

NOTA BREVE/BRIEF NOTE

# MÉTODO PARA LA CRÍA EN LABORATORIO DE CHIRONOMIDAE (DIPTERA) DE AMBIENTES LÓTICOS

## Laboratory Rearing Methodology for Chironomidae (Diptera) of Lotic Environments

Juan Pablo ZANOTTO ARPELLINO<sup>1</sup>, Romina Elizabeth PRINCIPE<sup>1</sup>, Ana Maria OBERTO<sup>1</sup>, Cristina Mabel GUALDONI<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Laboratorio de Biología Animal, Departamento de Ciencias Naturales, Facultad de Ciencias Exactas, Físico-químicas y Naturales, Universidad Nacional de Río Cuarto. Ruta nacional 36-km. 601. Río Cuarto, Argentina.

**For correspondence.** zanottojp@gmail.com

**Received:** 5<sup>th</sup> August 2015, **Returned for revision:** 9<sup>th</sup> September 2015, **Accepted:** 30<sup>th</sup> October 2015.

**Associate Editor:** Allan H. Smith Pardo

**Citation / Citar este artículo como:** Zanotto JP, Principe RE, Oberto AM, Gualdoni CM. Método para la cría en laboratorio de Chironomidae (Díptera) de ambientes lóticos. Acta biol. Colomb. 2016;21(2):443-446. doi:<http://dx.doi.org/10.15446/abc.v21n2.52334>

### RESUMEN

La taxonomía de Chironomidae se apoya fuertemente en la integración de las características morfológicas de todas las fases del ciclo de vida, las cuales se pueden obtener mediante la cría en laboratorio. Este estudio desarrolló un método de cría en laboratorio de larvas de Chironomidae de ambientes lóticos. El método consta de una circulación constante de agua y distintos ítems alimenticios. Esta metodología ha permitido obtener asociaciones de los estados de larva, pupa y adulto para la identificación de especies presentes en una región de Argentina en la que el estado de conocimiento de la familia Chironomidae es incipiente.

**Palabras clave:** arroyos, insectos acuáticos, ritron.

### ABSTRACT

The taxonomy of Chironomidae is strongly supported by the integration of morphological characteristics of all stages of the life cycle, which can be obtained through laboratory rearing. This study was developed in laboratory to test rearing method for lotic Chironomidae larvae. The method included constant water circulation and different food items. This methodology allowed obtaining associations of larva, pupa and adult stages for the identification of species from an Argentinean region in which the knowledge of Chironomidae family is incipient.

**Keywords:** aquatic insects, rithron, streams.

La sistemática de Chironomidae (Díptera) es compleja y se apoya fuertemente de la integración de las características morfológicas de todas las fases del ciclo de vida. Para ello se utiliza material obtenido de la cría en laboratorio, el cual permite tener una correcta asociación entre los estados de larva, pupa y adulto (Paggi, 1998). Hay pocos trabajos científicos publicados sobre metodología de cría de Chironomidae (Epler, 2001; Mendes, 2002) lo cual crea una dificultad al momento de poner en práctica la cría de larvas en laboratorio, en especial de las especies de ambientes lóticos que requieren cierta velocidad de corriente y altas concentraciones de oxígeno disuelto. Aunque las larvas de insectos acuáticos a menudo pueden ser criadas en

cámaras simples de agua con oxígeno, los individuos de ambientes lóticos requieren una simulación del flujo de agua. Si bien existen publicaciones que describen métodos de cría de insectos acuáticos en laboratorio con circulación de agua (Lawrence, 1981; Palmer *et al.*, 1994), estas hacen referencia a sistemas complejos que requieren gran espacio en el laboratorio. En este trabajo se describe un dispositivo de cría que requiere poco espacio y que permite criar individualmente a cada organismo para obtener los tres estadios del ciclo biológico. En el método descrito, un flujo de agua constante oxigena y simula la velocidad de corriente del ambiente lótico, y proporciona las condiciones adecuadas para la obtención de alimento por parte de

los individuos filtradores como los Tanytarsini (Merritt y Cummins, 1996). Con la finalidad de obtener larvas y pupas vivas para criar en condiciones de laboratorio se colectaron muestras cualitativas con red de mano de 300  $\mu$  de abertura de malla en un tramo de ritron de un arroyo serrano situado entre 753 y 810 m s.n.m. y entre los 33°11' 18" y 33°09'19"S, y los 64°56'54" y 64°59'11" O (arroyo Achiras, Córdoba, Argentina). Las muestras fueron almacenadas y transportadas según Mendes (2002). Conjuntamente se tomaron muestras de sustrato del arroyo para su posterior utilización en los frascos de cría. En laboratorio cada muestra se colocó en una bandeja metálica blanca y se separó la totalidad de los individuos de Chironomidae, sin discriminar en estadio ni subfamilia, con una pipeta plástica descartable de 3 mL para no dañar a los individuos (Epler, 2001). Se diseñó un dispositivo de cría consistente en dos bandejas plásticas (45x32 y 5x10,5 cm) interconectadas con dos tubos de polipropileno de 2 cm de diámetro y 15 cm de largo (Fig. 1A-1B). En cada bandeja se colocó una bomba Champion CX-500 (200 lh

<sup>1</sup>) para mantener una circulación constante entre ambos recipientes. A cada bomba se le anexó un tubo de PVC transparente de 9 mm de diámetro interno con el fin de generar un flujo del agua en cada bandeja imitando la velocidad de corriente del arroyo (Fig. 1A-1B). Se utilizó agua de red previamente dechlorada, debido a que el agua del arroyo sufría una rápida disminución de su calidad. Los individuos fueron depositados individualmente en frascos plásticos de cría de 50 mL (7 cm de diámetro x 3,5 cm de largo) (Fig. 1C-1D). En la pared de los frascos de cría se realizó una abertura, 2,5 de diámetro x 6 cm de largo, la cual se cubrió con tela tipo microtul de 500  $\mu$ . Esta abertura posibilita la renovación constante del agua reteniendo las larvas dentro de los frascos (Fig. 1C-1D). Adicionalmente, en las tapas de los frascos de cría se realizó una abertura de 3 cm diámetro que se cubrieron con tela tipo microtul de 500  $\mu$  lo que permitió el intercambio de oxígeno con el ambiente y la retención del adulto al momento de la emergencia. En cada frasco se colocó sustrato del sitio de muestreo, esterilizado en estufa a 40° C durante 48 horas

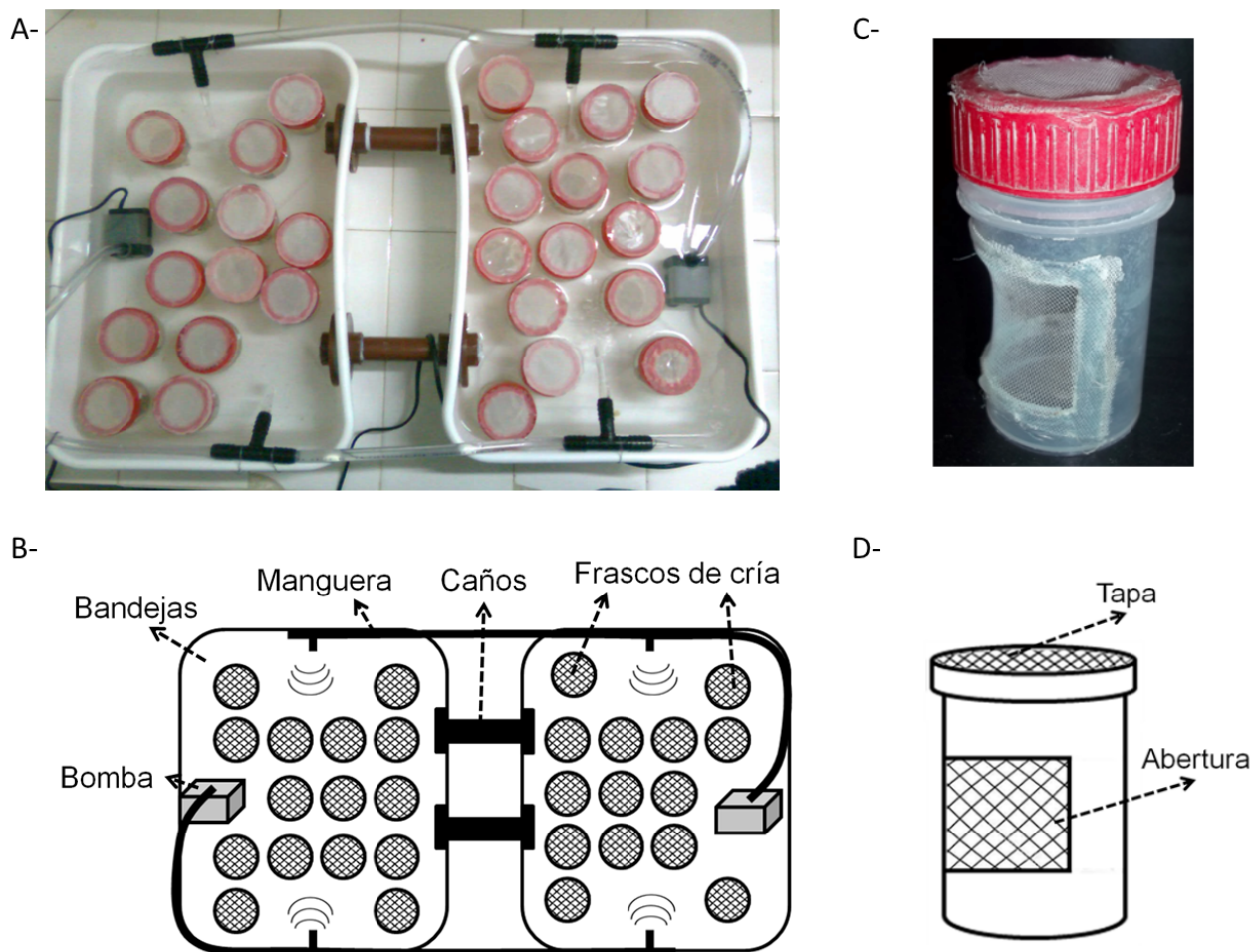


Figura 1. Dispositivo de cría. Bandejas con circulación constante de agua: A. Foto; B. Esquema. Frasco de cría: C. Foto; D. Esquema.

para la eliminación de pequeños invertebrados presentes en el sustrato. Las larvas fueron mantenidas con alimento escamado para peces tipo Shulet *Carassius*, individuos muertos de Tubificinae y larvas de Chironomidae (Mendes, 2002). Además, se agregó a los frascos una pequeña porción de musgo (Charophyta, Bryidae) (Chase y Reveal, 2009) proveniente del sitio de muestreo, con el fin de aportar a las larvas otro tipo de alimento, incrementar la oxigenación del agua y brindar superficie de apoyo para las especies constructoras de estuches. Los recipientes se controlaron diariamente para detectar la presencia de adultos. Luego de la emergencia del adulto, éste se mantuvo en el frasco de cría por 24 h para asegurar su esclerotización. Posteriormente se retiró y se conservó en tubos Eppendorf con alcohol 70 %, junto a sus exuvias larval y pupal. La cría se inició con un total de 159 larvas, de las cuales se obtuvieron 58 adultos, 33 machos y 25 hembras. De los adultos obtenidos, el 24 % correspondieron a Tanypodinae, el 16 % a Chironominae, el 5 % a Orthocladiinae y el 55 % restante no pudo ser asignado a una subfamilia. Con microscopio estereoscópico se pudo identificar los siguientes géneros: *Chironomus* sp., *Criptotendipes* sp., *Cryptochironomus* sp., *Rheotanytarsus* sp. y *Thienemannimyia* sp. La asignación de subfamilia, género y especie a los individuos sin identificar se podrá realizar una vez confeccionados los preparados permanentes. La cría en laboratorio es una metodología necesaria pero a su vez muy compleja, debido a que resulta sumamente difícil reproducir en laboratorio las condiciones naturales que requieren las especies de un ambiente rítrónico. El estrés y algunos parámetros ambientales como la velocidad de corriente, la temperatura y la oxigenación influyen en el ciclo vital de estos organismos (Maier *et al.*, 1990). En particular, el estadio larval constituye un factor clave para una cría exitosa que permita obtener los tres estados del ciclo vital, ya que se recomienda iniciar la cría con larvas del último estadio (Epler, 2001) garantizando así una rápida emergencia. En la metodología descrita en este trabajo se incluyó la totalidad de las larvas colectadas sin discriminar estadio, lo que pudo afectar el porcentaje de emergencia obtenido. En la bibliografía sobre métodos de cría en laboratorio hay cierto sesgo hacia la cría de una única especie (Trivinho-Strixino y Strixino, 1989; Zilli *et al.*, 2009), lo que torna al método más eficiente porque las demandas fisiológicas están bien definidas aumentando el porcentaje de emergencia (Baek *et al.*, 2012). Para cumplir con objetivos que pretenden identificar a todos los individuos de la familia sería muy complejo criar a cada especie por separado. Por lo tanto se requiere de un dispositivo que permita criar a todos los representantes de Chironomidae en el menor espacio posible. El método descrito es económico y fácil de fabricar. Las dimensiones del dispositivo de cría pueden adaptarse a diferentes necesidades, permitiendo criar a una mixtura de especies

de la familia o a un grupo específico de especies. Si bien el método necesita ajustes para que se asemeje al ambiente natural, ha permitido obtener asociaciones de los estados de larva, pupa y adulto para la identificación de especies presentes en una región de Argentina en la que el estado de conocimiento de la familia Chironomidae es incipiente.

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue subsidiado por la Secretaría de Ciencia y Técnica de la Universidad Nacional de Río Cuarto. Agradecemos a la Dra. Maricel Boccolini por contribuir en la revisión bibliográfica, así como en tareas preliminares de campo y laboratorio relacionados con la cría de Chironomidae en laboratorio. A los evaluadores y al editor de la revista por sus valiosos aportes que mejoraron el manuscrito.

## REFERENCIAS

- Baek MJ, Yoon TJ, Bae YJ. Development of *Glyptotendipes tokunagai* (Diptera: Chironomidae) under different temperature conditions. *Environ Entomol.* 2012;41(4):950-958. Doi:<http://dx.doi.org/10.1603/EN11286>
- Chase MW, Reveal JL. A phylogenetic classification of the land plants to accompany APG III. *Bot J Linn Soc.* 2009;161(2):122-127. Doi:[10.1111/j.1095-8339.2009.01002.x](http://dx.doi.org/10.1111/j.1095-8339.2009.01002.x)
- Epler JH. Identification manual for the larval Chironomidae (Diptera) of North and South Carolina. North Carolina Department of Environmental and Natural Resources. North Carolina: Division of Water Quality; 2001. 526 p.
- Lawrence, SG, editor. Manual for the culture of selected freshwater invertebrates. *Can Spec Publ Fish Aquat Sci.* 1981;54:1-169.
- Maier KJ, Kosalwat P, Knight AW. Culture of *Chironomus decorus* (Diptera: Chironomidae) and the effect of temperature on its life history. *Environ Entomol.* 1990;19:1681-1688. Doi:[10.1093/ee/19.6.1681](http://dx.doi.org/10.1093/ee/19.6.1681)
- Mendes HF. Rearing Tanypodinae, Telmatogetoninae and Orthocladiinae in Brazil- an empirical approach. *Chironomus Newsletter on Chironomidae Research.* 2002;15:29-32. Doi:<http://dx.doi.org/10.5324/cjcr.v0i15.92>
- Merritt RW, Cummins KW. An Introduction to the Aquatic Insects of North America. Third Edition. Iowa: Kendall/Hunt Publishing; 1996. 862 p.
- Paggi AC. Chironomidae. In: Morrone, JJ, Coscarón S, editores. Biodiversidad de Artrópodos Argentinos: Una perspectiva biotaxonomica. Ediciones Sur; 1998. p. 327-337.
- Palmer CG, Rowston WS, Jezewski WA, Skotnicki PI. The design and research potential of an artificial stream system for the investigation of macroinvertebrate water quality tolerances. *Water AS.* 1994;20(3):247-258.

---

Trivinho-Strixino S, Strixino G. Observações sobre a biologia da reprodução de um quironomídeo da região neotropical (Diptera, Chironomidae). Rev Bras Entomol. 1989;33:207-216.

Zilli F, Marchese M, Paggi AC. Life Cycle of *Goeldichironomus holoprasinus* goeldi (Diptera: Chironomidae) in Laboratory. Neotrop Entomol. 2009;38(4):472-476. Doi:<http://dx.doi.org/10.1590/S1519-566X2009000400005>