Diptera: Chironomidae) deformities. *J. Great Lakes Res.*, **18**(3): 467-480.
- GUCHTE, C. van de & URK, G. van (1989). Discrepancies in the effects of field and artificially heavy metal contaminated aquatic sediments upon midge larvae. In: Vernet, J. P. (Ed.), *Heavy metals in the environment*. 7<sup>th</sup> International Conference, Geneva.
- HAMILTON, A. L. & SAETHER, O. A. (1971). The occurrence of characteristic deformities in the chironomid larvae of several Canadian lakes. *Can. Ent.*, **103**: 363-368.
- JANSSENS DE BISTHOVEN, L., HUYSMANS, C. & OLLEVIER, F. (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: Cranston, P. S. (Ed.), *Chironomids: From genes to ecosystems*: 63-80. CSIRO Publications, Canberra.
- JANSSENS DE BISTHOVEN, L. & SPEYBROECK, D. van (1994). Some observations of deformed midge larvae (Diptera, Chironomidae) in Kenya. *Verh. Internat. Verein. Limnol.*, **25**: 2485-2489.
- KLINK, A. (1985). Hydrobiologie van de Grensmaas. *Meded. Hydrobiol. Adviesburo K. Wageningen Rapp.* 15.
- KOSALWAT, P. & KNIGHT, A. W. (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., SUTER, P. J., NICHOLSON, B. C. & AUSTIN, A. D. (1992). Deformities in chironomid larvae as indicators of pollution (pesticide) stress. *Neth. J. Aquat. Ecol.*, **26**: 551-557.

- PAZ, C. de (1993). *Hydradephaga (Coleoptera) de la cuenca del río Landro (NW Península Ibérica). Estudio faunístico y ecológico*. Tesis doctoral (iné.). Universidad de Santiago de Compostela.
- ROSENBERG, D. M. & RESH, V. H. (1993). Introduction to freshwater biomonitoring and benthic macroinvertebrates. In: Rosenberg, D. M. & Resh, V. H. (Eds.), *Freshwater biomonitoring and benthic macroinvertebrates*: 1-9. Chapman & Hall, New York.
- STEEDMAN, H. F. (1958). Dimethyl Hydantion Formaldehyde: a new water soluble resin for use as a mounting medium. *Quart. J. Microsc. Sci.*, **99**: 551-552.
- URK, G. van, KERKUM, F. C. M. & SMIT, H. (1992). Life cycle patterns, density, and frequency of deformities in *Chironomus* larvae (Diptera: Chironomidae) over a contaminated sediment gradient. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **49**: 2291-2299.
- WARWICK, W. F. (1980). Pasqua Lake, Southeastern Saskatchewan: a preliminary assessment of trophic status and contamination based on Chironomidae (Diptera). In: Murray, D. A. (Ed.), *Chironomidae: ecology, systematics, ethology and physiology*: 255-267. Pergamon Press, Oxford, New York, Toronto, Sydney, Paris, Frankfurt.
- 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. (1988). Morphological deformities in Chironomidae (Diptera) larvae as biological indicators of toxic stress. In: Evans, M. S. (Ed.), *Toxic contaminants and ecosystem health. A Great Lakes focus*: 281-320. John Wiley and Sons, New York.
- WARWICK, W. F. & CASEY, C. A. (1982). Sampling chironomid communities in lakes. *Can. Dep. Environ., Inland Waters Dir., Natl. Water Res. Inst., Tech. Rep. W. N. R.-PR-82-02*: 1-43.
- WARWICK, W. F. & TISDALE, N. A. (1988). Morphological deformities in *Chironomus*, *Cryptochironomus*, and *Procladius* larvae (Diptera: Chironomidae) from two differentially stressed sites in Tobin Lake, Saskatchewan. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **45**: 1123-1144.
- WIEDERHOLM, T. (1984). Incidence of deformed chironomid larvae (Diptera: Chironomidae) in Swedish lakes. *Hydrobiologia*, **109**: 243-249.