



EFECTOS DEL USO DE SUELO SOBRE LA CALIDAD DEL AGUA Y LOS ENSAMBLAJES DE MACROINVERTEBRADOS ACUÁTICOS DE LA CUENCA ALTA DEL RÍO LA ANTIGUA, VER.

TESIS QUE PRESENTA PATRICIA LUCERO GARCÍA GARCÍA
PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTOR EN CIENCIAS

Xalapa, Veracruz, México (2013)



Aprobación final del documento de tesis de grado:

"Efectos del uso de suelo sobre la calidad del agua y los ensamblajes
de macroinvertebrados acuáticos de la cuenca alta del río La Antigua, Ver."

	Nombre	Firma
Director	Gabriela Vázquez Hurtado	
Co-director	Rodolfo Novelo Gutiérrez	
Comité Tutorial	Patricia Moreno Casasola-Barceló	
	Fernando Martínez Jerónimo	
Jurado	Federico Escobar Sarria	
	Rodolfo Novelo Gutiérrez	
	Luis Alonso Ramírez Ulate	

RECONOCIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca de manutención otorgada para realizar los estudios de posgrado (Reg. 168443) y del proyecto 101542.

A mis directores de tesis, la Dra. Gabriela Vázquez Hurtado y el Dr. Rodolfo Novelo Gutiérrez, quienes siempre me dirigieron durante todo el proceso de la tesis. Gracias porque siempre tuvieron la mejor disposición para apoyarme.

A los miembros de mi comité tutorial; al Dr. Fernando Martínez Jerónimo y a la Dra. Patricia Moreno Casasola-Barceló, por el apoyo que me brindaron y por sus valiosos comentarios y sugerencias a esta tesis.

Al Dr. Mario Enrique Favila Castillo, por su participación en el artículo de bioensayos, por su tutoría en la parte estadística y por sus valiosas sugerencias.

A José Antonio Gómez Anaya y a Javier Tolome Romero, por su apoyo en el trabajo de campo, por su agradable compañía y disponibilidad.

A Ariadna Martínez Virués, Laura Martínez-Jerónimo y Daniella Cela Cadena por su gran apoyo en el trabajo de laboratorio.

A Rosario Landgrave, por la generación de los mapas de ubicación de la zona de estudio.

A Luis Alonso Ramírez Ulate y a W. Bruce Campbell por la revisión del artículo de odonatos.

A Keith MacMillan y a Xochitl Ponce Wainer por la revisión del inglés de los artículos generados.

A mi amado esposo, Ernesto Valadez Pérez, por haberme acompañado por primera vez a la selección de los sitios de estudio.

A Tania Salgado Portero por su valiosa ayuda en el manejo de las muestras de macroinvertebrados.

A los compañeros que participaron en la colecta de muestras: Ernesto Valdez Pérez, Arlette Fuentes Pérez, Rosa María González y Siljo Méndez.

A mi amiga Miriam Ramos por compartir sus experiencias, por sus sabios consejos y sugerencias, y a mis amigos Anais Horden, María Leonor Jimenez, Rodrigo Gómez, Lucero Álvarez, Gabriela Mendoza, Karla Rodríguez, Mar Lucero y Alejandro Delgadillo por las risas compartidas y los momentos vividos durante este proceso.

A todos mis amigos, compañeros, administrativos y maestros del INECOL, porque generaron el mejor ambiente para llevar a cabo el doctorado y finalizar la tesis.

A los macroinvertebrados acuáticos, gracias a su sacrificio se generó conocimiento, espero que haya valido la pena su expiración.

DEDICATORIA

A mi amado esposo, mi Mosh

A mis papás Pedro Rafai y Lulitas

A mis hermanos Pollito Verde y Pillín

A mis queridos amigos Anais, Miriam, Fabis y Ale

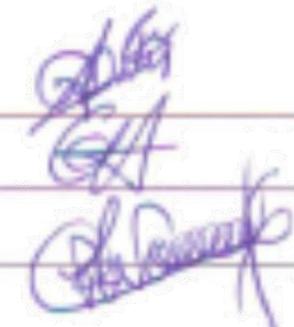
A mis hijas postizas; Kuika, Maya y Nieve

DECLARACIÓN

Excepto cuando es explicitamente indicado en el texto, el trabajo de investigación contenido en esta tesis fue efectuado por Patricia Lucero García García como estudiante de Doctor en Ciencias (Ecología y Manejo de Recursos Naturales) entre agosto de 2008 y febrero del 2013, bajo la supervisión de la Dra. Gabriela Vázquez Hurtado y el Dr. Rodolfo Novelo Gutiérrez.

Las investigaciones reportadas en esta tesis no han sido utilizadas anteriormente para obtener otros grados académicos, ni serán utilizadas para tales fines en el futuro.

Candidato: Patricia Lucero García García



Director de tesis: Gabriela Vázquez Hurtado



Co-director de
tesis: Rodolfo Novelo Gutiérrez



ÍNDICE

RESUMEN GENERAL.....	11
CAPÍTULO 1. Introducción general.....	13
Los cambios de uso de suelo en la cuenca alta del río La Antigua, Ver.....	13
Hábitat y calidad del agua.....	14
Tipos de métodos para la bioevaluación del estado ecológico de los ecosistemas dulceacuícolas.....	15
Estacionalidad.....	17
Resolución taxonómica.....	17
Antecedentes.....	18
Planteamiento de la tesis.....	19
Literatura citada.....	21
CAPÍTULO 2. Effects of land use on water quality and <i>Ceriodaphnia dubia</i> reproduction.....	27
Abstract.....	29
Introduction.....	30
Materials and methods.....	32
Results.....	35
Discussion.....	38
References.....	44
CAPÍTULO 3. Effects of land use on streams and larval Odonata assemblages in the La Antigua upper watershed, Veracruz, Mexico.....	61
Abstract.....	63
Introduction.....	64
Materials and methods.....	65
Results.....	68
Discussion.....	73
References.....	79
CAPÍTULO 4. Efectos del uso de suelo sobre los ensamblajes de	95

macroinvertebrados en la cuenca alta del río La Antigua, Ver.....	
Resumen.....	96
Introducción.....	97
Materiales y Métodos.....	100
Resultados.....	103
Discusión.....	107
Literatura citada.....	111
CAPÍTULO 5. DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN GENERAL.....	131
Literatura citada.....	137

LISTAS DE TABLAS Y FIGURAS

Capítulo 2

Table 1. Characteristics of the study streams in the La Antigua River upper watershed, Veracruz, Mexico. F = forest, P = pasture, C = coffee plantation, U = mixed with urban influence, SC = sugar cane cover, as a percentage of the total micro watershed surface.

Table 2. Average values of the environmental variables (\pm standard error) from dry (April 2010) and rainy (October 2010) season water samples from the study streams. F = cloud forest, P = pasture, C = coffee plantation, U = mixed with urban influence. Temp = temperature, DO = dissolved oxygen, Cond = conductivity, TSS= total suspended solids, Hard = hardness, Alk = alkalinity, NH_4^+ = ammonia, $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$ = nitrate+nitrite, TP = total phosphorus, Cl^- = chloride, SO_4^{2-} = sulfate.

Table 3. Minimal models (LR χ^2 likelihood ratio) for the effect of land use, season, and water concentration (nested on land use) on the progeny and broods from females of *Ceriodaphnia dubia*.

Figure 1. Location of the sampling sites within the La Antigua river upper watershed, Veracruz, Mexico. F = cloud forest, P = pasture, C = coffee plantation, U = mixed with urban influence.

Figure 2. PCA ordination of the sixteen physicochemical variables from April, 2010 (A) and October, 2010 (O). DO = dissolved oxygen, Alk = total alkalinity, Hard = total hardness, Temp = temperature, TSS= total suspended solids, Cond = conductivity, TP = total phosphorus. F = cloud forest, P = pasture, C = coffee plantation, U = mixed with urban influence.

Figure 3. Average stream discharge (\pm standard error) in the dry (April, 2010) and rainy seasons (October, 2010). F = cloud forest, P = pasture, C = coffee plantation, U = mixed with urban influence.

Figure 4a-d. Average progeny per *Ceriodaphnia dubia* female (\pm 95% confidence interval) for each (a) land use, (b) season, (c) interaction of land use and season, and (d) water concentration (%) (nested on land use). Asterisks highlight significant differences. F = cloud forest, P = pasture, C = coffee plantation, U= mixed with urban influence.

Figure 5a-d. Average broods per *Ceriodaphnia dubia* female (\pm 95% confidence interval) for each (a) land use, (b) season, (c) interaction land use and season, and (d) water concentration (%) (nested on land use). Asterisks highlight significant differences. F = cloud forest, P = pasture, C = coffee plantation, U = mixed with urban influence.

Capítulo 3

Table 1. Average values of physicochemical variables (\pm standard error) in the studied streams in the La Antigua river upper watershed (F = cloud forest, P = pasture, C = coffee plantation, U = urban).

Table 2. Physical characterization of the riparian and instream habitats for each 100 m stream reach. Abbreviations: t = trees, s = shrubs, h = herbs, g = grass. Numbers represent the scores of the visual evaluation of ten metrics from scale 0 to 20; scores increase as habitat quality increases: poor 0-5; marginal 6-10; sub-optimal 11-15; optimal 16-20 (F = cloud forest, P = pasture land, C = coffee plantation, U = mixed urban influence). Bank characteristics are the result of summing the right and left banks.

Table 3. Odonata species presence and relative abundance in the la Antigua River upper watershed streams during the dry (D) and rainy (R) seasons (F = cloud forest, P = pasture land, C = coffee plantation, U = urban).

Figure 1. Location of the sampling sites within the La Antigua upper river catchment, in Veracruz, Mexico (F = forest, P = pasture, C = coffee plantation, U = urban).

Figure 2. (a) Water discharge between seasons, indicating the mean (horizontal dashed line), median (horizontal solid line), and outliers (black small circles). (b) Average stream discharge (\pm standard error) in the dry (April) and rainy seasons (October) (F = forest, P = pasture, C = coffee plantation, U = urban).

Figure 3. (a) Relative abundance of Odonata families, and (b) relative abundance of different Odonata habits in the studied streams grouped by land use in the La Antigua upper watershed. F = forest, P = pasture, C = coffee plantation, U = urban.

Figure 4. Dominance, evenness (\pm standard error) and Odonata species abundance between the dry (black columns) and rainy seasons (grey columns) for the studied streams grouped by land use in the La Antigua upper watershed: (a) Simpson's Index, letters denote differences of the interaction land use \times season, (b) Pielou's Index, (c) Rank abundance plots for the species assemblages among land uses between seasons. *Hetaerina cruentata* (1), *Hetaerina. vulnerata* (2), *Brechmorhoga pertinax* (3), *Hetaerina capitalis* (4), *Brechmorhoga tepeaca* (5), *Erpetogomphus viperinus* (6), *Argia lacrimans* (7), *Erpetogomphus boa* (8), *Cordulegaster diadema* (9), *Oplonaeshna armata* (10), *Argia* sp. 3 (11), *Argia* sp. 1 (12), *Argia anceps* (13), *Phyllogomphoides suasus* (14), *Argia extranea* (15), *Argia* sp. 2 (16), *Argia ulmeca* (17), *Palaemnema* sp. (18), *I. denticollis* (19). F = forest, P = pasture, C = coffee plantation, U = urban.

Figure 5. Cluster dendrogram based on Sorensen's Similarity Index for the Odonata larvae (species presence/absence) from 12 streams sites in La Antigua upper watershed. F= forest, P= pasture, C= coffee plantation, U= urban.

Figure 6. CCA biplots showing (a) water quality parameters and streams, and (b) Odonata species (based on mean individuals per sample) and water quality parameters. Stream codes: F = forest, P = pasture, C = coffee plantation, U = urban. Season codes: D = dry, R = rainy. Environmental codes: Tss = total suspended solids, Alk = alkalinity, NO₃+NO₂ = nitrate + nitrite, TP = total phosphorus, DO = dissolved oxygen, Cond = conductivity, Temp = temperature, SO₄ = sulfate.

Capítulo 4

Tabla 1. Características de los arroyos estudiados de la Cuenca alta del Río La Antigua. F = bosques, P = pastizales, C = cafetales, U = urbanos.

Tabla 2. Métricas de riqueza, composición y tolerancia de macroinvertebrados acuáticos, y su respuesta esperada con la perturbación antropogénica de acuerdo Barbour et al. (1999)⁽¹⁾, Cho et al. (2011)⁽²⁾ y Moya et al. (2011)⁽³⁾, Blocksom et al. (2002)⁽⁴⁾, Davis et al. 2003⁽⁵⁾, <http://www.epa.gov/>⁽⁶⁾.

Tabla 3. Caracterización del hábitat ribereño y del cauce para cada arroyo. Abreviaciones: a = árboles, b = arbustos, c = hierbas, d = pasto, - = sin dominancia aparente. Los números representan los puntajes obtenidos con la evaluación visual de diez características de una escala de 0 a 20; los puntajes incrementan conforme la calidad del hábitat incrementa de la siguiente forma: pobre 0-5; marginal 6-10; subóptima 11-15; óptima 16-20. Las características del banco son resultado de la suma de los bancos derecho e izquierdo.

Tabla 4. Valores promedio de las variables fisicoquímicas (\pm error estándar) en los arroyos de la cuenca alta del río La Antigua. Los valores más altos se muestran en negritas.

Tabla 5. Abundancia relativa de los grupos taxonómicos de macroinvertebrados acuáticos colectados en los doce arroyos de la cuenca alta del río La Antigua. Tabla 6. Coeficientes de correlación de Spearman ($P \leq 0.05$) entre las variables fisicoquímicas del agua y la abundancia relativa de macroinvertebrados acuáticos por taxa. Se muestran sólo los taxa para los que hubo una correlación significativa.

Tabla 7. Abundancia relativa promedio (%) de cada taxón de macroinvertebrados acuáticos por uso de suelo. F = bosque, P = pastizal, C = cafetal, U = urbano. $F/H = F$, estadístico de ANOVA, $H =$ estadístico de Kruskal-Wallis.

Figura 1. Localización de los sitios de muestreo en cada arroyo de estudio de la cuenca alta del río La Antigua. F = bosque, P = pastizal, C = cafetal, U = urbano.

Figura 2. Dendrograma de agrupamiento con base en la abundancia relativa de macroinvertebrados acuáticos de arroyos. F = bosque, P = pastizal, C = cafetal, U = urbano.

Figura 3. Diagrama de ordenación que muestra (a) los arroyos y las variables fisicoquímicas del agua que no mostraron multicolinealidad, y (b) las métricas y las mismas variables fisicoquímicas. F = bosque, P = pastizal, C = cafetal, U = urbano. SST = sólidos suspendidos totales, PT = fósforo total, Cond = conductividad, H = puntaje del hábitat, OD = oxígeno disuelto.

RESUMEN GENERAL

La cuenca alta del río La Antigua es considerada como una región hidrológica de alta diversidad e importancia ecológica, donde el bosque mesófilo ha sido remplazado por zonas ganaderas, agrícolas y asentamientos urbanos. En este estudio, el diagnóstico integral de distintos factores a nivel de paisaje y local, así como el uso de diferentes métodos de bioevaluación y con distinta resolución taxonómica, permitió determinar el estado de conservación de doce arroyos de la cuenca alta del río La Antigua, Veracruz. Se evaluaron las relaciones de los principales usos de suelo de la región y las condiciones del hábitat ribereño, la calidad del agua de los arroyos, y los efectos sobre los ensamblajes de macroinvertebrados acuáticos, durante estaciones climáticas contrastantes, tomando como condiciones de referencia arroyos que drenan el bosque mesófilo de montaña. Los resultados mostraron cómo distintos factores alterados del medio ribereño y acuático (ej. simplificación del hábitat, concentración de materia orgánica, de iones, sedimentos y temperatura del agua), así como la estacionalidad, pueden modificar la reproducción de una especie de microcrustáceo (Cladocera: *Ceriodaphnia dubia*), la presencia y abundancia de especies de un ensamblaje particular de insectos acuáticos (Odonata) y la riqueza y abundancia a nivel de familia de los ensamblajes de macroinvertebrados acuáticos. Los arroyos con el mejor estado de conservación fueron aquellos que drenan en microcuencas conservadas de bosque mesófilo, seguidos por los arroyos de pastizales, los de cafetales y por último, los arroyos con influencia urbana, que fueron los más alterados. Los resultados indican que las prácticas de manejo locales tales como la eliminación de la vegetación ribereña y las descargas directas de aguas residuales son las principales responsables del estado de conservación de los arroyos estudiados. La sustitución del bosque mesófilo por zonas agrícolas y ganaderas, así como el crecimiento poblacional continúan amenazando la permanencia de este importante ecosistema, haciéndose cada vez más importante tomar medidas para su conservación y mejor manejo.

CAPÍTULO 1

Introducción general

Introducción general

El bosque mesófilo de montaña es el ecosistema de mayor biodiversidad de flora y fauna por unidad de área en México (Challenger 1998). Resulta de gran importancia ecológica e hidrológica, ya que es mundialmente reconocido por su papel en el mantenimiento de los ciclos hidrológicos y de nutrientes de las tierras bajas (Hamilton et al. 1995; Bruijnzeel 2004). En México, tal vez sea el ecosistema más amenazado ya que ocupa del 0.5 al 1% del territorio nacional (González-Espinosa et al. 2012) y sólo quedan remanentes discontinuos y con distribución restringida de bosque mesófilo primario en las serranías de Nayarit, en la Huasteca Alta Hidalguense, en la Sierra Madre del Sur y Franja Neovolcánica de Jalisco, en las zonas montañosas de Chiapas y en Veracruz; en la cuenca alta del Balsas, en los Tuxtlas, y en la zona Centro (CONABIO 2010). El bosque mesófilo de montaña del Centro de Veracruz se encuentra entre los 1,200 a los 2,100 m.s.n.m (Williams-Linera 2007). Desde la vertiente este del volcán Cofre de Perote drena de oeste a este los arroyos de la cuenca alta del río La Antigua, pasando por los municipios de Acajete, Tlanelhuayocan, Coatepec, Xalapa, Xico y Teocelo, hasta desembocar en el río Pescados, en el municipio de Jalcomulco.

Los cambios de uso de suelo en la cuenca alta del río La Antigua, Ver.

Entre 1990 a 2003 cerca del 50% de la vegetación natural de la cuenca alta del río La Antigua tuvo algún cambio de uso de suelo. En esta región el bosque mesófilo de montaña fue remplazado principalmente por plantaciones de café de sombra, pastizales para ganado y por la urbanización (Muñoz-Villers y López-Blanco 2008). De acuerdo al Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP 2012), Veracruz cuenta con la mayor población ganadera del país con el 12% del total nacional. El Distrito de Coatepec abarca los municipios de Xalapa, Coatepec, Xico, Teocelo y Cosautlán, y aunque sólo contribuye con el 2% de la población ganadera del estado, en la zona esta actividad económica es una de las principales a nivel local (Martínez y Cruz 2009). Además, es el segundo estado productor de café en México, generando el 26% de la producción a nivel nacional. Las

áreas urbanas ocupan aproximadamente el 7% de la superficie de la cuenca alta del río La Antigua, sin embargo, no han dejado de incrementarse año con año (Muñoz-Villers y López-Blanco 2008). Debido a la importancia de estas actividades agropecuarias y al crecimiento urbano en la región, se requiere de estudios de diagnóstico que determinen el impacto de estas actividades sobre los ecosistemas dulceacuícolas (Thomsen et al. 2012), los cuales son reconocidos entre los más frágiles y amenazados por las actividades humanas a nivel global.

El impacto de la transición de un paisaje natural a uno dominado por actividades humanas puede ser evaluado al identificar el uso del suelo predominante en una región como factor determinante del “estado ecológico” de los ecosistemas dulceacuícolas (Meyer y Turner 1994), el cual integra los cambios estructurales de las comunidades de organismos acuáticos, pero también incluye a los cambios hidrológicos, fisicoquímicos y de la vegetación ribereña, como efectos de las alteraciones antropogénicas (Prat et al. 2009).

Hábitat y calidad del agua

Para poder determinar de forma integral el estado ecológico de los arroyos de microcuenca con diferente uso de suelo, se evaluaron las condiciones del hábitat ribereño y de las características fisicoquímicas del agua, ya que el manejo inadecuado de los diferentes usos de suelo puede modificar ambas condiciones de los cuerpos de agua. Por ejemplo, la disminución de la vegetación ribereña por deforestación puede reducir la entrada de material orgánico alóctono al cauce (procedente de la zona ribeñera), tal como la hojarasca, madera en descomposición y detrito, y en su lugar generar un aumento en la producción primaria (Benstead y Pringle 2004), puede reducir la evapotranspiración y llegar a aumentar el caudal (Ross et al. 1990) e incrementar la temperatura del agua debido a la reducción de la sombra sobre el cauce (Couceiro et al. 2006). El pisoteo de las vacas en los pastizales, la disminución de la vegetación herbácea en las plantaciones agrícolas, y la frecuencia y volumen de las descargas domésticas pueden desestabilizar los bancos en la orilla (Bengeyfield 2007; Diana et al. 2006; Baker et al. 2008). La eliminación de la vegetación ribereña en arroyos urbanos (Booth y Jackson 1997) o la simplificación de su

estructura en zonas agrícolas pueden producir la pérdida del suelo e incluso la sedimentación de los cuerpos de agua (Chapman y Chapman 2003). En los pastizales, el paso libre del ganado hacia el cauce puede incrementar la materia orgánica en el agua, a través de las heces (Hubbard et al. 2004). En las plantaciones de café, los restos de los insecticidas utilizados para controlar plagas pueden llegar a los arroyos y liberar sus componentes tóxicos, a través de la escorrentía del suelo, particularmente durante la estación de lluvias (Guadarrama-Zugasti 2000). En las áreas urbanas las descargas de las aguas residuales domésticas de forma directa en los arroyos que las atraviesan, pueden producir un aumento significativo de los nutrientes y contaminantes y una reducción significativa del oxígeno disuelto (Walsh et al. 2005).

Tipos de métodos para la bioevaluación del estado ecológico de los ecosistemas dulceacuícolas

La bioevaluación de los cuerpos de agua se basa en el conocimiento de la capacidad natural que tienen los organismos acuáticos de responder a perturbaciones. Las respuestas de los organismos a la alteración de su medio se pueden manifestar y determinar a distintas escalas como son la bioquímica, la fisiológica, la histológica, la genética (biomarcadores); y también a nivel de individuo, población, comunidad o ecosistema (bioindicadores) (Springer 2010). Las técnicas de bioevaluación que se aplican pueden ser *in vitro* o *in situ*, dependiendo del objetivo del estudio. Si se requiere evaluar los efectos a nivel de individuo, de una sustancia química en particular como plaguicidas, fertilizantes, herbicidas, residuos industriales, sustancias químicas nuevas, algún tipo de efluente contaminado, o incluso alguna sustancia de la que aún no se han evaluado sus posibles efectos, se recurre a procedimientos estandarizados llevados a cabo *in vitro* en un laboratorio especializado, llamados bioensayos o pruebas de toxicidad (Díaz-Báez et al. 2004). Para ello se utilizan organismos de prueba, de los que se tiene muy buen conocimiento sobre su ciclo biológico y posibles respuestas ante cambios en su medio. En estas pruebas los organismos se exponen a distintas concentraciones de una o varias sustancias potencialmente tóxicas. Las

respuestas medibles se determinan a nivel de individuo, y pueden ser: muerte/supervivencia, inhibición/promoción del crecimiento, cambios morfológicos, fisiológicos, histológicos o de comportamiento (Castillo-Morales 2004). Los resultados de los bioensayos tienen limitaciones al extrapolar, ya que al valerse solamente de una o de algunas especies, las predicciones o extrapolaciones en el medio natural a nivel de poblaciones y comunidades acuáticas pueden cambiar, debido al sinnúmero de condiciones ambientales y de interacciones con el resto de los organismos que integran la comunidad (Castillo-Morales 2004). Evitando la necesidad de extrapolar a las condiciones naturales, también se utilizan las técnicas de bioevaluación *in situ* llamadas biomonitoreos, para los que a través de muestreos periódicos en el sitio a evaluar, se determinan los efectos de las perturbaciones sobre organismos acuáticos capaces de responder a éstas, llamados bioindicadores. Comúnmente se utilizan peces, algas o macroinvertebrados acuáticos. La selección del grupo de bioindicadores depende de las características del lugar y de los objetivos del biomonitoreo (Resh 2008). Los macroinvertebrados son actualmente los más utilizados (Springer 2010), y en Estados Unidos se usan en los programas de biomonitoreo en todos los estados (Resh 2008). La US EPA sugiere el uso de múltiples grupos (Barbour et al. 1999). Las respuestas de los macroinvertebrados se pueden medir a través de varios enfoques, entre los que se encuentran los ampliamente utilizados índices bióticos, que asignan un valor numérico a grupos taxonómicos basados en la tolerancia a la contaminación y perturbación del hábitat (Cairns y Pratt 1993). Otro enfoque es el que se basa en la determinación de métricas de los ensamblajes de macroinvertebrados. Las métricas son medidas que representan algunos aspectos de la estructura, composición y función biológica de los ensamblajes de macroinvertebrados acuáticos, que cambian al incrementarse el impacto humano (Barbour 2000). Las métricas se pueden agrupar en las siguientes categorías: a) riqueza y composición de taxa, b) grado de tolerancia a la contaminación, c) ecología alimentaria y d) atributos poblacionales. Una vez obtenidas las métricas se eligen las que mejor reflejan las respuestas predichas, pudiendo así relacionar la causa de la alteración del ecosistema y su efecto biológico.

Estacionalidad

Los macroinvertebrados son sensibles a las variaciones de algunas características de su hábitat, tales como el tipo de sustrato disponible en el medio acuático (Buss et al. 2004), el ancho de la vegetación ribereña (Rios y Bailey 2006), la temperatura del agua (Haidekker y Hering 2008), el flujo de corriente y el caudal (Lytle et al. 2008). Principalmente estos últimos tres factores pueden variar estacionalmente, y en consecuencia también modifica la composición de los ensamblajes de macroinvertebrados, donde aquellos sensibles a estas variaciones responden fenológicamente a los cambios estacionales de su medio (Dallas, 2002). Debido a la estacionalidad del hábitat y de los organismos acuáticos, la Environmental Protection Agency de EUA (US EPA) recomienda que, dependiendo del objetivo del biomonitoring, éste se desarrolle en distintas estaciones a lo largo del año (si se requiere incluir la variabilidad estacional), o bien, se utilicen los datos de una estación en particular.

Resolución taxonómica

La resolución taxonómica se refiere al nivel taxonómico en el que se identifican los macroinvertebrados para poder determinar sus respuestas ante perturbaciones en el ambiente. En algunos estudios, la identificación de los macroinvertebrados a nivel de especie y género ha podido distinguir gradientes de alteración en el hábitat, en comparación con algún sitio de referencia en condiciones naturales o las menos alteradas, mientras que a menor resolución taxonómica, por ejemplo a nivel de familia, se pueden detectar las diferencias más contrastantes entre distintos tipos de alteración del medio (Guerold 2000; Hawkins et al. 2000). Sin embargo, otros estudios han encontrado que las diferencias que se detectan a nivel de familia son similares a las diferencias que se pueden detectar a nivel de género o especie (Chessman 1995, Marshall et al. 2006; Chessman et al. 2007; Buss y Vitorino 2010), lo cual se debe a qué tantos y cuales factores ambientales se analizan, así como la escala con la que se estén observando las causas y efectos (Chessman et al. 2007).

Esta inconsistencia en los resultados al utilizar el nivel de especie, género o familia para la evaluación del estado ecológico de los ecosistemas dulceacuícolas, ha permitido la amplia utilización de protocolos de biomonitordeo a estos tres niveles. Un impedimento que se tiene para la identificación a nivel de especie para los macroinvertebrados acuáticos particularmente de zonas tropicales (Prat et al. 2009), es que no se cuenta con suficiente información taxonómica (claves taxonómicas) a este nivel para todos los grupos de macroinvertebrados acuáticos. Los protocolos de biomonitordeo rápido (RBP; Rapid Bioassessment Protocols) sugeridos por la EPA, y que se aplican ampliamente en EUA, sugieren la resolución taxonómica a nivel de familia con el objetivo de reducir tiempos, esfuerzo y costos en la examinación de las muestras y obtención de resultados (Resh y Jackson 1993). Por lo tanto, éste nivel de identificación taxonómica es apropiado para aplicar en México y en la región de estudio, donde no se cuenta con suficientes estudios taxonómicos de los macroinvertebrados acuáticos.

Antecedentes

En nuestro país se comenzó a incorporar técnicas de biomonitordeo para la evaluación de la calidad del agua en la Red Nacional de Monitoreo desde 1998 (Saldaña et al. 1998; Huerto et al. 2005). De manera oficial para monitorear las estaciones hidrológicas nacionales, CONAGUA actualmente utiliza indicadores químicos y microbiológicos, y sólo en pocos laboratorios se incluyen los macroinvertebrados y ensayos de toxicidad con *Daphnia* sp. (Crustacea: Daphniidae) (CONAGUA 2008). México cuenta con alrededor de 34 especialistas en ecotoxicología y durante los últimos años han adaptado y desarrollado pruebas de toxicidad para las especies y necesidades particulares del país (UAM-INE 2005; Ramírez-Romero y Mendoza-Cantú 2008). Por otra parte, aunque todavía son pocos los estudios en los que se han utilizado a los macroinvertebrados como bioindicadores, el número de estudios se ha incrementado durante la última década (Mathuriau et al. 2012). En la cuenca del río La Antigua solamente se tiene como antecedente el trabajo de Saldaña-Fabela et al. (1998, 2001), en el que utilizaron macroinvertebrados acuáticos para determinar la calidad del agua del río Pescados. En los últimos años SEMARNAT ha

estado desarrollando las posibilidades para la incorporación de las técnicas de biomonitorio en la legislación ambiental (Mendoza-Cantú et al. 2007; Mathuriau et al. 2012), y se han diseñado protocolos para evaluar y monitorear los ecosistemas acuáticos de forma integral (Pérez-Munguía et al. 2006; Mathuriau et al. 2012).

Planteamiento de la tesis

En este trabajo se estudiaron los efectos de diferentes usos de suelo en la cuenca alta del río La Antigua sobre el hábitat ribereño y del cauce, la fisicoquímica del agua y los macroinvertebrados acuáticos, durante el estiaje y la estación de lluvias, utilizando diferentes métodos de bioevaluación y resolución taxonómica. A nivel de especie se utilizó como organismo de prueba al cladócero *Ceriodaphnia dubia* (bioensayos, Capítulo 2), a nivel de ensamblajes de macroinvertebrados (biomonitorio) se utilizó una resolución taxonómica a nivel de especie, en particular para el Orden Odonata (Capítulo 3), y a nivel de familia para todos los insectos acuáticos (Capítulo 4). Las hipótesis y predicciones planteadas para cada caso son:

- a) El manejo de los diferentes usos de suelo altera la calidad del agua de los arroyos. La calidad del agua es mejor en arroyos de microcuenca de bosque mesófilo y es más alterada en arroyos urbanos (Capítulo 2, 3 y 4).
- b) Los diferentes usos de suelo, a través de la calidad del agua de los arroyos, modifican la fecundidad de *Ceriodaphnia dubia*, misma que es mayor en muestras de agua de arroyos de bosque mesófilo y menor en muestras de agua de arroyos urbanos. Durante la temporada de lluvias ocurre una dilución de los solutos en el agua. La reducción de la fecundidad, como resultado de la alteración de la calidad del agua, es menor que en el estiaje, sobre todo en los arroyos más alterados químicamente (Capítulo 2).
- c) Las condiciones del hábitat reflejan un mayor estado de conservación en los arroyos de bosque con respecto a los arroyos de microcuenca con diferente uso de suelo (capítulo 3 y 4).
- d) El grado de alteración del hábitat y de la calidad del agua se relaciona con la presencia y abundancia de las especies de odonatos. Se espera encontrar especies sensibles a

alteraciones en el hábitat y en la calidad del agua en arroyos de bosque mesófilo, y una disminución de éstas y un aumento de especies tolerantes a cambios en su medio en el resto de los arroyos, particularmente en los arroyos urbanos. Debido a la dilución de solutos en la temporada de lluvias, las diferencias de los ensamblajes de odonatos con respecto a los arroyos de bosque mesófilo se reducen en la estación de lluvias, sobre todo en los arroyos más alterados químicamente (Capítulo 3).

e) El grado de alteración del hábitat y de la calidad del agua se relaciona con la presencia y abundancia de los macroinvertebrados acuáticos. En comparación con arroyos de bosque mesófilo, se espera encontrar una reducción de la riqueza de taxa de macroinvertebrados acuáticos, el aumento de taxa tolerantes y la disminución de taxa sensibles a alteraciones de su medio en arroyos que fluyen en microcuencas con diferente uso de suelo, sobre todo en arroyos urbanos (Capítulo 4).

Literatura citada

- Baker, D. W., C. A. Pomeroy, W. K. Annable, J. G. McBroom, J. S. Schwartz y J. Gracie. 2008. Evaluating the Effects of Urbanization on Stream Flow and Channel Stability — State of Practice. *World Environmental and Water Resources Congress*.
Permalink:[http://dx.doi.org/10.1061/40976\(316\)339](http://dx.doi.org/10.1061/40976(316)339)
- Barbour, M.T., J. Gerritsen, B. D. Snyder y J. B. Stribling. 1999. *Rapid bioassessment protocols for use in streams and wadeable rivers: periphyton, benthic macroinvertebrates and fish*, 2a ed. EPA 841-B-99-002. U.S. Environmental Protection Agency; Office of Water; Washington, D.C.
- Bengeyfield, P. 2007. Quantifying the effects of livestock grazing on suspended sediment and stream morphology. Advancing the Fundamental Sciences: *Proceedings of the Forest Service National Earth Sciences Conference, San Diego, California*, 18-22 October 2004, PNW GTR-689, Portland, OR: U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Pacific Northwest Research Station.
- Benstead, J. P. y C. M. Pringle. 2004. Deforestation alters the resource base and biomass of endemic stream insects in eastern Madagascar. *Freshwater Biology*, 49: 490-501.
- Booth, D. B., y C. R. Jackson. 1997. Urbanization of aquatic systems: degradation thresholds, storm water detection, and the limits of mitigation. *Journal of American Water Resources Association*, 33: 1077–1090.
- Bruijnzeel, L. A. 2004. Hydrological functions of tropical forests: not seeing the soil for the trees? *Agriculture, Ecosystems and Environment* 104: 185–228.
- Buss, D. F., D. F. Baptista, J. L. Nessimian, y M. Egler. 2004. Substrate specificity, environmental degradation and disturbance structuring macroinvertebrate assemblages in neotropical streams. *Hydrobiologia* 518: 179–188.
- Buss, D. F. y A. S. Vitorino. 2010. Rapid Bioassessment Protocols using benthic macroinvertebrates in Brazil: evaluation of taxonomic sufficiency. *Journal of the North American Benthological Society* 29: 562–571.
- Cairns, J. Jr. y J. R. Pratt. 1993. A history of biological monitoring using benthic macroinvertebrates, pp. 10-27. En: D. M. Rosenberg y V. H. Resh (Eds.),

Freshwater biomonitoring and benthic macroinvertebrates. Chapman and Hall, New York.

Castillo-Morales, G. (Ed.). 2004. *Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones.* IDRC-IMTA, México. Disponible en: www.idrc.ca/en/ev-66572-201-1-DO_TOPIC.html.

Challenger, A. 1998. La zona ecológica templada húmeda (el bosque mesófilo de montaña), pp. 443–518. En: *Utilización y conservación de los ecosistemas terrestres de México, pasado, presente y futuro.* CONABIO, México.

Chapman, C. A. y L. J. Chapman. 2003. Deforestation in tropical Africa: impacts on aquatic ecosystems, pp. 229–246. En: T. L. Crisman, L. J. Chapman, C. A. Chapman y L. S. Kaufman. *Conservation, ecology and management of african freshwaters,* University Press of Florida, Gainesville.

Chessman, B. C. 1995. Rapid assessment of rivers using macroinvertebrates: A procedure based on habitat-specific sampling, family level identification and a biotic index. *Australian Journal of Ecology* 20:122–129.

Chessman, B. C., S. Williams y C. Besley. 2007. Bioassessment of streams with macroinvertebrates: effect of sampled habitat and taxonomic resolution. *Journal of the North American Benthological Society* 26: 546–565.

Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). 2010. *El Bosque mesófilo de montaña en México: Amenazas y oportunidades para su conservación y manejo sostenible.* CONABIO, México D.F.

CONAGUA. 2008. *Programa anual de trabajo para la medición de calidad del agua.* Subdirección General Técnica Gerencia de Calidad del Agua, Comisión Nacional del Agua, México.

Couceiro, S., N. Hamada, S. Luz, B. Forsberg y T. Pimentel. 2006. Deforestation and sewage effects on aquatic macroinvertebrates in urban streams in Manaus, Amazonas, Brazil. *Hydrobiologia* 575: 271–284.

- Diana, M., J. D. Allan y D. Infante. 2006. The influence of physical habitat and land use on stream fish assemblages in southeastern Michigan, *American Fisheries Society Symposium* 48: 359–374.
- Díaz-Báez, M. C., M. C. Bustos-López y A. J. Espinosa-Ramírez. 2004. *Pruebas de toxicidad: Fundamentos y métodos*. Bogotá, Colombia.
- González-Espinosa, M., J. A. Meave, N. Ramírez-Marcial, T. Toledo-Aceves, F. G. Lorea-Hernández y G. Ibarra-Manríquez. 2012. Los bosques de niebla de México: conservación y restauración de su componente arbóreo. *Ecosistemas* 2: 36–52.
- Guadarrama-Zugasti, C. 2000. *The transformation of coffee farming in Central Veracruz, Mexico: sustainable strategies?* Ph.D. Thesis, University of California, Santa Cruz, USA.
- Guerold, F. 2000. Influence of taxonomic determination level on several community indices. *Water Research* 34:487–492.
- Haidekker, A. y D. Hering. 2008. Relationship between benthic insects (Ephemeroptera, Plecoptera, Coleoptera, Trichoptera) and temperature in small and medium-sized streams in Germany: A multivariate study. *Aquatic Ecology* 42:463–481.
- Hamilton, L. S., J. O. Juvik y F. N. Scatena (Eds.). 1995. *Tropical montane cloud forests*. Ecological Studies 110. Springer Verlag, New York.
- Hubbard, R. K., G. L. Newton y G. M. Hill. 2004. Water quality and the grazing animal. *Journal of Animal Science* 82: 55–263.
- Huerto, R., P. Alonso-Eguía, B. Brug y P. Maya. 2005. *Monitoreo biológico de la calidad del agua en ríos caudalosos: Amacuzac y Balsas*. Anuario IMTA, México.
- Lytle, D. A., M. T. Bogan y D. S. Finn. 2008. Evolution of aquatic insect behaviours across a gradient of disturbance predictability. *Proceedings of the Royal Society - Biological Sciences*. 275: 453–462.
- Marshall, J. C., A. L. Steward y B. D. Harch. 2006. Taxonomic resolution and quantification of freshwater macroinvertebrate samples from an Australian dry land river: the benefits and costs of using species abundance data. *Hydrobiologia* 572:171–194.

- Martínez, M. I. y M. Cruz. 2009. El uso de químicos veterinarios y agrícolas en la zona ganadera de Xico, Centro de Veracruz, México y el posible impacto ambiental. *Acta Zoológica Mexicana* 25: 673–681.
- Mathuriau, C., N. Mercado-Silva, J. Lyons y L. M. Martínez Rivera. 2012. Fish and macroinvertebrates as freshwater ecosystem bioindicators in Mexico: Current state and perspectives, pp. 251–261. En: *Water resources in Mexico, scarcity, degradation, stress, conflicts, management, and policy*. Springer, Berlín.
- Mendoza-Cantú, A., P. Ramírez-Romero y Y. Pica-Granados. 2007. Environmental legislation and aquatic ecotoxicology in Mexico: Past, present and future scenarios. *Journal of Environmental Science & Health Part A* 42: 1343–1348.
- Meyer, W. B. y B. L. Turner. 1994. *Changes in land use and land cover: A global perspective*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Muñoz-Villers, L. E. y J. López-Blanco. 2008. Land use/cover changes using Landsat TM/ETM images in a tropical and biodiverse mountainous area of central-eastern Mexico. *International Journal of Remote Sensing* 29: 71–93.
- Pérez-Munguía, R., M. M. Madrigal-Pedraza, R. M. Ortiz-Muñoz, V. M. Ramírez-Melchor, U.Torres-Garcías y M. A. Piñón-Flores. 2006. Análisis comparativo del índice de integridad biótica con base en las asociaciones de macroinvertebrados acuáticos (IIBAMA) con el índice biológico global normalizado (IBGN) en arroyos y ríos del estado de Michoacán, pp. 375–380. En: E. Estrada-Venegas, J. Romero-Nápoles, A. Equihua-Martínez, C. Luna-León y J. L. Rosas-Acevedo (Eds.). *Entomología Mexicana*.
- Prat, N., B. Ríos, R. Acosta y M. Rieradevall. 2009. Los macroinvertebrados como indicadores de calidad de las aguas, pp. 631–654. En: E. Domínguez y H.R. Fernández (Eds.). *Macroinvertebrados Bentónicos Sudamericanos, Sistemática y Biología*. Fundación Miguel Lillo. San Miguel de Tucumán, Argentina.
- Ramírez-Romero, P. y A. Mendoza-Cantú (compiladoras). 2008. *Ensayos toxicológicos para la evaluación de sustancias químicas en agua y suelo. La experiencia en México*. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT), México.

- Resh, V. H. 2008. Which group is best? Attributes of different biological assemblages used in freshwater biomonitoring programs. *Environmental Moniting and Assessment* 138: 131–138.
- Resh, V. H. y J. K. Jackson. 1993. Rapid assessment approaches to biomonitoring using benthic macroinvertebrates, pp. 195–233. En: D. M. Rosenberg y V. H. Resh (Eds.). *Freshwater biomonitoring and benthic macroinvertebrates*. Chapman and Hall, New York.
- Rios, S. L. y R. C. Bailey. 2006. Relationship between riparian vegetation and stream benthic communities at three spatial scales. *Hydrobiologia* 553:153–160.
- Ross, S. M., J. B. Thornes y S. Nortcliff. 1990. Soil hydrology, nutrient and erosional response to the clearance of terra firme forest, Maraca Island, Roraima, northern Brazil. *The Geographical Journal* 156: 267–282.
- Saldaña, F., L. Pilar, J. C. M. Sandoval, R. L. López y E. S. Sánchez. 2001. Utilización de un índice de diversidad para determinar la calidad del agua en sistemas lóticos. *Ingeniería Hidráulica en México*, 16: 57–66.
- Saldaña-Fabela, L., R. López., M. J. C. Sandoval y S. E. Salcedo. 1998. *Informe final estudio de indicadores biológicos en el Río Pescados, Veracruz*. Instituto Mexicano de Tecnología del Agua, Convenio CNA-SGT-IMTA, México.
- Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). 2012. Con información del Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera de la delegación de SAGARPA. Revisado el 5 de septiembre de 2012. Disponible en:
http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com_wrapper&view=wrapper&Itemid=194
- Springer, M. 2010. Biomonitoring acuático. Capítulo 3. *Revista de Biología Tropical* 58: 3–9.
- Thomsen P. F, J. Kielgast, L. L. Iversen, C. Wiuf, M. Rasmussen, M. T. Gilbert, L. Orlando y E. Willerslev. 2012. Monitoring endangered freshwater biodiversity using environmental DNA. *Molecular Ecology* 2: 2565–2573.

- UAM- INE. 2005. *Informe final: pruebas biológicas para la evaluación ecotoxicológica de sustancias químicas*. Universidad Autónoma Metropolitana, Iztapalapa e Instituto Nacional de Ecología. México, D.F., México.
- Walsh, C. J., A. H. Roy, J. W. Feminella, P. D. Cottingham, P. M. Groffman y M. P Morgan II. 2005. The urban stream syndrome: current knowledge and the search for a cure. *Journal of North American Benthological Society*, 24: 706–723.
- Williams-Linera, G. 2007. *El bosque de niebla del centro de Veracruz: ecología, historia y destino en tiempos de fragmentación y cambio climático*. Instituto de Ecología, A.C. CONABIO, México.

CAPÍTULO 2

Effects of land use on water quality and *Ceriodaphnia dubia* reproduction

Publicado en Hidrobiológica 2012, 22 (3): 230-243

Effects of land use on water quality and *Ceriodaphnia dubia* reproduction

Patricia L. García-García¹, Fernando Martínez-Jerónimo², Gabriela Vázquez¹, Mario E. Favila³ y Rodolfo Novelo-Gutiérrez⁴

¹Red de Ecología Funcional, Instituto de Ecología, A. C. Carretera Antigua a Coatepec 351, Congregación El Haya, Xalapa, Veracruz. 91070. México

² Laboratorio de Hidrobiología Experimental, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN, Carpio esq. Plan de Ayala s/n, Col. Sto. Tomás, D. F. 11340. México

³Red de Ecoetología, Instituto de Ecología, A. C. Carretera Antigua a Coatepec 351, Congregación El Haya, Xalapa, Veracruz. 91070. México

⁴ Red de Biodiversidad y Sistemática, Instituto de Ecología, A. C. Carretera Antigua a Coatepec 351, Congregación El Haya, Xalapa, Veracruz. 91070. México

e-mail: patricia.lucero.garcia2@gmail.com

ABSTRACT

This study evaluated the effect of water quality of streams from micro-watersheds with different land use (cloud forest, coffee plantation, pasture and under urban influence) during the dry and rainy seasons, lying within the upper watershed of the La Antigua river in Veracruz, Mexico. Water characteristics were measured and laboratory subchronic toxicity tests were performed to evaluate average accumulated progeny, broods per female, and non-reproductive females of *Ceriodaphnia dubia*. The cloud forest contained chemically undisturbed streams, while the lowest levels of chemical alteration were detected in pasture streams: low fecundity of *C. dubia* was observed in both types of streams. The most disturbed streams were those associated with coffee plantations and under urban influence, which resulted in enhanced *C. dubia* fecundity; however, the highest chemical disturbance, found in a stream with urban influence, led to reproduction suppression in the dry season. The most favorable conditions for reproduction were provided by nutrient and probably organic enrichment in streams associated with urban environments and coffee plantations, while in cloud forest and pasture streams, the natural, and close to natural water chemistry caused a reduction in fecundity. Female fecundity was higher during the rainy season.

Key words: Rural and urban streams, water quality, fecundity, toxicity test, Mexico.

Introduction

Land use changes can be the major factor in determining watershed water chemistry, affecting the habitat, water chemistry and aquatic biota (Allan & Castillo, 2007; Bücker *et al.*, 2010). Land use effects depend on the hydrological regime of the watercourses, which can vary seasonally, especially during dry and rainy seasons.

During the rainy season, if the riparian vegetation has been reduced and simplified, it is more likely for storm runoff to carry waste, agrochemicals, animal feces, and other chemical pollutants into the water channel, along with the increased stream discharge (Chapman, 1992), whereas during dry season pollutants may concentrate in a smaller discharge, resulting in concentrations that may exceed levels that pose a toxicity risk to aquatic organisms (Duke *et al.*, 1999).

The tropical montane cloud forest of Veracruz has been replaced, over recent decades, by coffee and sugar cane plantations, and cattle pasture (Muñoz-Villers & López-Blanco, 2007; Williams-Linera, 2007). Herbicides, fertilizers, and insecticides are widely used by coffee producers (Nestel, 1995; Guadarrama-Zugasti, 2000). When it rains, fertilizers leach or wash from crop soils into nearby waterways, releasing nutrients, while insecticides release toxic compounds.

The coffee plantation soils of the area are rich in phosphorus and potassium, as a consequence of fertilizer application and habitat transformation (Geissert & Ibañez, 2008). In the rainy season, soil can also be eroded leading to sedimentation of the watercourse, as reflected by the suspended solids in coffee plantation streams in the area (Martínez *et al.*, 2009; Vázquez *et al.*, 2011). Soil erosion causes leaching of suspended solids that contain organic matter (Bellanger *et al.*, 2004).

In pastures dedicated to livestock grazing, nitrogen and phosphorus increase in streams where there is no control of the disposal of animal manure to the stream channel, as is the case with the pastures in this study.

Urbanization is also increasing in the region, although it occupies less than 7% of the La Antigua river upper watershed area (Muñoz-Villers & López-Blanco, 2007). The urban areas of this study are not influenced by industry, but also do not feature a complete municipal sewage collection network necessary to prevent untreated household wastewaters

being discharged directly into the watercourses. This is the cause of increased loads of organic matter (wastes), nitrates (garden fertilizers), phosphates (fertilizers and detergents), suspended solids (wastes and runoff), chloride (bleach, urine, feces), ammonium and sulfate (urine and feces) (Tchobanoglous *et al.*, 1991; Chapman, 1992; Burks & Minnis, 1994; Kumar, 2002; Jonsson *et al.*, 2005).

Nutrient and organic compound enrichment caused by manure, fertilizers and sewage input into watercourses, can cause negative responses in crustacean cladoceran communities (in terms of species number, density, biomass, body length) (Yufeng *et al.*, 1998) while sometimes enhancing their reproduction (Nanazato & Yasuno, 1985; Kuhl *et al.*, 2010).

Laboratory toxicity tests under controlled conditions have been widely used to demonstrate the adverse effects of chemicals on aquatic biota (Adams, 2003). Certain taxa, known as surrogate organisms, have been selected for this purpose due to their particular sensitivity to environmental and chemical stressors (Niemi & McDonald, 2004). *Ceriodaphnia dubia* Richard 1894 (Crustacea: Branchiopoda: Cladocera) is widely used for toxicity tests in North America (Bazin *et al.*, 2009). The advantages of using this cladoceran lie in its importance as a link in aquatic food chains, short life cycle, low breeding costs, high sensitivity to toxic substances, and the low test water volume required to run bioassays (Bazin *et al.*, 2009). The species is considered representative of freshwater zooplankton; even though it is more common in lakes and ponds, it also inhabits the quiescent sections of streams and rivers (Kim & Joo, 2000), where the flowing water flushes out the zoo- and phytoplankton on which it feeds (Sa-ardrit & Beamish, 2005). As a filter-feeding species, it mainly feeds on phytoplankton, but can also ingest bacteria, protozoa, organic debris and other suspended particles (Monakov, 2003).

Large-scale ecotoxicological research on aquatic ecosystems has focused mainly on temperate countries (Lacher & Goldstein, 1997). In Mexico, although there is an increasing use of toxicity tests as a tool complementary to the commonly used physicochemical water quality assessments (Mendoza-Cantú *et al.*, 2007; Ramírez-Romero *et al.*, 2007), to our knowledge, these tests have not been used to determine the impact on aquatic life caused by land use activities in watercourses.

The aim of this study was to evaluate the effect of water quality of streams in micro-

watersheds of various land uses on the fecundity of *C. dubia*, during the dry and the rainy seasons. We tested the hypothesis that water from streams located in urban areas should cause a strong decrease in *C. dubia* fecundity, followed by coffee plantation stream water, and finally pasture stream water. Fecundity should be optimum in undisturbed cloud forest stream water. Regarding seasonality, we assumed that rain runoff would increase the concentration of nutrients in the streams, but also the increased stream discharge caused by the rains should produce a dilution effect on physicochemical indicators, leading to higher *C. dubia* reproduction relative to the dry season.

Materials and methods

Study area. We selected two streams for each of the four land uses in the upper watershed of the La Antigua river, located in the state of Veracruz, Mexico: tropical montane cloud forest, named cloud forest streams (F1, F2), cattle pastures, named pasture streams (P1, P2), coffee plantation streams (C1, C2), and streams with mixed land uses but greater urban influence, named urban influenced streams (U1, U2) (Fig. 1). These streams descend the eastern slope of the Cofre de Perote volcano, and supply water to the surrounding urban, agriculture and pasture areas. The streams range from first to third order in morphological hierarchy (Table 1). Elevation ranges from 1000 to 1600 masl. All of the sites feature humic andosols and are located in micro-watersheds with at least 50% of the area covered by the corresponding assigned land use. Urban streams were surrounded by a considerable area of coffee and sugar cane plantations (Table 1), but the water samples were collected in the urban area of influence. The climate in the region is characterized by three main seasons: a humid-cold season (featuring northerly cold fronts “*nortes*”, November-March), a dry season (April-June), and a rainy season (July-October) (Williams-Linera, 2007).

Water sampling. Water samples for bioassays and water quality assessment were collected in April (dry season) and October (rainy season) 2010. Sampling sites were selected where each land use was represented in the local riparian zone. For bioassays, 2 L of water were collected from the center of the stream channel and for water quality measurements, 4 L of water (2 from runs and 2 from pools in each stream) were collected for chemical

assessment. Samples were taken from each stream in sterilized polypropylene flasks – except for those to determine phosphorus, which were taken in 250 ml glass bottles – and then transported to the laboratory in coolers with ice to prevent microbial degradation and chemical transformation. Samples for water quality assessment were kept refrigerated for a maximum of 24 h before analysis (APHA, 1998). Samples for bioassays were kept in a freezer at -20 °C and defrosted one day prior to preparation of test solutions. As no volatile or semi-volatile toxic substances were expected, samples were frozen for better preservation of any chemical with potentially toxic effects.

Physical and chemical variables. Discharge (Q), depth and instantaneous velocity were measured through a transversal transect of each stream using a meter stick and a flow meter (Probe 101FP201). Discharge was calculated as $Q = Av$, where A is the transversal area and v is the flow ($\text{m}^3 \text{ s}^{-1}$) (Hauer & Lamberti, 1996). Temperature (T, °C), dissolved oxygen (O_2 , mg L⁻¹), and conductivity (Cond, $\mu\text{S cm}^{-1}$) were determined with a combination probe (YSI, Model 85). A potentiometer was used to determine pH *in situ* (Oakton, pH 11 series). We used the APHA methodologies to determine physicochemical variables in each stream (American Public Health Association, 1998). Total suspended solids (TSS, gravimetric method), total hardness (Hard, HACH titration method using EDTA), total alkalinity (Alk, phenolphthalein method), ammonium (NH_4^+ , Nessler method), nitrates and nitrites ($\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$, colorimetric method), total phosphorus (TP, persulfate digestion and colorimetry with the ascorbic acid method), chlorides (Cl^- , colorimetry), and sulfates (SO_4^{2-} , ion chromatography) were determined in the laboratory.

Toxicity tests. The test method used in this study was a subchronic toxicity assessment based on the short-term method of the U.S. Environmental Protection Agency (US EPA, 2002). For each test solution, we used ten *Ceriodaphnia dubia* female neonates (age < 24 h) obtained from controlled cultures of adult parthenogenetic females; these neonates were individually distributed in translucent 30 ml polystyrene cups. The green microalga *Pseudokirchneriella subcapitata* (Korshikov) Hindák was supplied as food during the bioassays at cell density of 1 million cells m L⁻¹, in accordance with the US EPA (2002). Cladocerans were kept in environmental chambers at 25 °C and with a 16:8 h photoperiod.

Thirty two test solutions were prepared as follows: two streams for each land use (cloud forest, pasture, coffee plantation, and urban influenced), and four water concentrations: 12.5, 25, 50 and 100%, to evaluate the effects on cladoceran reproduction. Organisms were examined every day for eight days and the neonates produced by each female were counted and then discarded.

Each solution and food was renewed every day. Toxicity assessments were conducted with water samples from the dry and rainy seasons.

Fecundity per female was measured considering the following dependent variables: average accumulated progeny released per female (named progeny), average number of broods (named broods), and number of non-reproductive females (measured as the proportion from the total females, and named non-reproductive females) during the entire test period (eight days).

The dilution water was reconstituted soft water (42 mg L^{-1} CaCO_3), since hardness analyses revealed that all of the streams had soft water (from 9 to 45 mg L^{-1} CaCO_3). Fifteen control females, raised on hard reconstituted water of $160\text{-}180 \text{ mg L}^{-1}$ CaCO_3 as suggested by US EPA guidelines, accompanied every series of tests, but were only used to validate the sensitivity of the *C. dubia* strain in use as the test organism, as our goal was to compare the types of streams in relation to the pristine cloud forest associated streams. Low water hardness can be a factor that affects *C. dubia* reproduction (Cowgill & Milazzo, 1991b; Harmon *et al.*, 2003; Lasier *et al.*, 2006); therefore, to evaluate a possible water hardness effect of dilution water on *C. dubia* reproduction (previously reared on hard water), we compared the cladoceran fecundity in the rainy season with previous toxicity assessment results using water samples obtained during the preceding rainy season (2009) and the same water test concentrations, where hard water was used as dilution water ($160\text{-}180 \text{ mg L}^{-1}$ CaCO_3) (unpublished data). General Linear Model (GLM) analyses, with Poisson's error, were conducted to compare fecundity of *C. dubia* females in hard and soft water at the different concentrations tested. Fecundity was the same regardless the hardness of dilution water (progeny: $G^2 = 2.8$, $p = 0.25$; broods: $G^2 = 0.5$, $p = 0.78$; G^2 = likelihood ratio Chi-square). We can thus be assured that the water hardness of dilutions in our experiments did not affect the *C. dubia* reproduction.

Statistical analysis. In order to determine differences between streams and seasons based on the water quality variables, we used principal component analysis (PCA) applying the Multi-Variate Statistical Package program (MVSP 3.1; Kovach, 1999). Logarithms were calculated for each variable (except pH). GLM were used to analyze the effect of the following independent variables on each of the fecundity dependent variables: land use (cloud forest, pasture, coffee plantation, and urban influenced), water concentration (12.5, 25, 50 and 100%) and seasons (dry and rainy). Water concentration was analyzed as a nested variable on each stream. We used a Poisson's distribution for the GLM analysis of progeny; the broods presented over-dispersion, so we used a quasi-Poisson distribution. For the "non-reproductive females" variable, we used an arcsine transformation and then conducted a nested ANOVA, as recommended by Crawley (2002) for certain types of proportions. Only the second-degree interactions of the independent variables were tested. Akaike Information Criteria (AIC) was used to obtain the optimal model. The best-supported model has the lowest AIC compared to other models (Crawley, 2002). However, analysis of deviance was used to obtain the optimal model for progeny. Statistical analyses were carried out using R 2.9.0 software (R development Core Team, 2006).

Results

Water quality. Table 2 presents the average values of the physicochemical variables of water from each stream from April (dry season) and October (rainy season), separately. In this study, the cloud forest streams showed the coolest temperatures and highest oxygen values (Table 2). In addition, F1 had the lowest total alkalinity. P1 showed higher values of temperature, conductivity, total hardness, total alkalinity, and ammonium than P2, but not as high as those observed in the coffee plantation and urban influenced streams; only total alkalinity was very similar. P2 showed total phosphorus as high as U1, but presented the lowest conductivity, total hardness, and ammonium, together with the cloud forest streams. P2 was thus as undisturbed as the cloud forest streams, but P1 was moderately altered. Stream U1 presented among the highest values of total suspended solids, ammonium, and total phosphorus. Along with U2, the stream C1 had the highest values of conductivity and

total hardness. Both coffee plantation streams had the highest discharge and the highest nitrite and nitrate concentrations. Coffee plantation and urban influenced streams contained at least twice the amount of total suspended solids of the other streams. The urban stream U2 had the highest average values of more numbers of variables; conductivity, total suspended solids, ammonium, total phosphorus, chloride, and sulfate, but presented the lowest oxygen concentration of all the streams.

Based on the physicochemical variables measured with separated seasonal values, the PCA (Fig. 2) shows a relationship between stream condition and season. Axis 1 explains 55.6% of the variance and suggests a disturbance gradient in the streams. Both cloud forest streams were associated with the highest concentrations of DO (negative scores in axis 1), while pasture streams were not associated with any particular variable. Meanwhile, coffee plantation streams were related to the highest values of conductivity and hardness, and U2 had the highest concentrations of chloride, sulfate and ammonium (positive scores). Axis 2 explained 23.1% of the variance and was associated with an eutrophication gradient. Coffee plantation streams showed high concentrations of $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$, alkalinity, and pH (positive scores) and U2 showed the highest concentrations of total phosphorus (negative scores).

The remaining parameters presented lower values. April scores were always located to the right of the PCA, and October ones to the left. Thus, half of the water quality parameters tended to be lower during the dry than during the rainy season, and this was positively related to the discharge found for each stream and season. However, suspended solids, alkalinity, nitrates and nitrites and pH all lacked this tendency. Dissolved oxygen and phosphorus were higher in the rainy season than in the dry season (Table 2).

Discharge tended to be greater during the rainy than during the dry season, except for urban influenced streams: U1 presented higher discharge during the dry season, and U2 presented the same discharge in both seasons. During the dry season, U1 had the highest discharge followed by C2 and forest streams. Pasture streams, C1, and U2 had the lowest discharges. In the rainy season, coffee plantation streams clearly showed the highest discharge, while U2 presented the lowest discharge of all the streams during this season (Fig. 3).

Toxicity tests. Test acceptability criteria were met, according to the US EPA guidelines (US EPA, 2002), since 93% of the control cladocerans survived (14 out of 15), and mean number of offspring was more than 15 neonates per female ($\bar{x}_{\text{April}} = 16.9 \pm 0.9$; $\bar{x}_{\text{October}} = 22.3 \pm 1.1$). Routine parameters of test solutions were controlled, and fluctuated as follows: Oxygen (mg L⁻¹): Average = 4.27, Min = 3.9, Max = 5.42; pH: Average = 8.01, Min = 6.07, Max = 8.75; Conductivity (μS cm⁻¹): Average = 140.02, Min = 40.7, Max = 543; and Salinity (ups): Average = 0.09, Min = 0, Max = 0.3.

The minimal model for the reproduction variables (progeny and broods) showed that land use, season, the interaction between these two factors, and between land use and dilutions, significantly influenced fecundity (Table 3). There were more progeny for urban influenced streams, followed by coffee plantation streams than for pasture and cloud forest streams (Fig. 4a). There were significantly more progeny during the rainy season than during the dry season (Fig. 4b). The land use-season interaction showed that progeny increased with stream alteration gradient during the dry season (Fig. 4c). During the rainy season there was a similar pattern, but in coffee plantation streams progeny increased significantly, and was lowest in pasture streams. However, with natural water (100% concentration) of U2 in the dry season, *C. dubia* reproduction was inhibited in all the test females. In general, for all the water concentrations the pattern of progeny was similar to that showed in all land uses (Fig. 4d). Only in the cloud forest and pasture streams at 100% concentration, there was significantly less progeny relative to the other concentrations (Fig. 4d).

Regarding the “broods” variable, *C. dubia* had less broods in cloud forest and pasture streams than in coffee plantation and urban streams (Fig. 5a). Number of broods was significantly higher in the rainy than in the dry season (Fig. 5b). In a similar pattern to that observed in progeny, the number of broods from cloud forest streams increased significantly in the dry season, but in the rainy season broods increased significantly in cloud forest streams, and was lowest in pasture streams (Fig. 5c). Only in 100% of water concentration of the coffee plantation, pasture and urban influenced streams was the number of broods of *C. dubia* significantly lower relative to the other water concentrations (Fig. 5d).

Season had influence on the number of non-reproductive females ($p = 0.01$): there were more in the dry than in the rainy season (Dry = 15.9%, Rainy = 8.6% of the total number of females). Moreover, in the rainy season, at least one female reproduced in each test solution.

Discussion

In this study, cloud forest streams were the most oxygenated, and had the coolest temperatures and lowest values of physicochemical variables. This agrees with the results obtained by Martínez *et al.* (2009) and Vázquez *et al.* (2011), suggesting that the cloud forest streams studied herein are a good representation of an undisturbed ecosystem. Also, cloud forest streams had the lowest conductivity, hardness, and alkalinity concentrations, together with one of the pasture streams. Several studies at the La Antigua upper watershed have found that the streams and rivers of this region have similar chemical characteristics (Astudillo-Aldana, 2009; Cortés-Soto, 2010; Vázquez *et al.*, 2011).

A 1 m wide vegetated buffer can significantly reduce concentrations of fecal coliform bacteria from cow manure in runoff (Sullivan *et al.*, 2007). Local cattle producers leave some trees along the riverside (first author pers. obs.) and do not treat their pastures (they do not apply chemical fertilizers or manure for pasture fertilization, and avoid the burning treatment to enhance pasture growth: local cattle farmers, pers. com). This practice probably helps to maintain the chemistry of the streams closer to that of natural conditions. However, total phosphorus was high for one of the pasture streams compared to the cloud forest and coffee plantation streams. This could be due to the presence of cow manure near the stream channel (first author pers. obs.) as a result of the free access of livestock to the stream for drinking water (no other source of drinking water was present on the fields). On the other hand, phosphorus is released from cattle manure trough runoff mostly during the rainy season (Sharpley *et al.*, 1998; Soupir *et al.*, 2006). In fact, we found that for both pasture streams, TP was greater during the rainy season than during the dry season ($P1_{April} = 0.03$, $P1_{October} = 0.2$; $P2_{April} = 0.02$, $P2_{October} = 0.8$).

Coffee plantation streams showed the highest concentrations of nutrients, almost certainly a result of fertilizer use (Nestel, 1995; Guadarrama-Zugasti, 2000), and one of these streams also showed high values of conductivity, total suspended solids, total hardness and total alkalinity. At the La Antigua upper watershed, Martínez *et al.* (2009) and Vázquez *et al.* (2011) also found that suspended solids, conductivity and nutrients were higher in coffee plantation than in pasture streams, whereas cloud forest streams had the lowest values. This occurs because riparian forests and grasslands can delay or prevent nutrient transport from nearby areas to streams (Osborne & Kovacic, 1993), since the understory vegetation retains the soil runoff.

As we hypothesized, the urban influenced streams studied presented the highest values for several physicochemical variables, but U2 in particular was the most chemically altered stream, reaching the highest values of the water quality measurements such as total suspended solids, ammonium, chloride, sulfate, and the lowest oxygen concentration. These variables are indicators of chemical alterations caused by the input of domestic wastewaters (Tchobanoglous *et al.*, 1991; Burks & Minnis, 1994; USGS, 1999; Kumar, 2002; Jonsson *et al.*, 2005).

A significant proportion of land use at both mixed micro-watersheds (U1 and U2) is coffee and sugar cane plantations, where the use of pesticides is frequent (Nestel, 1995; Guadarrama-Zugasti, 2000); however, the sampling sites were also directly influenced by domestic wastewaters, since both streams cross an urban area of influence from 0.6 to 1 km upstream from the sampling site. In this area, sewage collection is either non-existent or inefficient at best (first author pers. obs.). In short, cloud forest streams represent the natural condition of the streams, the stream least altered from this condition was P2, and the most altered was U2. The rest were moderately disturbed.

In relation to water quality parameters and season, non-seasonal changes in levels of nitrates and nitrites could be a result of pesticide application by coffee producers (against the coffee berry borer) and fertilizers in the studied areas in early April and September 2010 (local coffee producers' pers. com.). Suspended solids would have had no apparent seasonal changes because sampling took place several days after the last rain, giving time for most of the sediment carried by runoff to precipitate. Nonetheless, total phosphorus also

showed higher concentrations in the rainy season in coffee plantation streams. This could be the result of fertilizers entering the channel via soil runoff. Other authors also report an increase of nutrients in rivers during the rainy season (Wang *et al.*, 2009).

Generally lower water quality parameters in the dry season could be positively related to the discharge levels found for each stream and season, which suggests dilution of contaminants takes place during the rainy season. However, the discharge was greater for U1 during the dry season, while for U2 discharge was the same in both seasons. This is evidence of a non-seasonal alteration in the urban influenced streams, as they depend on intermittent household discharges (Schiff & Tiefenthaler, 2003). Greater discharge took place in the coffee plantation streams, and is related to their third hierarchy order condition. However, even though these were the largest streams, their water quality was entirely related to the coffee plantations in the watersheds to which they belong. This water quality is characterized by higher concentrations of suspended solids and nitrates and nitrites (Vázquez *et al.*, 2011). Therefore, no other land use effect had enough influence on the water quality of these bigger streams.

Regarding the toxicity tests, and contrary to the original hypothesis, the results revealed that fecundity (progeny and number of broods) among land uses was lower for cloud forest and pasture streams than for coffee plantation and urban influenced streams (except for U2 during the dry season, with 100% concentration). These results can be related to the higher values of conductivity, ammonium, suspended solids, and lower dissolved oxygen of the coffee plantation and urban influenced streams which, as indirect indicators of organic matter, could have had benefits for cladoceran fecundity through the additional supply of food. This species is not a selective filter feeder (Monakov, 2003) and, in response to the increase of potentially assimilable organic particles (food augmentation), females could grow and reproduce better (Rose *et al.*, 2000).

C. dubia can also feed on bacteria (Anderson & Benke, 1994), other algae (Wylie & Currie, 1991), and particulate organic matter (Kirk, 1991); however, in addition to the supplied food (*P. subcapitata* microalgae), the cladocerans probably fed on other particles, such as organic matter present in suspended solids, as has been observed by other authors (Salonen & Hammar, 1986; Santos *et al.*, 2006). The females thus enhanced their fecundity,

particularly when grown in coffee plantation and urban stream samples, which had the highest values of suspended solids. In addition, coffee plantation streams showed the highest levels of nitrates and nitrites, while U2 had the highest levels of phosphorus; both N and P lead to a nutrient enriched medium that could also explain the cladoceran fecundity results. Kuhl *et al.* (2010) found that in some nutrient-enriched rural and urban Brazilian streams fecundity higher than that of the controls. In fact, *Ceriodaphnia* sp. has been found to be a useful bioindicator of watercourse eutrophication provoked by sewage discharges (Kumar, 2002).

In this study cloud forest and pasture streams, along with the lower levels of nutrients and possibly limited organic matter in comparison with coffee plantation and urban influenced streams, presented very low water hardness (from 8 to 22 mg L⁻¹ CaCO₃) and, since calcium ion is essential for the composition of the crustacean exoskeleton (Greenaway, 1985), calcium deficiency could have prevented exoskeleton formation during molting, and therefore, reproduction.

While the use of herbicides, fertilizers, and insecticides is widespread by coffee producers in the region (Nestel, 1995; Guadarrama-Zugasti, 2000), the overall impact of fertilizers and pesticides applied to coffee crops did not lead to lower fecundity of *C. dubia*. Coffee producers used pesticides and fertilizers in the watersheds of the streams studied in early April and September 2010, during the rainy season but a couple of weeks before the water was sampled for toxicity tests. During rainy periods, relatively high concentrations of pesticides in the streams would be present only for a short period of time (first-flush), after which a rapid decrease in concentration takes place (Cooman *et al.*, 2005). Hall (1993) compared *C. dubia* reproduction between first-flush periods and post first-flush periods during the rainy season, and found that reproduction decreased during the first-flush, but increased during the post-flush; he suspected that this was the effect of organic pesticides contained in the effluent from a wastewater treatment plant. Gersberg *et al.* (2004) found peak toxicity values within the first 1-2 h after initiation of rain events, and suggested that non-polar organic compounds could be responsible for such toxicity. Both previous studies suggest that it is possible that no toxicity was found for *C. dubia* in coffee plantation stream waters, even when pesticides were used before sampling. This is because the first flush

events, containing the peak in pesticides caused by runoff, were missed when water was sampled.

Fecundity was significantly higher (more progeny, more broods, and more reproductive females) during the rainy than during the dry season, probably due to the generally higher water quality and discharge in the streams during the rainy season. In addition, when chemical alteration reached its highest levels (U2 100% concentration, in the dry season) reproduction was inhibited in *C. dubia*. Obtaining results similar to ours, Vitale (2007) documented greater toxicity for *C. dubia* during the dry than during the rainy season, but related it to greater hardness and total dissolved solids ($1,429 \text{ mg L}^{-1}$) during the dry season.

Consistent with the Mexican guidelines (CE-CCA, 1989; CONAGUA, 2008), which shows the maximum levels of several water quality parameters for the protection of aquatic life in freshwater ecosystems; DO for U2 in the dry season was lower than the minimum level (5 mg L^{-1}); TSS maximum level ($20\text{-}30 \text{ mg L}^{-1}$) was exceeded by the coffee plantation and urban influenced streams; NH₄ (0.06 mg L^{-1}) was exceeded by the F2, P1, coffee plantation and urban influenced streams; TP (0.05 mg L^{-1}) was surpassed by the C1, cloud forest, pasture and urban influenced streams; and sulfate was exceeded in all the streams (0.005 mg L^{-1}). There are no Mexican criteria available for conductivity, hardness, alkalinity, nitrates and nitrites for aquatic life protection, and the other parameters were not exceeded in any stream. The maximum level of ammonia was surpassed to the greatest extent by U2 in the dry season, when no *C. dubia* reproduction was recorded. Nimmo *et al.* (1989) reported a 48-h LC50 value of $> 1.43 \text{ mg L}^{-1}$ un-ionized ammonia, while Cowgill & Milazzo (1991a) found a 48-h LC50 of 9 mg L^{-1} total ammonia and Andersen & Buckley (1998) reported a 48-h LC50 of 1.18 mg L^{-1} of un-ionized ammonia: these three studies used survival as the endpoint of *C. dubia* toxicity effects. Our data showed a maximum average concentration of 13.8 mg L^{-1} of ammonium ($\pm 0.3 \text{ s.e.}$) for U2, but once converted to the un-ionized form (0.36 mg L^{-1}) it is lower than the toxic concentration found in these surveys.

Toxic conductivity levels for freshwater fauna are considered above $500 \mu\text{S cm}^{-1}$ (Pond *et al.*, 2008), but the highest average in U2 was $317.12 \mu\text{S cm}^{-1}$ ($\pm 0.89 \text{ s.e.}$), so it is possible

that this variable did not affect reproduction of *C. dubia*. Conductivity greater than 1000 $\mu\text{S cm}^{-1}$ is negatively related with *C. dubia* reproduction (Mitchelmore, 2010), and a significant decrease in the richness and abundance of riverine macroinvertebrate taxa has been found with conductivity above 500 $\mu\text{S cm}^{-1}$ (Kefford *et al.*, 2006; Pond *et al.*, 2008; Pond, 2010). Furthermore, conductivity can be correlated with sulfate values (Bryant *et al.*, 2002; WVDEP, 2008). Sulfate values higher than 100 mg L^{-1} are considered toxic to freshwater fauna in British Columbia (Singleton, 2000), but this parameter was recorded at 50.3 mg L^{-1} (± 2.89 s.e.) in U2, and was therefore unlikely to be toxic for the test organism we used.

In the present study, the most favorable conditions for *C. dubia* reproduction were provided by nutrient and probably organic enrichment through sewage and organic sediments in urban and coffee plantation associated streams, while in the tropical montane cloud forest and pasture streams, the unpolluted and close to unpolluted water chemistry, along with natural soft waters, caused a reduction in fecundity, probably through the reduced availability of food particles, and a deficiency in ions necessary for growth. Thus, by using a test involving not only physicochemical parameters but also living organisms, the results show that chemical alterations can be positive for some aquatic organisms. Subchronic toxicity tests performed yielded useful information about the changes in physicochemical water parameters due to anthropic activity and the positive impacts of these water quality alterations on the secondary productivity of stream ecosystems. These positive impacts have a limit, however, at which an excess of organic matter will reduce water quality and impair the natural aquatic biota.

Acknowledgments

Supported by Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), through a doctoral grant No. 168443 to the first author and project 101542. We thank Laura Martínez-Jerónimo for laboratory bioassays, Ariadna Martínez Virués and Daniella Cela Cadena for their support in water analysis and José Antonio Gómez Anaya and Javier Tolome Romero for support in field sampling. Rosario Landgrave helped with GIS analysis. The comments

by two anonymous reviewers greatly improved the manuscript. Xochitl Ponce Wainer and Keith MacMillan revised the the English text.

References

- Adams, S. M. 2003. Establishing causality between environmental stressors and effects on aquatic ecosystems. *Human Ecology Risk Assessment* 19: 17–35.
- Allan, J. D. & M. M. Castillo. 2007. Human impacts. In: Allan, J. D. & M. M. Castillo (Eds.). *Stream ecology, structure and function of running waters*. 2nd ed. Springer, Dordrecht, pp. 317-357.
- APHA (American Public Health Association). 1998. *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 20th ed. APHA-AWWA-WEF. Washington D. C. 1220 p.
- Andersen, H. B. & J. A. Buckley. 1998. Acute toxicity of ammonia to *Ceriodaphnia dubia* and a procedure to improve control survival. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 61: 116-122.
- Anderson, D. H. & A. C. Benke. 1994. Growth and reproduction of the cladoceran *Ceriodaphnia dubia* from a forested floodplain swamp. *Limnology and Oceanography* 39: 1517-1527.
- Astudillo-Aldana, M. R. 2009. Diversidad filogenética de Odonata (Insecta) en el río Huehueyapan en Coatepec, Veracruz, México y su relación con factores físico-químicos. Master in Science thesis, Instituto de Ecología, A.C., Xalapa, Veracruz. 51 p.
- Bazin, C., P. Pandard, A. M. Charissou & Y. Barthel. 2009. *Ceriodaphnia dubia* chronic toxicity tests. In: Moser H. & J. Römbke (Eds.). *Ecotoxicological characterization of waste*. Part 2, Springer, New York, pp. 161–164.
- Bellanger, B., S. Huon, F. Velasquez, V. Vallès, C. Girardin & A. Mariotti. 2004. Monitoring soil organic carbon erosion with d13C and d15N on experimental field plots in the Venezuelan Andes. *CATENA* 58: 125-150.
- Bryant, G., S. Mcphilliamy & H. Childers. 2002. *A survey of the water quality of streams in the primary region of mountaintop / valley fill coal mining*. Mountaintop mining / valley fill programmatic environmental impact statement. Region 3, US Environmental Protection Agency (USEPA), Philadelphia, Pennsylvania. 65 p.

- Bücker, A., P. Crespo, H. G. Frede, K. Vaché, F. Cisneros & L. Breuer. 2010. Identifying controls on water chemistry of tropical cloud forest catchments: combining descriptive approaches and multivariate analysis. *Aquatic Geochemistry* 16: 127-149.
- Burks, B. D. & M. M. Minnis. 1994. *On site wastewater treatment systems*. Hogarth House, Madison, Wisconsin, 248 p.
- Chapman, D. 1992. *Water quality assessments. A guide to the use of biota, sediments and water in environmental monitoring*. UNESCO, WHO and UNEP. Chapman & Hall, London. 585 p.
- Cooman, K., P. Debels, M. Gajardo, R. Urrutia & R. Barra. 2005. Use of *Daphnia* spp. for the ecotoxicological assessment of water quality in an agricultural watershed in South-Central Chile. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 48: 191-200.
- Cortés-Soto, N. G. 2010. Diagnóstico de la calidad del agua del río Pixquiac en la congregación Zoncuantla, Municipio de Coatepec, Veracruz. Especialidad en diagnóstico y gestión ambiental. Facultad de Ingeniería Química. Universidad Veracruzana, Xalapa. 31 p.
- Cowgill, U. M. & D. P. Milazzo. 1991a. The response of the three brood *Ceriodaphnia* test to fifteen formulations and pure compounds in common use. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 21: 35-40.
- Cowgill, U. M. & D. P. Milazzo. 1991b. The sensitivity of two cladocerans to water quality variables: salinity <467 mg NaCl/L and hardness <200 mg CaCO₃/L. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 21: 218-223.
- Crawley, M. J. 2002. *Statistical computing: An introduction to data analysis using S-PLUS*. John Wiley & Sons, New York. 761 p.
- CONAGUA (Comisión Nacional del Agua). 2008. Ley federal de derechos. Disposiciones aplicables en materia de aguas. Diario Oficial de la Nación. 13 de Noviembre 2008. México D.F. 97 p.
- Criterios de Calidad del Agua de la Comisión Nacional del Agua. CE-CCA-001/89 Diario Oficial de la Nación 2 de diciembre de 1989.
- Duke, L. D., T. S. Lo & M. W. Turner. 1999. Chemical constituents in storm flow vs. dry weather discharges in California storm water conveyances. *Journal of the American Water Resources Association* 35: 821-836.

- Geissert, D. & A. Ibáñez. 2008. Calidad y ambiente físico-químico de los suelos, Chapter 15. In: Manson R. H., V. Hernández-Ortiz, S. Gallina, & K. Mehltreter (Eds.). *Agroecosistemas cafetaleros en Veracruz, biodiversidad, manejo y conservación*. Instituto de Ecología A.C. (INECOL) & Instituto Nacional de Ecología (INE-SEMARNAT), México, pp. 213-221.
- Gersberg, R. M., D. Daft & D. Yorkey. 2004. Temporal pattern of toxicity in runoff from the Tijuana River Watershed. *Water Resources* 38: 559-568.
- Greenaway, P. 1985. Calcium balance and moulting in the crustacean. *Biological Reviews* 60: 425-454.
- Guadarrama-Zugasti, C. 2000. The transformation of coffee farming in Central Veracruz, México: sustainable strategies? PhD Thesis, University of California, Santa Cruz. 187 p.
- Hall, D. B. 1993. Temporal and spatial comparisons of ambient toxicity of the Trinity River in relationship to an effluent. PhD Thesis. University of North Texas. University Microfilms International, Ann Arbor, Michigan, 326 p.
- Harmon, S. M., W. L. Specht & G. T. Chandler. 2003. A comparison of the daphnids *Ceriodaphnia dubia* and *Daphnia ambigua* for their utilization in routine toxicity testing in the southeastern United States. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 45: 79-85.
- Hauer, R. M. & G. L. Lamberti. 1996. *Methods in stream ecology*. Academic Press, Inc., San Diego, C.A. 739 p.
- Jonsson, H., A. Bak, U. Jeppsoon, D. Hellström, & E. Karrman. 2005. Composition of urine, faeces, greywater and biowaste for utilization in the URWARE model. Urban water report of the MISTRA Programme, Chalmers University of Technology, Gothenburg, Sweden. 45 p.
- Kefford, B. J., D. Nugegoda, L. Metzeling & E. J. Fields. 2006. Validating species sensitivity distributions using salinity tolerance of riverine macroinvertebrates in the southern Murray-Darling Basin (Victoria, Australia). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 63: 1865-1877.

- Kim, H. & G. Joo. 2000. The longitudinal distribution and community dynamics of zooplankton in a regulated large river: a case study of the Nakdong river (Korea). *Hydrobiologia* 438: 171-184.
- Kirk, K. L. 1991. Inorganic particles alter competition in grazing plankton: The role of selective feeding. *Ecology* 72: 915-923.
- Kovach, W. L. 1999. *MVSP - A Multivariate Statistical Package for Windows*, Version 3.1. Kovach Computing Services, Pentraeth, Wales. 133 p.
- Kuhl, A. M., M. S. C. da Rocha, C. L. Gaeta-Espindola & F. A. Lansac-Toha. 2010. Rural and urban streams: anthropogenic influences and impacts on water and sediment quality. *International Review of Hydrobiology* 95: 260-272.
- Kumar, A. 2002. *Biomonitoring of sewage pollution*. A P H publishing Corporation. Inc. New. Delhi. pp. 39-103.
- Lacher, T. E. Jr. & M. I. Goldstein. 1997. Tropical ecotoxicology: needs. *Environmental Toxicology and Chemistry* 16: 100-111.
- Lasier, P. J., P. V. Winger & I. R. Hardin. 2006. Effects of hardness and alkalinity in culture and test waters on reproduction of *Ceriodaphnia dubia*. *Environmental Toxicology and Chemistry* 25: 2781-2786.
- Martínez, M. L., O. Pérez-Maqueo, G. Vázquez, G. Castillo-Campos, J. García-Franco, K. Mehltreter, M. Equihua & R. Landgrave. 2009. Effects of land use change on biodiversity and ecosystem services in tropical montane cloud forests of Mexico. *Forest Ecology and Management* 258: 1856-1863.
- Mendoza-Cantú, A., P. Ramírez-Romero & Y. Pica-Granados. 2007. Environmental legislation and aquatic ecotoxicology in Mexico: Past, present and future scenarios. *Journal of Environmental Science and Health Part A* 42: 1343-1348.
- Mitchelmore, C. L. 2010. Evaluation of the chronic toxicity tests carried out by the US Environmental protection Agency at various sites in the coalfields of Kentucky and West Virginia, USA. Report on the U.S. Environmental Protection Agency's chronic whole effluent toxicity testing at selected sites in the coalfields of Kentucky and West Virginia. University of Maryland Center for Environmental Science. 5 p.

- Monakov, A. B. 2003. Water fleas-Cladocera. In: Monakov A. B. (Ed.). *Feeding of freshwater invertebrates*. Kenobi Productions, Ghent, Belgium, pp. 133-172.
- Muñoz-Villers, L. E. & J. López-Blanco. 2007. Land use/cover changes using Landsat TM/ETM images in a tropical and biodiverse mountainous area of central-eastern Mexico. *International Journal of Remote Sensing* 29: 71-93.
- Nanazato, T. & M. Yasuno. 1985. Population dynamics and production of cladoceran zooplankton in the highly eutrophic Lake Kasumigaura. *Hydrobiologia* 124 (1): 13-22.
- Nestel, D. 1995. Coffee and Mexico: International market, agricultural landscape, and ecology. *Ecological Economics* 15: 165-179.
- Niemi, G. J. & M. E. McDonald. 2004. Application of ecological indicators. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 35: 89-111.
- Nimmo, W. R. De, D. Link, L. P. Parrish, G. J. Rodriguez, W. Wuerthele & P. H. Davies. 1989. Comparison of on-site and laboratory toxicity tests: derivation of site-specific criteria for un-ionized ammonia in a Colorado transitional stream. *Environmental Toxicology and Chemistry* 8: 1177-1189.
- Osborne, L. L. & D. A. Kovacic. 1993. Riparian vegetated buffer strips in water quality restoration and stream management. *Freshwater Biology* 29: 243-258.
- Pond, G. J. 2010. Patterns of Ephemeroptera taxa loss in Appalachian headwater streams (Kentucky, USA). *Hydrobiologia* 641: 185-201.
- Pond, G. J., M. E. Passmore, F. A. Borsuk, L. Reynolds & C. J. Rose. 2008. Downstream effects of mountain top coal mining: Comparing biological conditions using family- and genus-level macroinvertebrate bioassessment tools. *Journal of North American Benthological Society* 27: 717-737.
- R Development Core Team. 2006. *R: A language and environment for statistical computing*. R foundation for statistical computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL Available online at: <http://www.R-project.org/> (downloaded January 12, 2011).
- Ramírez-Romero, P., Y. Pica-Granados & F. Martínez-Jerónimo. 2007. Informe final: Pruebas biológicas para la evaluación ecotoxicológica de las sustancias químicas, tercera etapa: Desarrollo de pruebas biológicas con especies nativas y ejercicio de intercalibración. SEMARNAT, INE, México, D.F. 342 p.

- Rose, R. M., M. St. Warne & R. P. Lim. 2000. Life history of the cladoceran *Ceriodaphnia* cf. *dubia* to variation in food concentration. *Hydrobiologia* 427: 59-64.
- Sa-ardrit, P. & F. W. H. Beamish. 2005. Cladocera diversity, abundance and habitat in a western Thailand stream. *Aquatic Ecology* 39: 353-365.
- Salonen, K. & T. Hammar. 1986. On the importance of dissolved organic matter in the nutrition of zooplankton in some lake waters. *Oecologia* 68: 246-253.
- Santos, M. A. P. F, M. G. G. Melão & A. T. Lombardi. 2006. Life history characteristics and production of *Ceriodaphnia silvestrii* Daday (Crustacea, Cladocera) under different experimental conditions. *Acta Limnologica Brasiliensis* 18: 199-212.
- Schiff, K. & L. Tiefenthaler. 2003. Contributions of organophosphorus pesticides from residential land uses during dry and wet weather. Technical Report 406. Southern California Coastal Water Research Project. Westminster, C.A. 91 p.
- Sharpley, A. N., J. J. Meisinger, A. Breeuwsma, J. T. Sims, T. C. Daniel & J. S. Schepers. 1998. Impacts of animal manure management on ground and surface water quality. In: Hatfield J. (Ed.). *Effective management of animal waste as a soil resource*. Ann Arbor Press, Michigan, pp. 173-242.
- Singleton, H. 2000. Ambient water quality guidelines for sulphate: technical appendix. Ministry of Environment, Lands and Parks, Province of British Columbia, Canada. Available online at: <http://www.env.gov.bc.ca/wat/wq/BCguidelines/sulphate/> (downloaded January 12, 2011).
- Soupir, M. L., S. Mostaghimi, E. R. Yagow, C. Hagedorn & D. H. Vaughan. 2006. Transport of fecal bacteria from poultry litter and cattle manures applied to pastureland. *Water, Air and Soil Pollution* 69: 125-136.
- Strahler, A. N. 1957. Quantitative analysis of watershed geomorphology. *Transactions of the American Geophysical Union* 38: 913-920.
- Sullivan, T. J., J. A. Moore, D. R. Thomas, E. Mallory, K. U. Snyder, M. Wustenberg, J. Wustenberg, S. D. Mackey & D. L. Moore. 2007. Efficacy of vegetated buffers in preventing transport of fecal coliform bacteria from pasturelands. *Environmental Management* 40: 958-965.

- Tchobanoglous, G., L. B. Franklin, S. H. David (Eds.). 1991. *Wastewater Engineering. Treatment Disposal Reuse*. 3rd ed. Metcalf & Eddy, Inc. McGraw-Hill, New York, 1820 p.
- US EPA (United State Environmental Protection Agency). 2002. Daphnid, *Ceriodaphnia dubia*, survival and reproduction test. Method 1002.0. Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to freshwater organisms. Fourth Edition. EPA-821-R-02-013.
- USGS (United State Geological Survey). 1999. The quality of our nation's waters, nutrients and pesticides. US Geological Survey Circular 1225. Available online at: <http://pubs.usgs.gov/circ/circ1225/> (downloaded January 11, 2011).
- Vázquez, G., J. A. Aké-Castillo & M. E. Favila. 2011. Algal assemblages and their relationship with water quality in tropical Mexican streams with different land uses. *Hydrobiologia* 667: 173-189.
- Vitale, P. 2007. *Lake Elsinore sediment and water column toxicity study*. Technical report. Surface Water Ambient Monitoring Program, Santa Ana Regional Water Quality Control Board, California. 12 p.
- Wang, X., Y. Ou, P. Dou, & X. Fang. 2009. Relationship between the variation of water quality in rivers and the characteristics of watershed at Miyun, Beijing, China. *Chinese Journal of Geochemistry* 28 (1): 112-118.
- WVDEP (West Virginia Department of Environmental Protection). 2008. Integrated water quality monitoring and assessment report. Division of Water and Waste Management, Virginia. 52 p.
- Williams-Linera, G. 2007. *El bosque de niebla del centro de Veracruz: ecología, historia y destino en tiempos de fragmentación y cambio climático*. INECOL-CONABIO, México. 208 p.
- Wylie, J. L. & D. J. Currie. 1991. The relative importance of bacteria and algae as food sources for crustacean zooplankton. *Limnology and Oceanography* 36: 708-728.
- Yufeng, Y., Xiangfei, H. & L. Juankang. 1998. Long-term changes in crustacean zooplankton and water quality in a shallow, eutrophic Chinese lake densely stocked with fish. *Hydrobiologia* 391: 193-201.

Tables

Table 1. Characteristics of the studied streams in the La Antigua River upper watershed, Veracruz, Mexico. F = forest, P = pasture, C = coffee plantation, U = mixed with urban influence, SC = sugar cane cover, as a percentage of the total micro watershed surface.

Stream	% F	% P	% C	% U	% SC	Total area (km ²)	Soil type	Coordinates		Order*	Altitude (m.a.s.l.)
	W	N									
F1	68.7	24.6	2.2	4.3	0.1	3787	Humic andosol	96°59'27.01"	19°31'19.009"	2	1491
F2	89.5	8.1	1.3	0.0	0.0	479	Humic andosol	97°00'11.22"	19°30'55.40"	1	1577
P1	15.7	80.4	0.8	2.7	0.0	405	Humic andosol	97°02'27.77"	19°23'52.95"	2	1473
P2	17.1	58.1	20.1	4.3	0.4	848	Humic andosol	97°00'20"	19°26'22"	1	1343
C1	15.1	27.3	49.6	5.4	1.6	16320	Humic andosol	96°58'42.344"	19°22'28.822"	3	1054
C2	14.6	10.8	67.7	4.2	2.4	13425	Humic andosol	96°58'11.468"	19°20'52.191"	3	947
U1	6.7	3.1	35.8	27.6	26.6	11716	H. andosol/ haplic feozem	96°5'271.22"	19°27'33.81"	2	1401
U2	4.2	2.9	61.4	5.2	26.2	3264	Haplic feozem	96°55'54"	19°27'00"	2	1132

*Order: Stream classification are based on the number of tributaries upstream (Strahler, 1957)

Table 2. Average values of the environmental variables (\pm standard error) from dry (April 2010) and rainy (October 2010) season water samples from the study streams. F = cloud forest, P = pasture, C = coffee plantation, U = mixed with urban influence. Temp = temperature, DO = dissolved oxygen, Cond = conductivity, TSS= total suspended solids, Hard = hardness, Alk = alkalinity, NH_4^+ = ammonia, $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$ = nitrate+nitrite, TP = total phosphorus, Cl^- = chloride, SO_4^{2-} = sulfate.

	Temp	DO	pH	Cond	TSS	Hard*	Alk	NH_4^+	$\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$	TP	Cl^-	SO_4^{2-}
	(°C)	(mg L ⁻¹)		($\mu\text{S cm}^{-1}$)	(mg L ⁻¹)	(CaCO ₃ mg L ⁻¹)	(CaCO ₃ mg L ⁻¹)	(mg L ⁻¹)	(mg L ⁻¹)	(mg L ⁻¹)	(mg L ⁻¹)	(mg L ⁻¹)
Dry												
F1	16.13	7.00	7.13	27.52	6.75		18.70	0.00	1.20	0.02	4.63	4.41
	± 0.01	± 0.30	± 0.04	± 0.02	± 2.33	14	± 0.49	$\pm <0.01$	± 0.22	$\pm <0.01$	± 0	± 0.31
F2	14.58	7.16	7.53	30.81	6.32		19.16	0.18	1.17	0.06	4.6	4.57
	± 0.11	± 0.30	± 0.02	± 0.12	± 3.92	22.4	± 0.17	± 0.01	± 0.22	± 0.02	± 0	± 0.49
P1	20.78	5.88	7.36	71.15	1.83		40.32	0.28	0.22	0.03	5.06	5.24
	± 0.02	± 0.39	± 0.11	± 0.09	± 0.16	31.2	± 1.31	± 0.02	± 0.04	$\pm <0.01$	± 0.17	± 0.34
P2	18.17	6.52	7.49	27.00	3.16		17.61	0.07	0.50	0.02	5.45	4.96
	± 0.02	± 0.28	± 0.03	± 0.06	± 0.63	10.1	± 0.23	$\pm <0.01$	± 0.09	$\pm <0.01$	± 0.21	± 0.47
C1	20.39	5.86	7.99	115.90	31.31		60.33	0.12	6.01	0.06	5.56	4.63
	± 0.02	± 0.52	± 0.08	± 0.17	± 10.60	46.8	± 2.09	$\pm <0.01$	± 1.09	± 0.01	± 0.02	± 0.17
C2	19.31	6.45	7.13	73.86	17.9		36.30	0.25	4.61	0.02	5.52	5.39
	± 0.02	± 0.44	± 0.19	± 1.59	± 0.26	25.2	± 0.96	± 0.01	± 0.84	$\pm <0.01$	± 0	± 0.24
U1	18.84	5.37	7.52	58.22	26.30		33.2	0.27	1.75	0.08	5.33	5.27
	± 0.1	± 0.06	± 0.02	± 0.22	± 18.58	20	± 0.15	$\pm <0.01$	± 0.46	± 0.01	± 0.23	± 0.48
U2	20.79	0.50	7.51	317.12	23.90		24.18	13.84	0.35	2.31	20.62	50.3
	± 0.03	± 0.11	± 0.02	± 0.89	± 1.55	48.8	± 0.18	± 0.30	± 0.05	± 0.04	± 0.29	± 2.89

	Rainy											
F1	13.53	7.59	6.43	23.50	5.35		13.63	0.03	1.48	0.13	2.98	2.27
	±0.01	±0.08	±0.11	±<0.01	±0.61	8.9	±0.12	±<0.01	±0.27	±0.01	±0.04	±0.06
F2	9.6	8.59	5.59	23.45	5.67		17.10	0.03	1.28	0.07	4.02	2.34
	±0	±0.12	±0.13	±0.03	±2.22	10.6	±0.26	±<0.01	±0.01	±0.01	±0.11	±0.08
P1	17.34	6.61	7.67	74.06	2.11		48.74	0.03	0.22	0.20	3.71	2.15
	±0.02	±0.17	±0.03	±0.06	±0.50	30.5	±0.22	±<0.01	±0.01	±0.05	±0.04	±0.07
P2	15.28	5.82	6.29	22.49	2.73		16.74	0.02	0.16	0.82	3.64	2.08
	±0.01	±0.55	±0.08	±0.07	±0.05	9.25	±0.15	±<0.01	±0.03	±0.40	±0.07	±0.12
C1	19.13	6.11	7.84	104.71	12.13		54.00	0.16	4.64	0.19	3.93	2.28
	±0.01	±0.28	±0.02	±0.18	±0.74	44.55	±0.26	±0.01	±0.81	±0.01	±0.12	±0.05
C2	16.88	6.98	6.97	62.68	12.19		35.39	0.04	2.87	0.07	3.86	2.74
	±0.04	±0.31	±0.13	±0.95	±1.91	22.6	±0.71	±0.01	±0.53	±0.02	±0.11	±0.08
U1	18.02	5.51	6.73	60.73	21.63		30.65	0.26	1.56	0.53	4.41	2.56
	±0.02	±0.27	±0.08	±0.60	±3.78	19.95	±0.21	±0.01	±0.41	±0.02	±0	±0.19
U2	20.17	1.45	6.91	173.03	38.08		71.94	1.61	0.69	1.67	11.7	9.85
	±0.01	±0.16	±0.01	±1.01	±10.87	37.75	±0.26	±0.07	±0.04	±0.04	±0.25	±0.27

*For hardness only one value was registered, then, no standard error was calculated.

Table 3. Minimal models (LR χ^2 likelihood ratio) for the effect of land use, season, and water concentration (nested on land use) on the progeny and broods from females of *Ceriodaphnia dubia*.

Factor	LR χ^2	df	p value
Progeny			
Land use	410.65	3	<0.0001
Season	289.03	1	<0.0001
Land use: Season	41.92	3	<0.0001
Land use: Concentration	46.80	4	<0.0001
Broods			
Land use	33.591	3	<0.0001
Season	94.054	1	<0.0001
Land use: Season	9.657	3	0.05
Land use: Concentration	33.740	4	<0.0001

Figure captions

Figure 1. Location of the sampling sites within the La Antigua river upper watershed, Veracruz, Mexico. F = cloud forest, P = pasture, C = coffee plantation, U = mixed with urban influence.

Figure 2. PCA ordination of the sixteen physicochemical variables from April, 2010 (A) and October, 2010 (O). DO = dissolved oxygen, Alk = total alkalinity, Hard = total hardness, Temp = temperature, TSS= total suspended solids, Cond = conductivity, TP = total phosphorus. F = cloud forest, P = pasture, C = coffee plantation, U = mixed with urban influence.

Figure 3. Average stream discharge (\pm standard error) in the dry (April, 2010) and rainy seasons (October, 2010). F = cloud forest, P = pasture, C = coffee plantation, U = mixed with urban influence.

Figure 4a-d. Average progeny per *Ceriodaphnia dubia* female (\pm 95% confidence interval) for each (a) land use, (b) season, (c) interaction of land use and season, and (d) water concentration (%) (nested on land use). Asterisks highlight significant differences. F = cloud forest, P = pasture, C = coffee plantation, U= mixed with urban influence.

Figure 5a-d. Average broods per *Ceriodaphnia dubia* female (\pm 95% confidence interval) for each (a) land use, (b) season, (c) interaction land use and season, and (d) water concentration (%) (nested on land use). Asterisks highlight significant differences ($p < 0.05$). F = cloud forest, P = pasture, C = coffee plantation, U = mixed with urban influence.

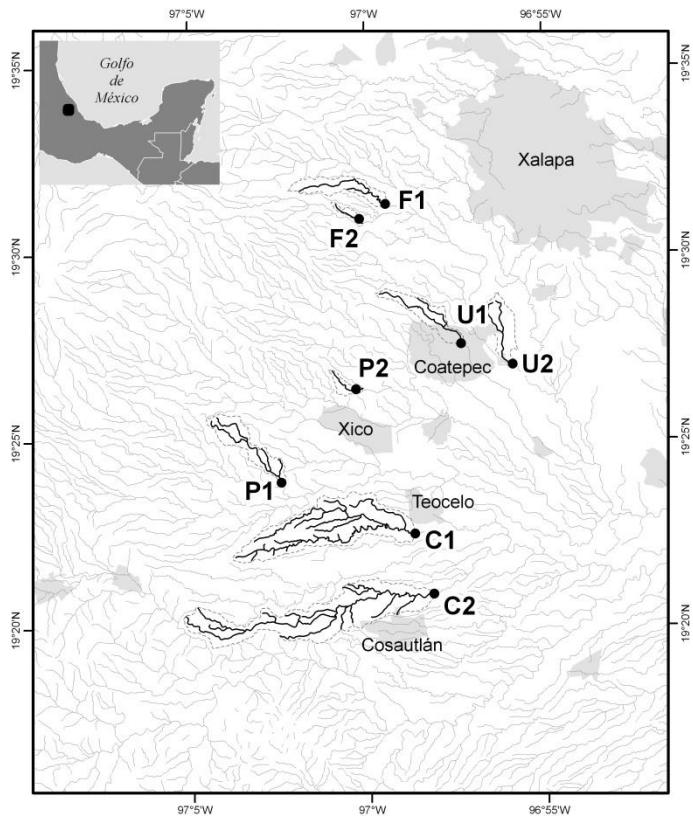


Figure 1.

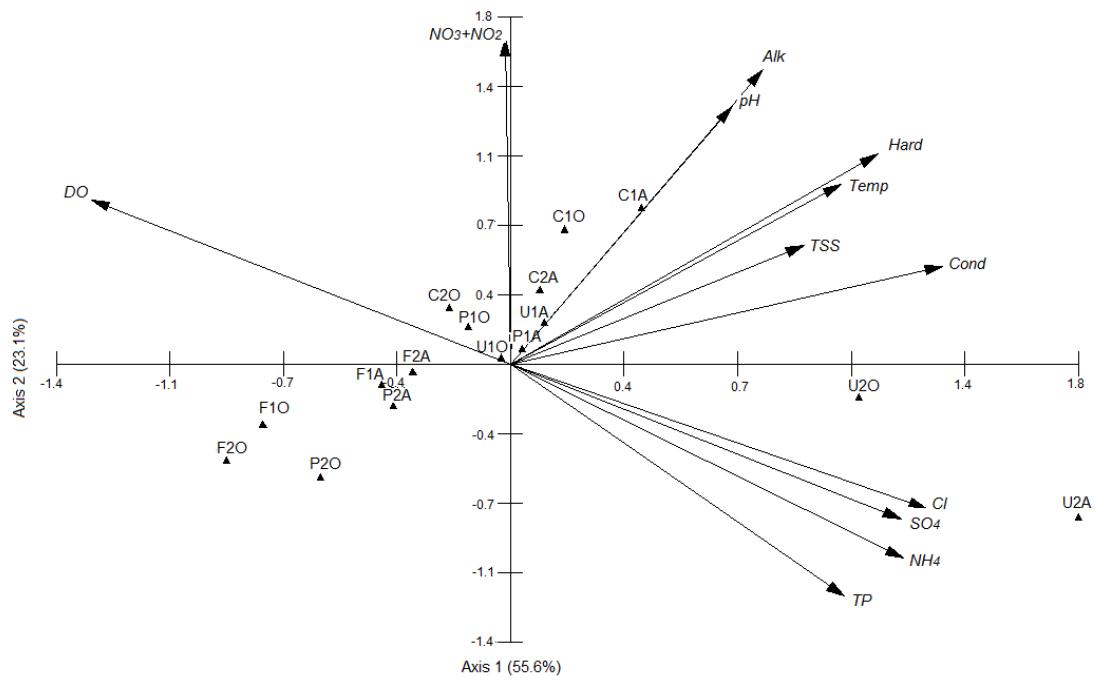


Figure 2.

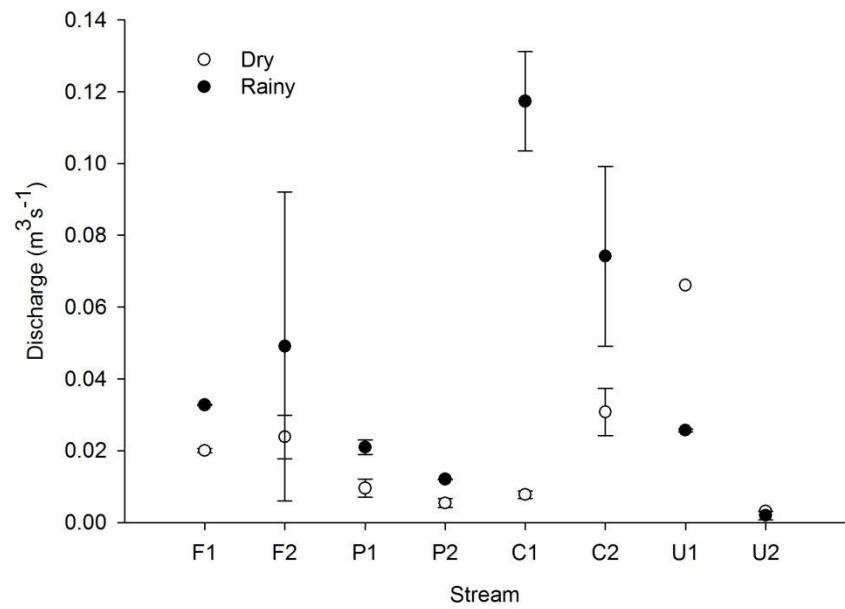


Figure 3.

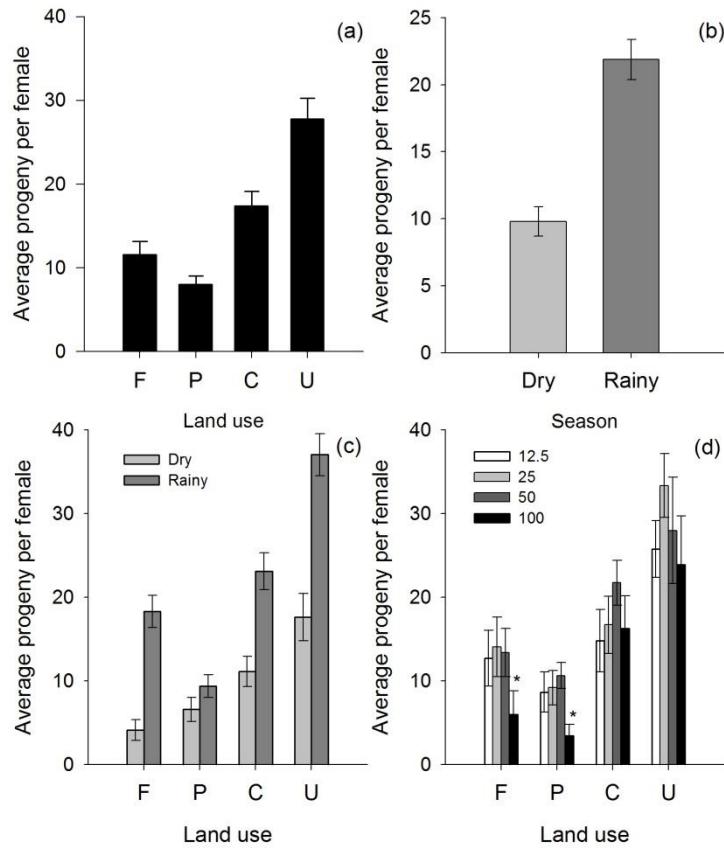


Figure 4.

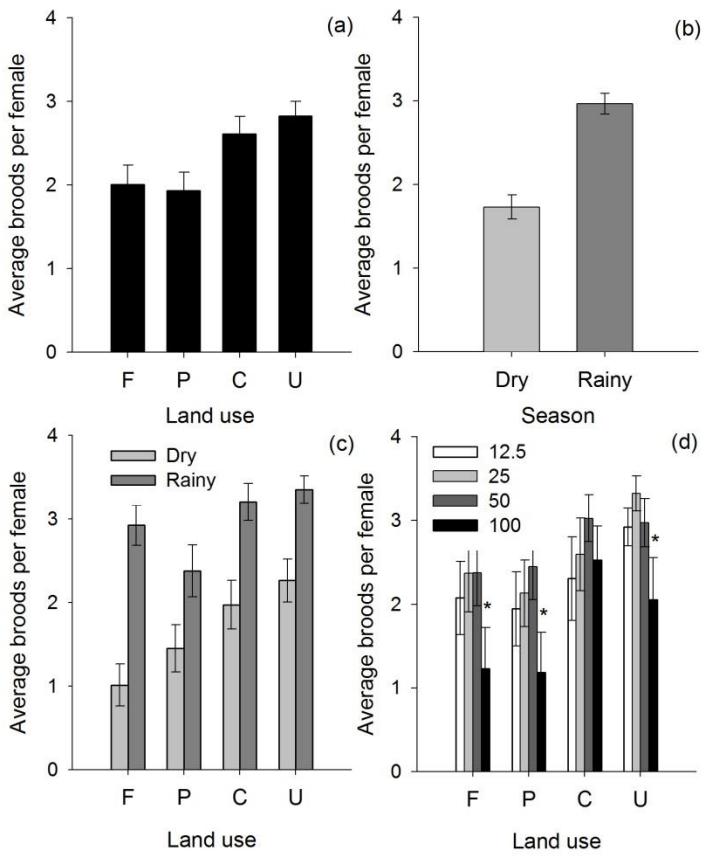


Figure 5.

CAPÍTULO 3

Effects of land use on streams and larval Odonata assemblages in the La Antigua upper watershed, Veracruz, Mexico

Enviado a la revista *International Journal of Odonatology*

Effects of land use on streams and larval Odonata assemblages in the La Antigua upper watershed, Veracruz, Mexico

P. L. García-García ^{1*}, R. Novelo-Gutiérrez ² and G. Vázquez ¹

¹Red de Ecología Funcional, Instituto de Ecología, A. C. Carretera Antigua a Coatepec 351, Colonia El Haya, Xalapa 91070, Veracruz, México, 8421800 ext. 4220, gabriela.vazquez@inecol.edu.mx

² Red de Biodiversidad y Sistemática, Instituto de Ecología, A. C. Carretera Antigua a Coatepec 351, Colonia El Haya, Xalapa 91070, Veracruz, México, 8421800 ext. 3311, rodolfo.novelo@inecol.edu.mx

*Corresponding author. Email: patricia.lucero.garcia2@gmail.com

Abstract

Human actions through land use changes are increasingly promoting the deterioration of aquatic biota and their habitats in freshwater ecosystems. This study evaluated the effect of stream water quality, derived from regional anthropogenic activities in the La Antigua River upper watershed, Veracruz, Mexico, on Odonata larval assemblages during the dry and rainy seasons in 2010.

Odonata were collected from streams flowing through land having different uses: pastures, coffee plantations, urbanization, and cloud forests. In this study forest streams provided reference conditions, the least difference in water quality compared to these streams was detected in pasture streams. Major differences were shown between coffee plantation and urban streams. Habitat conditions were best for forests and worst for one urban stream in particular. Water ions were diluted during the rainy season. The principal factors that influenced Odonata assemblages were habitat simplification, water temperature, organic enrichment, and sedimentation. Between seasons, the effects were related to the dilution of chemicals during the rainy season. In comparison to the forested streams, the most altered streams (urban) had the greatest influence on the Odonata larvae, followed by the coffee plantation streams, and then pasture streams. The results showed some larval Odonata species in the La Antigua River upper watershed can be considered as reference indicators of cloud forest streams, while others can be considered as indicators of altered streams, and others as indicators of greater anthropogenic disturbance. Support is provided for the conservation of Odonata diversity in streams draining montane cloud forests.

Key words: larvae; water quality; habitat; anthropogenic disturbance; cloud forest; pasture; coffee plantation; urban areas; freshwater.

Introduction

Streams are among the most threatened ecosystems in the world (Hering et al., 2006). Human actions such as land use change pose a great threat to the ecological integrity of freshwater ecosystems by impacting habitat structure, water quality, and the biota (Strayer et al., 2003). In tropical regions, montane cloud forests are among the most important ecosystems for their great ecosystem services (Bubb et al., 2004), such as the supply of high quality water and their unique biodiversity with ecological, pharmaceutical and ecotourism potential (Bruijnzeel et al., 2010), but rates of habitat loss are high and pollution has increased in the last decades (Bonell et al., 2005), affecting aquatic invertebrates including the Odonata (Bücker et al., 2010). In Mexico, montane cloud forests have been replaced by pastures, coffee and sugarcane plantations, and urban areas (Muñoz-Villers & López-Blanco, 2008). In pastures, livestock grazing can modify stream channel morphology, soil compaction, erosion and riparian vegetation (Belsky et al., 1999), and also can cause organic enrichment through excretory wastes, that augment nutrient and pathogen loads in streams (Hubbard et al., 2004). In coffee plantations, the soil may be eroded, due to the reduction of vegetative ground cover, causing increased sedimentation in streams which is reflected by the high amount of suspended solids in streams draining coffee plantations (Vázquez et al., 2011). In addition, coffee producers commonly use insecticides (Guadarrama-Zugasti, 2000), which in the rainy season can be washed out from crop soils into nearby watercourses. Urban land use can substantially affect stream habitat, by changing flow patterns, channel morphology, and the physical and chemical characteristics of stream water (Beavan et al., 2001).

The habitat requirements of odonates are highly species-dependent (Watson et al., 1982). The most important variables of the physical habitat determining the presence of odonate larvae are the composition and structure of the streambank vegetation (Schindler et al., 2003; Butler & de Maynadier, 2008), the hydrologic regime and flow (Stewart & Samways, 1998; Oppel, 2005), and the presence of macrophytes (Oppel, 2005). Odonata larvae exploit a variety of habitats, but nearly all live in littoral ones (Campbell & Novelo-Gutiérrez, 2007).

Assemblages of Odonata larvae may respond to anthropogenic disturbances by altering their structure and composition, species richness, abundance and diversity (Ormerod et al., 1990; Clark & Samways, 1996). In general, anthropogenic disturbances of the habitat and water quality may increase the abundance of dominant species (especially tolerant species), making the

assemblage less even, less diverse and less rich in species (Azrina et al., 2006). Odonata larvae have been used as bioindicators of the integrity of freshwater ecosystems given that they spend most of their life as larvae, making this a critical life stage in determining the abundance and distribution of Odonata in local waters (McPeek, 2008). Several characteristics of odonates make them useful indicators of habitat conditions, such as their rapid response to environmental changes (Briers & Biggs, 2003; Catling, 2005), amphibiotic life history (Corbet, 1999), special habitat condition requirements (Korkeamäki & Suhonen, 2002), varied tolerances for aquatic pollution (Corbet, 1993; Catling, 2005), widespread geographic distribution, accessibility for quantitative sampling (Oertli, 2008), and their relatively well known taxonomy (González-Soriano & Novelo-Gutiérrez, 1996).

The objective of this study was to assess the effects of different land uses in tropical streams of micro-watersheds of the upper La Antigua basin (pasture, coffee plantation, urban, cloud forest) using stream water quality, instream and riparian habitat, and the structure and composition of the larval Odonata assemblage during the dry and rainy seasons. We expected that streams flowing through forests would serve as references for water and habitat characteristics, and the rest of the streams would be altered in these characteristics. As Odonata larvae have a varied tolerance to water pollution, we expected to find very sensitive species living in streams with little to no disturbance, while tolerant species would be living in highly disturbed streams.

Materials and methods

Study site

The streams studied flow through the eastern slopes of Cofre de Perote volcano in the La Antigua River upper watershed, in Veracruz, Mexico (Figure 1). We selected three perennial streams for each of four predominant land uses in the region: tropical montane cloud forest (forests: F1, F2, and F3), cattle pastures (pastures: P1, P2, and P3), shaded coffee plantations (coffee: C1, C2, and C3), and mixed land uses with high urban influence (urban: U1, U2, and U3). They are located in micro-watersheds with at least 50% of their surfaces covered by the assigned land uses (from order 1 to 3). Soil type in the region is humic andosol and the altitude ranges from 947-1629 m a.s.l. Urban stream watersheds were also influenced by coffee plantations and sugarcane cultivation, but the water and Odonata larvae were collected in the urban area of influence. The

region has three main climatic seasons: a humid-cold season ('nortes', November–March), a dry season (April–June), and a rainy season (July–October) (Williams-Linera, 2007).

Physical and chemical variables

Water samples were collected during extreme seasons; dry (April) and rainy (October) of 2010. For each stream we selected a 100 m stream reach for sampling, selected where each land use was represented in the adjacent area of the stream (except for U2, which had no access until the end of the urbanized area and the sampling site was located at a coffee plantation). For physical and chemical analysis, 4 l of water were collected in polyethylene jars from different sites (along the 100 m reach. Water samples for the determination of total phosphorus were collected in 250 ml glass bottles. Water samples were refrigerated (4°C) for 24 - 48 h before analysis.

Discharge was calculated as $Q = Av$, where A is the cross-sectional area and v is the flow ($\text{m}^3 \text{s}^{-1}$) (Hauer & Lamberti, 1996). For determination of discharge (Q), depth and instantaneous velocity were measured along a cross-sectional transect using a metric ruler and flow meter (Probe 101FP201). Several parameters were measured *in situ*; temperature (T , °C), dissolved oxygen (O_2 , mg l⁻¹), and conductivity (Cond, $\mu\text{S cm}^{-1}$) were determined with a combination probe (YSI, Model 85). A potentiometer was used to determine pH (Oakton). In the laboratory, there were determined: Total suspended solids (Tss, gravimetric method), total alkalinity (Alk, phenolphthalein method), ammonium (NH_4^+ , Nessler method), nitrites (NO_2^- , diazotization method), nitrates (NO_3^- , colorimetry with the brucine method), total phosphorus (TP, persulfate digestion and colorimetry with the ascorbic acid method), chlorides (Cl^- , argentometric method), sulfates (SO_4^{2-} , turbidimetric method). Sodium (Na^+) and potassium (K^+) were measured with a flame photometer (Corning, Model 410), and calcium (Ca^{2+}), and magnesium (Mg^{2+}) were measured using atomic absorption spectrophotometry (Shimadzu, Model AA6501). Analyses were conducted using AOAC (1990) and APHA (1998) spectrophotometric techniques.

Physical habitat assessment

A general evaluation of the surrounding habitat structure that influences stream water characteristics was conducted using a qualitative index (Barbour et al., 1999). This method consists of a visual estimate of the physical in-stream environment and riparian habitat. Scores were assigned for each habitat characteristic, and categorized as poor (0-5), marginal (6-10), sub-

optimal (11-15), or optimal (16-20). Scores from individual metrics were summed to evaluate the physical habitat in each stream.

Odonata sampling and identification

Odonata larvae were collected in a 100 m reach of each stream during the dry season (April) and rainy season (October) in 2010, on the same days when water samples were collected. For each sample, a D-frame aquatic net (45 x 12 cm) with 500 µm mesh was swept through 1 m², and depending on the type of substrate, loose substrate was kicked in front of the net and embedded rocks were hand-brushed, or the net was repeatedly thrust among vegetation. Fourteen samples were collected: seven in runs and seven along the margins (with slow flow). In urban streams, only four samples were collected (two in the channel center and two along the margins) as with a preliminary sampling in urban streams an oversimplification of the macroinvertebrate richness was observed. Gray (2004), e.g. used only three macroinvertebrate samples per site in urban streams

Samples were preserved in 96% ethanol and larval Odonata were separated from the rest of the sample within 48 h of the sampling date. Larvae were preserved in 80% ethanol and species were identified using a stereoscopic microscope (Leica, MZ6), specialized keys (Novelo *in litt.*) and catalogued specimens. All specimens were deposited in the Entomological Collection at the Instituto de Ecología, A.C. (IEXA), in Xalapa, Mexico.

Data analysis

Stream discharge was compared between seasons using a *t*-test on log-transformed data to provide homogeneous variances. A Kruskal-Wallis test was conducted to compare discharge among streams draining areas with different land uses. Corbet (1999) defines four habits that correlate with morphological and behavioral characteristics: claspers, hiders, shallow-burrowers, and sprawlers. To describe the structure of the Odonata assemblages between different land uses, the relative abundance of odonate larvae of these categories, as well as the family level was used to compare between land uses. Odonata total larval species abundance was used to calculate the inverse Simpson's (*D*) and Pielou's (*J*) indices, and the values of individual streams were grouped by land use type. Each index was compared using a one-way ANOVA or Kruskal-Wallis test among land use types. When statistical significance was obtained, the *post-hoc* Holm-Sidak

method was used, to correct for Type I error due to multiple comparisons. SigmaStat ver. 3.5 (2006) was used for all analyses.

To assess sampling effort, sample-based rarefaction curves using Chao 2 and ICE (incidence-based coverage) were constructed as was the Clench equation (abundance-based coverage), from which percent Odonata richness was calculated from the expected values for each land use type. EstimateS ver. 8.2 (Colwell, 2009) was used for this analysis. The species richness estimators revealed that 91-100% of the estimated richness was achieved for forest streams (Clench = 91%, Chao 2 = 100%, ICE = 100%), 81-100% for pasture streams (ICE = 81%, Chao 2 = 93%, Clench = 100%), 92-100% for coffee plantations (Clench = 92%, ICE = 92%, Chao 2 = 100%), and 64-88% for urban streams (Clench = 64%, ICE = 70%, Chao 2 = 88%). Therefore, sampling effort was sufficient for forest, pasture and coffee plantation streams, while urban streams appeared to be under-sampled based on the Clench equation (64% of the total expected richness).

A cluster analysis was carried out to determine similarities in the species composition of Odonata assemblages between the studied streams. We used the species presence-absence data, grouped with Sorensen's Index and the Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean (UPGMA) in the Multi-Variate Statistical Package program (MVSP; Kovach, 1999). To analyze the relationship of the Odonata assemblage abundance data with water physical and chemical variables and season, a Canonical Correspondence Analysis was conducted (PC-ORD for Windows 5; McCune & Mefford, 2005). Prior to analysis, the average number of Odonata larvae per sample and the average of water physical and chemical variables were transformed to log (x+1) (except pH) to stabilize variances. The statistical significance of the ordination axes was assessed by the Monte Carlo permutation tests (999 permutations).

Results

Water physical and chemical variables

Discharge of the streams from the La Antigua River upper watershed was significantly lower during the dry season ($0.01 \pm 0.005 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$) than the rainy season ($0.03 \pm 0.01 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$) ($t = -2.083$, 46 d.f., $p = 0.043$) (Figure 2a). Discharge was not significantly different between streams within seasons ($H = 18.16$, d. f. = 11, $p = 0.08$) (Figure 2b). Comparing the average values of the

variables, water temperature of streams from cloud forests was the lowest (13.6°C) and was highest in urban streams (19.7°C) (Table 1). In addition, streams from cloud forests were the most oxygenated (7.3 mg l^{-1}) while the least oxygenated streams were urban (3.5 mg l^{-1}). The most alkaline pH was recorded for C1 and P1 (7.7 and 7.9 , respectively), and for the rest of the streams it was circumneutral. Streams from cloud forests exhibited the lowest conductivities ($23.4 \mu\text{S cm}^{-1}$) and alkalinites (15.5 mg l^{-1}). Total suspended solids were greater in urban and coffee plantation streams (19.2 mg l^{-1}) than in streams from cloud forests and pastures (6.1 mg l^{-1}). The highest nitrate + nitrite concentrations were found in streams from coffee plantations (4.4 mg l^{-1}) and U3 (3.6 mg l^{-1}) than in the rest of the streams (0.8 mg l^{-1}). Ammonium was higher in urban streams (2.8 mg l^{-1}) than in the remaining streams (0.1 mg l^{-1}), as well as total phosphorus (urban, 0.8 mg l^{-1} ; others, 0.1 mg l^{-1}) and potassium (urban, 2.8 mg l^{-1} ; others, 0.22 mg l^{-1}). Chloride, sodium, and magnesium were generally higher in urban and coffee plantation streams ($\text{Cl}^{-}, 6.8 \text{ mg l}^{-1}; \text{Na}^{+}, 5.3 \text{ mg l}^{-1}$) than in streams from pastures and cloud forests ($\text{Cl}^{-}, 4.2 \text{ mg l}^{-1}; \text{Na}^{+}, 1.4 \text{ mg l}^{-1}$). Silica was lower in streams from cloud forests (23.8 mg l^{-1}) than in other streams (37.6 mg l^{-1}). Finally, calcium was higher for streams in F1, coffee plantations, and U2 (7.9 mg l^{-1}) than in the remaining streams (4.6 mg l^{-1}) (Table 1).

Physical habitat assessment

Cloud forest streams had better habitat (total scores = 146-152) than pasture, coffee plantation and urban streams (Table 2). For pools, marginal to optimal substrates existed for every stream type, with a mixture of substrate materials such as gravel, sand, mud, root mats and submerged vegetation. For channels, all cloud forest streams had an optimal substrate favorable for epifaunal colonization (mix of snags, submerged logs, undercut banks, and cobble). For pastures and two of the coffee plantation streams, the substrate for epifauna was optimal to suboptimal, and for urban streams it was suboptimal to poor (Table 2). Cloud forest streams were the only ones with optimal bank stability provided by vegetation. Pasture streams had generally stable banks protected by grass, but coffee plantation and urban streams had low bank stability. The riparian vegetation in cloud forest streams was dominated by trees, did not have grasses, and had the greatest canopy cover which provided shade to the stream channel. In pasture streams, the

dominant stratum in the riparian zone was grass, in coffee plantations there was no dominant stratum, and in urban streams the riparian vegetation was reduced (Table 2).

Odonata assemblage structure and composition

Seven Odonata families were found in the streams of the La Antigua River upper watershed, with three belonging to the Suborder Zygoptera and four to the Suborder Anisoptera (Table 3). The most abundant family was Calopterygidae (54.2%), followed by the Libellulidae (16.6%), Coenagrionidae (12%), Gomphidae (11.3%), Cordulegastridae (3%) and Aeshnidae (3%) and Platystictidae (0.2%). In total, 19 Odonata species were encountered (Table 3). The most abundant species was *Hetaerina cruentata* (31.7%) followed by *H. vulnerata* (15.9%), both representing almost half of the total Odonata larvae found. *Argia lacrimans*, *Brechmorhoga tepeaca*, *Erpetogomphus viperinus*, *Hetaerina capitalis*, *Brechmorhoga pertinax*, *Argia* sp. 1, *Argia* sp. 3, *Cordulegaster diadema*, *Oplonaeshna armata*, and *Erpetogomphus boa* had an intermediate abundance, and the rest of the species were rare. All species were collected in the dry season, excepting *Argia extranea*. In the rainy season, all except three species were collected: *Ph. suatus*, *A. ulmeca*, and *I. denticollis* (Table 3). There was more larvae on the rainy season (732) than on the dry season (443).

Families and habits in relation to land use

There were six Odonata families in forest streams, five in coffee plantation and pasture streams, respectively, and four in urban streams. Calopterygidae represented more than half of the Odonata assemblages in almost every type of stream, except in coffee plantation streams (Figure 3a). Gomphidae was mostly represented in coffee plantation streams, than in the other stream categories. Coenagrionidae were more abundant in urban streams. Platystictidae only appeared in C2, representing only 2.4% of the total Odonata assemblage of this stream. The families Cordulegastridae and Aeshnidae were only present in forest streams. Libellulidae was better represented in coffee plantation and pasture streams than in cloud forest and urban streams (Figure 3a).

When grouped by habits (Figure 3b), claspers (all *Argia* species, *I. denticollis*, *H. capitalis*, *H. cruentata*, *H. vulnerata*, *Palaemnema* sp., *O. armata*) were generally the most abundant type of larva. Almost 100% of the larvae in urban streams were claspers, and less in

forest > pasture > coffee plantation streams. Sprawlers (*B. pertinax* and *B. tepeaca*) were present in all streams, but were not abundant in forest and urban streams, and accounted for 27-28% of the larval assemblage in pasture and coffee plantation streams. Hiders (*E. boa*, *E. viperinus*, *Ph. suassus*) were present in cloud forest and pasture streams (representing less than 10% of larval abundance), and coffee plantation streams (accounting for 40% of larval abundance). Shallow-burrowers (*C. diadema*) were associated with cloud forests; while hiders were better represented in coffee plantation streams.

Biodiversity in relation to season and land use

Total richness per land use category was: cloud forest (10 spp.), pasture (13 spp.), coffee plantation (12 spp.), and urban (7 spp.). Simpson's Index (D) was significantly different among seasons ($F = 0.16$, d.f. = 1, $p = 0.009$), and was greater during the rainy season than during the dry season ($D_{\text{rainy}} = 0.46 \pm 0.07$; $D_{\text{dry}} = 0.26 \pm 0.06$). Land use alone had no significant effect on D ($F = 0.2$, d.f. = 3, $p = 0.92$), but significant interaction existed between land use and season ($F = 7.2$, d.f. = 3, $p = 0.003$) (Figure 4a). During the dry season, D was zero for the urban streams, and during the rainy season, D was greater for urban streams than cloud forest streams ($D_{\text{forest}} = 0.28 \pm 0.04$; $D_{\text{urban}} = 0.71 \pm 0.15$) (Figure 4a). Pielou's Index was not significantly different among land uses ($F = 2.2$, d.f. = 3, $p = 0.12$), nor among seasons ($F = 0.1$, d.f. = 1, $p = 0.72$) (Figure 4b), although for pasture and forest streams there were changes between seasons, mainly for the species with intermediate abundances.

The dominance-diversity curves differed among streams (Figure 4c). The changes in relative abundance from the most important species to the next were great in streams from cloud forest. During both seasons, *H. vulnerata* was the dominant species in streams from cloud forests (50.5% of the total Odonata abundance). *Oplonaeshna armata* and *Cordulegaster diadema* were the second and third most important species. In streams from pastures and coffee plantations, the change in relative abundance from one species to the next was small because there were many species with low abundance (Figure 4c). *H. cruentata* dominated (46%) in pasture streams in both seasons. In streams from coffee plantations during the dry season *E. viperinus* dominated (35.8%), while during the rainy season it was *H. cruentata* (33.3%). Finally, for streams in urban areas, *A. lacrimans* was the dominant species during the dry season (40%), and *H. cruentata*

during the rainy season (71.8%). The rest of the species had a relative abundance of less than 30% (Figure 4c).

Cluster analysis based on the presence/absence of larval Odonata species resulted in groups of streams that coincided with land use in the micro-watersheds (Figure 5). Cloud forest streams were similar in species composition, and shared more similarities with coffee plantation and pasture streams than with urban streams. Coffee plantation and pasture streams were analogous, but differed principally from urban ones. Finally, urban streams resembled the least to the other streams.

Species and environmental variables

CCA analyses showed the first axis significantly (Monte Carlo test, 999 permutations, $p < 0.01$) explained 22.5% of the variance, reflecting a gradient from or of forest streams to pasture, coffee plantation and urban streams (Figure 6a). *Oplonaeshna armata*, *H. vulnerata*, *C. diadema*, *Argia ulmeca*, *Argia* sp. 3, *Argia* sp. 1 and *H. capitalis* formed a group associated with oxygenated cloud forest streams. The second axis explained 12.2% of the variance and separated in the upper plot the coffee plantation in both seasons and urban streams in the dry season with the highest values of suspended solids, potassium, sulfate, and nitrates + nitrites, that were associated with *Phyllogomphoides suasus*, *Palaemnema* sp., and *E. viperinus*. Other species associated with coffee plantation streams but also with pasture ones were *Brechmorhoga tepeaca*, *Argia anceps* and *Argia* sp.2, which were related with higher values of conductivity and alkalinity. On the other extreme, at the negative side of axis 2, there were those urban streams in the rainy season with the highest concentrations of phosphorus. *Ischnura denticollis*, *B. pertinax*, *A. extranea*, *A. lacrimans*, and *H. cruentata* formed a group associated with pasture in both seasons and urban streams in the rainy season (Figure 6a).

Almost every physical and chemical variable was higher during the dry season (April) than during the rainy season (October), as the dry season scores were generally located to the upper part related to the rainy season scores in Figure 6a. U1 does not appear in the plot, as no Odonata larvae were recorded for this season in this particular stream. As well, the remaining physical and chemical variables do not appear in the plot as they did not correlate with the site scores.

Discussion

Effects of land use on water quality and habitat

In this study, cloud forest streams were the most oxygenated, and had the coolest temperatures and lowest values of physical and chemical variables. This agrees with the results obtained by Vázquez et al. (2011), suggesting that the cloud forest streams studied herein are a good representation of an undisturbed ecosystem. In comparison, the streams from pastures, coffee plantations, and urban streams revealed some alterations of habitat and water conditions. Streams in pasture ecosystems had several substrate types in the pools and channels, and there was sediment deposition and bank instability, and almost no riparian vegetation or canopy cover, which are important for larval and adult Odonata because they use plants as perching platforms to hide from predators and as habitat cues for oviposition sites (Stewart & Samways, 1998; Corbet, 1999). Pasture streams had water chemistry more similar to that of forest streams than the other streams examined, perhaps because farmers do not use chemical fertilizers or manure for pasture fertilization, and also avoid burning (cattle farmers' pers. comm., October 2010). Coffee plantation streams also had several substrates in the pools and channels, but exhibited more sediment deposition and bank instability, although there was more vegetative protection and canopy cover than pasture streams. In these localities, farmers apply selective pruning to control weeds (Guadarrama-Zugasti, 2000) which reduces the density of the herbaceous layer that normally retains soil run-off to give stability to the streambank (Arellano, 2000). Coffee plantation streams generally had high values of conductivity in comparison to cloud forest and pasture streams, as well as the highest nutrient concentrations, certainly the result of fertilizer use (Guadarrama-Zugasti, 2000). Our study agrees with a previous study in the La Antigua upper watershed by Vázquez et al. (2011) who found that suspended solids, conductivity and nutrients were higher in coffee plantation streams than in pasture streams, whereas cloud forest streams had the lowest values. This likely occurs because riparian forests prevent or delay nutrient transport from the uplands to streams, since the understory vegetation retains the soil runoff (Osborne & Kovacic, 1993). Urban streams showed expected habitat and water chemistry, had lower variety and abundance of substrates for invertebrate establishment, higher channel simplification, greater bank instability, and reduced vegetative protection. There were also higher temperatures, higher concentrations of phosphorus, ammonium, and chloride, and greater

sediment deposition and lower oxygen levels than the other streams, which indicate organic enrichment (Walsh et al., 2005).

Seasonality of water chemistry and Odonata

There were lower ion concentrations during the rainy season than the dry season, likely due to solute dilution, driven by a greater discharge. The exception was U1, that had the opposite tendency, but which may be a case of non-seasonal perturbation characteristic of some urban streams where discharge depends more on the intermittent nature of domestic discharge than on seasonal patterns (Walsh et al., 2005).

Most odonates showed a seasonal pattern. Some species reproduce shortly after the rainy season begins, producing numerous larvae when there is more breeding habitat than during the dry season. Yet, for many other species inhabiting running waters it is safer to survive the rains as adults because the larvae may be washed away by higher water (Clausnitzer et al., 2012). In this survey larval abundance was lower during the dry season than the rainy season; mature larvae emerged throughout the dry season, reducing their abundance in water bodies. Likewise, Odonata adults reproduced throughout the rainy season, such that at the time of sampling, egg hatching had occurred, explaining the higher abundance of young larvae during the rainy season. In addition, species richness was similar between seasons, but greater dominance (*D*) occurred during the rainy season than the dry season, particularly because the most abundant species, *H. cruentata*, tripled its abundance ($N_{dry} = 92$, $N_{rainy} = 281$). In addition, during the dry season, *D* in cloud forest streams was significantly greater than urban streams. This resulted because there were only four species in urban streams with only one or two individuals collected per species, but during the rainy season there were five species, of which two were very abundant (*H. cruentata* and *A. lacrimans*).

Variations in Odonata assemblages with land use

Our findings suggest that the influence of human impacts on the habitat and water quality conditions of the streams in the La Antigua River upper watershed are reflected in the Odonata assemblages. In cloud forest streams, Calopterygidae dominated the assemblage, while there was a more even distribution among the Cordulegastridae, Aeshnidae, Libellulidae, and Coenagrionidae, and with minor representation, the Gomphidae. The burrowing Cordulegastridae

were mainly found in forest streams, and this is related to its preference for small shaded streams with abundant riparian vegetation, as adults perch on vegetation with greater vertical height (Ormerod et al., 1990). In streams with open and sunny channels, those in pastures and coffee plantations, the Libellulidae increased their abundance at the expense of the Aeshnidae and Cordulegastridae. In wider third order streams (two of the coffee plantation streams) where there has been even more erosion and sediment deposition, as well as more open canopy, the burrowing Gomphidae were more abundant, while Calopterygidae and Coenagrionidae were less abundant. Nonetheless, in the conditions provided by urban streams, the Calopterygidae and Coenagrionidae increased in abundance at the expense of the Gomphidae and Libellulidae, though the coenagrionids *A. ulmeca*, *Argia* spp. 1-3 in cloud forest streams were replaced by *A. anceps*, *A. extranea*, *A. lacrimans*, and *I. denticollis* in urban streams. Platystyctidae only appeared in C2, representing only 2.4% of the total Odonata assemblage collected in this stream. Urban streams were dominated by clasper species attached to shoreline plant roots, as there was little available microhabitat for epifaunal establishment in the center of the channel (Remsburg & Turner, 2009).

More species were observed in pasture and coffee plantation streams than in forest and urban streams. The species absent in forest streams, but present in pasture and coffee plantation streams were: *Brechmorhoga tepeaca*, *Argia anceps*, *Erpetogomphus viperinus*, *Phyllogomphoides suasus* and *Palaemnema* sp. The first two genera have been found indicators of water quality alterations derived from coffee mill processing in Costa Rica (Fernández & Springer, 2008). The Gomphidae *E. viperinus* and *Ph. suasus* in our study were associated with sediments found particularly on coffee plantation streams. Therefore, the increased richness in pasture and coffee plantation streams is a result of the altered water quality of these types of streams, which for urban streams the opposite occurred; there was less richness because of the worse water quality conditions. At the family level there were little differences for the family number between the streams from different land use microwatersheds. This coincides with other studies that suggest the more specific the taxonomic resolution, the greater the detection capacity for more subtle differences (Guerold, 2000; Hawkins et al., 2000).

The species associated with forest streams were *O. armata* (Aeshnidae), *C. diadema* (Cordulegastridae), and *H. vulnerata* (Calopterygidae). Most Aeshnidae have been rated as

indicators of unpolluted streams (Corbet, 1999). *Oplonaeshna armata* and *C. diadema* require approximately two years to complete their aquatic development, so their presence could suggest that the aquatic conditions of forest streams has not changed for the last two years. *Hetaerina vulnerata* was found by Astudillo-Aldana (2009) to be more abundant in a less chemically disturbed site of the Huehueyapan River, which belongs to the same watershed of La Antigua, in comparison with a more chemically disturbed site of the same river. Some water chemistry parameters between the forest and pasture streams were similar, although temperature varied (from 2 to 6°C), being cooler in cloud forest streams. Temperature could be a limiting factor for the three species that were associated only with cloud forest streams. Apart from temperature, it is possible that the scarcity of riparian trees in pastures could have reduced the presence of some species in these sites, such as *Cordulegaster*, which uses trees near the shore as adult emergence sites (Ormerod et al., 1990).

Hetaerina capitalis (Calopterygidae), *A. anceps*, *A. ulmeca*, *Argia* sp. 1 and *Argia* sp. 3 (Coenagrionidae), occurred mostly in forest and pasture streams. In general, some Calopterygidae species are common in sites with little or no disturbed forests (Esquivel, 1997). *Hetaerina capitalis* inhabits mountainous shaded streams running through cloud forests (Novelo-Gutiérrez, 2000). *Argia ulmeca* has been previously found inhabiting small rocky streams (Novelo-Gutiérrez, 1992), such as the cloud forest and pasture streams in this survey. On the other hand, *H. cruentata* may be capable of adapting to anthropogenic perturbations, being abundant in most stream reaches studied, except in the undisturbed ones, namely cloud forest, suggesting that water temperature and insolation could be important determinants for this species. Astudillo-Aldana (2009) also found this species very abundant in the two sites on the Huehueyapan River.

In pastures and coffee plantations there was a reduction of shade over the water providing more open sunny areas that benefits libellulid development (Fulan et al., 2011). This family has been considered indicative of both clean, unpolluted streams and those that are organically polluted (Corbet, 1999). *Erpetogomphus viperinus* and *Ph. suassus* (Gomphidae) and *Palaemnema* sp. (Platystictidae) were best represented in streams flowing through coffee plantations. Gomphidae larvae burrow in sand and mud substrates (McPeak, 2008) which characterized coffee plantation streams, but were scarcely present in urban streams. More degraded waters may have more toxic substances in the sediments that are diluted in the water

column. As well, burrowers (which are more sedentary) may find it more difficult to extract oxygen from such sediments, compared to other species that are more active and exposed.

Species more tolerant to organic enrichment were found in urban streams. Odonata assemblages from these streams had more species with lower abundance and fewer, but more abundant species. *Argia extranea* (an uncommon species in this study, only found in U2), *A. lacrimans*, and *I. denticollis* (a rare species in this study, only found in U3) are coenagrionids, and indicative of unpolluted streams. *Argia* has been considered somewhat pollution-tolerant (Corbet, 1999). *Ischnura* can generally tolerate a wide range of chemical conditions, including high organic loading (Hilsenhoff, 1991), and low oxygen (Solimini et al., 1997). Given the organic pollution indicators in the urban streams studied, this condition may be beneficial for some tolerant odonates, such as *Ischnura* sp., as there would be sufficient prey that also benefit from the organic pollution, such as chironomid larvae (Thompson, 1978).

Compared to the other stream categories examined, urban streams had the most different species composition. Urban streams also had the lowest habitat scores and the lowest Odonata species richness. These results could occur if there was little suitable substrate and scarce riparian vegetation. Other studies have also shown that in urban streams there is a frequent decrease in the availability of habitat structure and channel features that can act as cover for aquatic biota (Booth & Jackson, 1997; Finkenbine et al., 2000). Odonata larvae can be influenced by changes in vegetation structure in both aquatic and riparian habitats (Remsburg & Turner, 2009; Campbell & Novelo-Gutiérrez, 2007).

Historically, it is likely that the streams in the La Antigua upper watershed shared a common species pool that has been modified by landscape fragmentation due to anthropogenic land use. Thus, the biotic assemblages present in streams draining tropical montane cloud forest areas, vegetation which once dominated the region, are reference systems. Overall, our results showed that the habitat characteristics and the stream chemistry from different land use micro-watersheds likely shaped the Odonata assemblages, according to habitat use and species tolerance towards the physical and chemical water alterations. Between seasons, the larval assemblage effects were consistent with the dilution of chemicals in the rainy season.

Our results indicate that, in comparison with cloud forest streams, the most chemically and physically altered streams (urban) caused a larger impact on the Odonata larvae assemblages composition, followed by coffee plantation streams, and then pasture streams. The principal

factors influencing Odonata assemblages were riparian habitat simplification, water temperature, organic enrichment, and sedimentation. The results showed that some larval Odonata species in the La Antigua River upper watershed could be considered indicators of reference cloud forest streams in the region, while others could be considered as indicators of altered streams, and others as indicators of anthropogenic disturbances in the region. These data provide support for the importance of conserving biodiversity of streams draining montane cloud forests.

Acknowledgements

This study received support from the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), through a doctoral research grant (No. 168443) to the first author and by the project 101542. We thank Ariadna Martínez Virués and Daniela Cela Cadena for their support in conducting laboratory analyses. We appreciate the invaluable field assistance, suggestions and comments to this study from José Antonio Gómez Anaya and to Javier Tolome Romero for his support in field sampling. We also thank Rosario Landgrave for her GIS analysis of the study. We thank to Alonso Ramirez for the revision of this study. Special thanks are due to W. Bruce Campbell for his comments and English revision.

References

- APHA (American Public Health Association). (1998). *Standard methods for the examination of water and wastewater* (20th ed). APHA-AWWA-WEF. Washington D.C., USA.
- Arellano, R.G. (2000). Pérdida de suelo y nutrientes en agroecosistemas de café en la subcuenca del río Castán, Trujillo-Venezuela. *Revista Forestal Venezolana*, 44, 79–86.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). (1990). *Official methods of analysis of the association of official analytical chemists* (15th ed.). W. Byrds Press, Virginia, USA.
- Astudillo-Aldana, M.R. (2009). *Diversidad Filogenética de Odonata (Insecta) en el Río Huehueyapan en Coatepec, Veracruz, México y su Relación con Factores Físico-químicos*. M.Sc. Thesis. Instituto de Ecología, A.C. Xalapa, Mexico.
- Azrina, M.Z., C.K. Yap, A. Rahim Ismail, A. Ismail, & S.G. Tan. 2006. Anthropogenic impacts on the distribution and biodiversity of benthic macroinvertebrates and water quality of the Langat River, Peninsular Malaysia. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 64, 337–347.
- Barbour, M.T., Gerritsen, J., Snyder, B.D., & Stribling, J.B. (1999). *Rapid bioassessment protocols for use in streams and wadeable rivers: Periphyton, benthic macroinvertebrates and fish* (2nd ed.). EPA 841-B-99-002. U.S. Environmental Protection Agency; Office of Water; Washington, D.C.
- Beavan, L., Sadler, J., & Pinder, C. (2001). The invertebrate fauna of a physically modified urban river. *Hydrobiologia*, 445, 97–108.
- Belsky, A.J., Matzke, A., & Uselman, S. (1999). Survey of livestock influences on stream and riparian ecosystems in the Western United States. *Journal of Soil and Water Conservation*, 54, 419–431.
- Bonell, M., Hufschmidt, M.M., & Gladwell, J.S. (2005). *Hydrology and water management in the humid tropics*. Cambridge University Press, New York, USA.
- Booth, D.B., & Jackson, C.R. (1997). Urbanization of aquatic systems: degradation thresholds, stormwater detection, and the limits of mitigation. *Journal of American Water Resources Association*, 33, 1077–1090.
- Briers, R.A., & Biggs, J. (2003). Indicator taxa for the conservation of pond invertebrate diversity. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 13, 323–330.
- Bruijnzeel, L.A., Scatena, F.N., & Hamilton, L.S. (2010). *Tropical montane cloud forest*. Cambridge University Press, Cambridge.

- Bubb, P., May, I., Miles, L., & Sayer, J. (2004). *Cloud forest agenda*. – UNEP-WCMC, Cambridge, UK.
- Bücker, A., Sondermann, M., Frede, H.G., & Breuer, L. (2010). The influence of land-use on macroinvertebrate communities in montane tropical streams – a case study from Ecuador. *Fundamental and Applied Limnology / Archiv für Hydrobiologie*, 177, 267–282.
- Butler, R.G., & de Maynadier, P.G. (2008). The significance of littoral and shoreline habitat integrity to the conservation of lacustrine damselflies (Odonata). *Journal of Insect Conservation*, 12, 23–36.
- Campbell, W.B., & Novelo-Gutiérrez, R. (2007). Reduction in odonate phylogenetic diversity associated with dam impoundment is revealed using taxonomic distinctness. *Fundamental and Applied Limnology / Archiv für Hydrobiologie*, 168, 83–92.
- Catling, P.M. (2005). A potential for the use of dragonfly (Odonata) diversity as a bioindicator of the efficiency of sewage lagoons. *Canadian Field-Naturalist*, 119, 233–236.
- Clark, T.E., & Samways, M.J. (1996). Dragonflies (Odonata) as indicators of biotope quality in the Kruger National Park, South Africa. *Journal of Applied Ecology*, 33, 1001–1012.
- Clausnitzer, V., Dijkstra, K.D., & Kalkman, V. (2012). Studying tropical dragonflies and damselflies. Retrieved from <http://www.asia-dragonfly.net>.
- Colwell, R.K. (2009). EstimateS: statistical estimation of species richness and shared species from samples. Version 8.2. User's Guide and application. Retrieved from <http://purl.oclc.org/estimates>.
- Corbet, P.S. (1993). Are Odonata useful as bioindicators? *Libellula*, 12, 91–102.
- Corbet, P.S. (1999). *Dragonflies: Behavior and ecology of Odonata*. Cornell University Press, Ithaca, New York, USA.
- Esquivel, C. (1997). Calopterygidae. In: A. Solís (Ed.), *Las Familias de Insectos de Costa Rica*. INBio. <http://www.inbio.ac.cr/papers/insectoscr/Texto220.html>.
- Fernández, L., & M. Springer. (2008). El efecto del beneficiado del café sobre los insectos acuáticos en tres ríos del Valle Central (Alajuela) de Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*, 56: 237–256.
- Finkenbine, J.K., Atwater, J.W., & Mavinic, D.S. (2000). Stream health after urbanization. *Journal of the American Water Resources Association*, 36, 1149–1160.

- Fulan, J.A., Henry, R., & Sousa, R.C.D. (2011). Effects of daily changes in environmental factors on the abundance and richness of Odonata. *Acta Limnologica Brasiliensis*, 23, 23–29.
- González-Soriano, E., & Novelo-Gutiérrez, R. (1996). Odonata. In: J. Llorente-Bousquets, A.N. García-Aldrete, & E. González-Soriano (Eds.), *Biodiversidad, taxonomía y biogeografía de los artrópodos de México: Hacia una síntesis de su conocimiento* (pp. 147–167). UNAM & CONABIO, México, D.F.
- Gray, L. (2004). Changes in water quality and macroinvertebrate communities resulting from urban stormflows in the Provo River, Utah, U.S.A. *Hydrobiologia*, 518, 33–46.
- Guadarrama-Zugasti, C. (2000). *The transformation of coffee farming in Central Veracruz, Mexico: sustainable strategies?* Ph.D. Thesis, University of California, Santa Cruz, USA.
- Guerold, F. (2000). Influence of taxonomic determination level on several community indices. *Water Research*, 34, 487–492.
- Hauer, F., & Lamberti, G. (1996). *Methods in stream ecology*. Academic Press, New York, New York, USA.
- Hawkins, C.P., Norris, R.H., Hogue, J.N., & Feminella, J.W. (2000). Development and evaluation of predictive models for measuring the biological integrity of streams. *Ecological Applications*, 10, 1456–1477.
- Hering, D., Johnson, R.K., Kramm, S., Schmutz, S., Szoszkiewicz, K. & Verdonschot, P.F.M. (2006). Assessment of European streams with diatoms, macrophytes, macroinvertebrates and fish: a comparative metric-based analysis of organism response to stress. *Freshwater Biology*, 51, 1757–1785.
- Hilsenhoff, W.L. (1991). Diversity and classification of insects and Collembola. In: J.H. Thorp & A.P. Covich (Eds.), *Ecology and Classification of North American Invertebrates* (pp. 593–663). Academic Press, San Diego, California, USA.
- Hubbard, R.K., Newton, G.L., & Hill, G.M. (2004). Water quality and the grazing animal. *Journal of Animal Science*, 82, 255–263.
- Korkeamäki, E., & Suhonen, J. (2002). Distribution and habitat specialization of species affect local extinction in dragonfly Odonata populations. *Ecography*, 25, 459–465.
- Kovach, W.L. (1999). *MVSP-A multivariate statistical package for windows, ver. 3.1*. Kovach Computing Services, Pentraeth, Wales, UK.

- McCune, B., & Mefford, M.J. (2005). *PC-ORD. Version 5.0. Multivariate analysis of ecological data*. MjM Software Design. Glenden Beach, Oregon, USA.
- McPeek, M.A. (2008). Ecological factors limiting the distributions and abundances of Odonata. In: Córdoba-Aguilar, A. (Ed.). *Dragonflies and damselflies: model organisms for ecological and evolutionary research* (pp. 51–62). Oxford University Press.
- Muñoz-Villers, L.E., & López-Blanco, J. (2008). Land use/cover changes using Landsat TM/ETM images in a tropical and biodiverse mountainous area of central-eastern Mexico. *International Journal of Remote Sensing*, 29, 71–93.
- Novelo-Gutiérrez, R. (1992). Biosystematics of the larvae of the genus *Argia* in México (Zygoptera: Coenagrionidae). *Odonatologica*, 21, 39–71.
- Novelo-Gutiérrez, R. (2000). Description of the larva of *Hetaerina infecta* Calvert (Odonata: Calopterygidae). *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, 102, 99–104.
- Oertli, B. (2008). The use of dragonflies in the assessment and monitoring of aquatic hábitats. In: A. Córdoba-Aguilar (Ed.), *Dragonflies and damselflies: model organisms for ecological and evolutionary research* (pp. 79–95). Oxford University Press.
- Oppel, S. (2005). Habitat associations of an Odonata community in a lower montane rainforest in Papua New Guinea. *International Journal of Odonatology*, 8, 243–257.
- Ormerod, S.J., Weatherley, N.S., & Merret, W.J. (1990). The influence of conifer plantations on the distribution of the golden ringed dragonfly *Cordulegaster boltoni* (Odonata) in upland Wales (UK). *Biological Conservation*, 53, 241–252.
- Osborne, L.L., & Kovacic, D.A. (1993). Riparian vegetated buffer strips in water quality restoration and stream management. *Freshwater Biology*, 29, 243–258.
- Remsburg, A.J., & Turner, M.G. (2009). Aquatic and terrestrial drivers of dragonfly (Odonata) assemblages within and among north-temperate lakes. *Journal of the North American Benthological Society*, 28, 44–56.
- Systat Software Inc. (2006). *SigmaStat for windows* (version 3.5). Chicago, IL, USA.
- Schindler, M., Fesl, C., & Chovanec, A. (2003). Dragonfly associations (Insecta: Odonata) in relation to habitat variables: a multivariate approach. *Hydrobiologia*, 497, 169–180.
- Solimini, A.G., Tarallo, G.A., & Carchini, G. (1997). Life history and species composition of the damselfly assemblage along the urban tract of a river in central Italy. *Hydrobiologia*, 356, 21–32.

- Stewart, D.A.B., & Samways, M.J. (1998). Conserving dragonfly (Odonata) assemblages relative to river dynamics in an African savanna game reserve. *Conservation Biology*, 12, 683-692.
- Strayer, D.L., Beighley, R.E., Thompson, L.C., Brooks, S., Nilsson, C., Pinay, G., & Naiman, R.J. (2003). Effects of land cover on stream ecosystems: roles of empirical models and scaling issues. *Ecosystems*, 6, 407–423.
- Thompson, D.J. (1978). Prey size selection by larvae of the damselfly, *Ischnura elegans* (Odonata). *Journal of Animal Ecology*, 47, 769–785.
- Vázquez, G., Aké-Castillo, J.A., & Favila, M.E. (2011). Algal assemblages and their relationship with water quality in tropical Mexican streams with different land uses. *Hydrobiologia*, 667, 173–189.
- Walsh, C.J., Roy, A.H., Fominella, J.W., Cottingham, P.D., Groffman, P.M., & Morgan II, M.P. (2005). The urban stream syndrome: current knowledge and the search for a cure. *Journal of North American Benthological Society*, 24, 706–723.
- Watson, J.A.L., Arthington, A.H., & Conrick, D.L. (1982). Effect of sewage effluent on dragonflies (Odonata) of Bulimba Creek, Brisbane. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research*, 33, 517–528.
- Williams-Linera, G. (2007). *El bosque de niebla del centro de Veracruz: ecología, historia y destino en tiempos de fragmentación y cambio climático*. Instituto de Ecología, A.C. CONABIO, México.

Table 1. Average values of physicochemical variables (\pm standard error) in the studied streams in the La Antigua river upper watershed
(F = cloud forest, P = pasture, C = coffee plantation, U = mixed urban influence).

Stream	Temp	DO	pH	Cond	Tss	Alk	NH_4^+	$\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$	TP	Cl^-	SO_4^{2-}	Si	Na^+	K^+	Ca^{2+}	Mg^{2+}
	(°C)	(mg l ⁻¹)		($\mu\text{S cm}^{-1}$)	(mg l ⁻¹)	(CaCO ₃ mg l ⁻¹)	(mg l ⁻¹)	(mg l ⁻¹)	(mg l ⁻¹)	(mg l ⁻¹)	(mg l ⁻¹)	(mg l ⁻¹)	(mg l ⁻¹)	(mg l ⁻¹)	(mg l ⁻¹)	(mg l ⁻¹)
F1	14.83 (0.27)	7.30 (0.16)	6.78 (0.09)	25.51 (0.42)	6.05 (1.14)	16.19 (0.69)	0.02 (0.004)	1.33 (0.04)	0.06 (0.01)	3.80 (0.21)	3.34 (0.31)	25.02 (0.28)	0.96 (0.37)	0 (0) (0.37)	7.80 (2.20)	2.03 (0.37)
	12.09 (0.52)	7.87 (0.20)	6.56 (0.21)	27.13 (0.77)	6.0 (2.09)	18.13 (0.30)	0.10 (0.02)	1.23 (0.03)	0.07 (0.01)	4.31 (0.09)	3.45 (0.37)	23.47 (0.36)	0.91 (0.34)	0.09 (0.04)	2.67 (1.51)	1.24 (0.26)
F2	13.85 (0.14)	6.74 (0.31)	6.70 (0.13)	17.65 (0.31)	14.34 (6.38)	12.30 (0.55)	0.03 (0.01)	1.0 (0.05)	0.03 (0.004)	4.19 (0.14)	3.42 (0.31)	23.07 (0.31)	0.81 (0.31)	0.03 (0.03)	4.90 (1.51)	0.86 (0.05)
	19.06 (0.36)	6.25 (0.22)	7.71 (0.06)	72.62 (0.30)	2.0 (0.25)	44.52 (1.26)	0.15 (0.03)	0.22 (0.02)	0.11 (0.03)	4.39 (0.19)	3.69 (0.43)	37.90 (2.01)	3.27 (0.36)	0.54 (0.19)	4.52 (1.05)	1.97 (0.72)
P1	16.72 (0.30)	6.17 (0.31)	6.89 (0.13)	24.75 (0.47)	3.0 (0.30)	17.18 (0.17)	0.05 (0.01)	0.33 (0.05)	0.42 (0.22)	4.54 (0.26)	3.52 (0.44)	26.01 (0.86)	1.01 (0.39)	0.06 (0.04)	4.48 (1.73)	2.29 (0.86)
	16.92 (0.18)	6.86 (0.08)	7.09 (0.03)	51.09 (0.42)	5.12 (0.56)	34.22 (0.15)	0.16 (0.04)	0.17 (0.03)	0.05 (0.01)	4.13 (0.15)	3.56 (0.36)	30.64 (0.85)	1.31 (0.50)	0.06 (0.04)	5.77 (1.41)	3.11 (0.76)
P2	19.73 (0.13)	6.00 (0.30)	7.91 (0.04)	110.30 (1.17)	21.72 (6.11)	57.16 (1.31)	0.14 (0.01)	5.33 (0.18)	0.13 (0.02)	4.75 (0.25)	3.46 (0.31)	32.38 (0.26)	3.32 (0.90)	0.17 (0.08)	7.08 (1.27)	3.69 (0.97)
	18.10 (0.25)	6.72 (0.27)	6.89 (0.13)	68.27 (1.48)	15.13 (1.39)	35.85 (0.59)	0.15 (0.03)	3.74 (0.24)	0.04 (0.01)	4.69 (0.22)	4.06 (0.36)	36.36 (2.31)	3.72 (0.80)	0.76 (0.29)	6.37 (0.31)	2.48 (0.28)
C3	18.95 (0.19)	6.51 (0.25)	7.48 (0.03)	74.75 (0.23)	5.58 (0.24)	38.28 (0.72)	0.28 (0.06)	4.19 (0.16)	0.08 (0.01)	5.06 (0.38)	3.61 (0.25)	36.87 (1.09)	3.76 (0.55)	0.32 (0.12)	7.55 (0.04)	2.99 (0.21)
	18.45 (0.14)	5.44 (0.05)	7.12 (0.13)	59.42 (0.50)	24.0 (7.86)	31.93 (0.50)	0.27 (0.005)	1.66 (0.04)	0.31 (0.09)	4.87 (0.20)	3.92 (0.56)	36.73 (0.51)	4.67 (0.77)	0.51 (0.30)	5.84 (0.89)	2.35 (0.17)
U2	20.43 (0.07)	1.04 (0.14)	7.17 (0.07)	234.78 (15.96)	31.0 (5.74)	48.06 (6.17)	7.73 (1.59)	0.52 (0.04)	1.99 (0.09)	16.16 (1.17)	30.08 (5.41)	74.25 (3.35)	12.44 (3.56)	7.33 (1.11)	10.62 (0.93)	2.59 (0.27)
	20.36 (4.16)	4.04 (0.13)	6.79 (1.39)	64.32 (1.33)	18.04 (5.63)	29.12 (7.28)	0.33 (0.03)	3.68 (0.04)	0.15 (0.02)	5.25 (0.20)	3.91 (0.29)	27.62 (0.29)	3.90 (0.20)	0.66 (0.65)	4.07 (0.25)	1.31 (0.36)
U3																

Table 2. Physical characterization of the riparian and instream habitats for each 100 m stream reach. Abbreviations: t = trees, s = shrubs, h = herbs, g = grass. Numbers represent the scores of the visual evaluation of ten metrics from scale 0 to 20; scores increase as habitat quality increases: poor 0-5; marginal 6-10; sub-optimal 11-15; optimal 16-20 (F = cloud forest, P = pasture land, C = coffee plantation, U = urban). Bank characteristics are the result of summing the right and left banks.

	Pool		Channel					Bank		Riparian vegetation				
	Stream	Substrate Characterization Variability	Flow status	Alteration	Sinuosity	Substrate for epifauna	Sediment deposition	Stability	Vegetative protection	Vegetative zone width	TOTAL SCORES	Strata dominance	Strata present	Canopy cover
F1	19	8	4	20	7	20	10	18	20	20	146	t	tsh	75-100
F2	8	8	9	20	14	17	17	20	18	20	151	t	tsh	75-100
F3	15	9	8	20	17	18	9	18	18	20	152	tsh	tsh	75-100
F Mean	14.0	8.3	7	20	12.7	8.3	12	18.7	18.7	20	149.7	---	---	---
P1	8	7	3	20	6	13	2	8	0	0	67	g	tg	0-25
P2	19	14	10	20	18	18	6	12	1	0	118	g	tg	0-25
P3	14	9	9	20	8	14	9	14	12	0	109	g	tshg	50-75
P Mean	13.7	10.0	7.3	20	10.7	15	5.7	11.3	4.3	0	98.0	---	---	---
C1	8	10	9	20	6	18	3	4	14	2	94	tshg	tshg	50-75
C2	12	12	2	20	14	15	13	12	2	20	122	tshg	tshg	25-50
C3	10	14	7	17	10	7	2	0	12	20	99	ts	tshg	50-75
C Mean	10.0	12.0	6	19	10	13.3	6	5.3	9.3	14	105.0	---	---	---
U1	6	0	15	5	2	5	7	20	1	0	46	g	tg	25-50
U2	10	10	8	14	10	13	5	10	9	16	105	ts	tsg	50-75
U3	14	9	5	18	15	10	10	4	6	2	93	sg	tsg	25-50
U Mean	10.0	6.3	9.3	12.3	9	9.3	7.3	11.3	5.3	6	81.3	---	---	---

Table 3. Odonata species presence and relative abundance in the la Antigua River upper watershed streams during the dry (D) and rainy (R) seasons (F = cloud forest, P = pasture land, C = coffee plantation, U = urban).

	F1	F2	F3	P1	P2	P3	C1	C2	C3	U1	U2	U3	Relative abundance (%)	
	D	R	D	R	D	R	D	R	D	R	D	R	D	R
Zygoptera														
Calopterygidae														
<i>Hetaerina capitalis</i> Selys	X	X			X	X	X	X	X	X				6.6
<i>Hetaerina cruentata</i> Rambur					X	X	X	X	X	X	X	X	X	31.7
<i>Hetaerina vulnerata</i> Hagen	X	X	X	X	X	X								15.9
Total														54.2
Coenagrionidae														
<i>Argia anceps</i> Garrison					X				X	X			X	0.9
<i>Argia extranea</i> Hagen											X			0.7
<i>Argia lacrimans</i> Hagen	X	X			X	X	X	X	X	X			X	5.9
<i>Argia ulmeca</i> Calvert					X	X								0.2
<i>Argia</i> sp. 1	X	X			X	X	X	X	X	X				1.4
<i>Argia</i> sp. 2					X	X	X		X		X			0.5
<i>Argia</i> sp. 3	X	X				X	X			X				2.3
<i>Ischnura denticollis</i> Burmeister											X			0.1
Total														12
Platystictidae														
<i>Palaemnema</i> sp.									X	X				0.2
Total														0.2
Anisoptera														
Aeshnidae														
<i>Oplonaeschna armata</i> Hagen			X	X	X	X								3.0
Total														3.0
Gomphidae														
<i>Erpetogomphus boa</i> Selys	X	X			X	X	X	X	X	X				4.3
<i>Erpetogomphus viperinus</i> Selys							X	X	X	X				6.2
<i>Phyllogomphoides suasus</i> Selys							X	X	X	X		X		0.8
Total														11.3
Cordulegastridae														
<i>Cordulegaster diadema</i> Selys	X	X	X	X	X	X		X						3.0
Total														3.0
Libellulidae														
<i>Brechmorhoga pertinax</i> Hagen	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		10.4

Brechmorhoga tepeaca Calvert
Total

X X X X X X X X
6.2
16.6

Figure captions

Figure 1. Location of the sampling sites within the La Antigua upper river catchment, in Veracruz, Mexico (F = forest, P = pasture, C = coffee plantation, U = urban).

Figure 2. (a) Water discharge between seasons, indicating the mean (horizontal dashed line), median (horizontal solid line), and outliers (black small circles). (b) Average stream discharge (\pm standard error) in the dry (April) and rainy seasons (October) (F = forest, P = pasture, C = coffee plantation, U = urban).

Figure 3. (a) Relative abundance of Odonata families, and (b) relative abundance of different Odonata habits in the studied streams grouped by land use in the La Antigua upper watershed. F = forest, P = pasture, C = coffee plantation, U = urban.

Figure 4. Dominance, evenness (\pm standard error) and Odonata species abundance between the dry (black columns) and rainy seasons (grey columns) for the studied streams grouped by land use in the La Antigua upper watershed: (a) Simpson's Index, letters denote differences of the interaction land use \times season, (b) Pielou's Index, (c) Rank abundance plots for the species assemblages among land uses between seasons. *Hetaerina cruentata* (1), *Hetaerina vulnerata* (2), *Brechmorhoga pertinax* (3), *Hetaerina capitalis* (4), *Brechmorhoga tepeaca* (5), *Erpetogomphus viperinus* (6), *Argia lacrimans* (7), *Erpetogomphus boa* (8), *Cordulegaster diadema* (9), *Oplonaeshna armata* (10), *Argia* sp. 3 (11), *Argia* sp. 1 (12), *Argia anceps* (13), *Phyllogomphoides suasus* (14), *Argia extranea* (15), *Argia* sp. 2 (16), *Argia ulmeca* (17), *Palaemnema* sp. (18), *I. denticollis* (19). F = forest, P = pasture, C = coffee plantation, U = urban.

Figure 5. Cluster dendrogram based on Sorenson's Similarity Index for the Odonata larvae (species presence/absence) from 12 streams sites in La Antigua upper watershed. F= forest, P= pasture, C= coffee plantation, U= urban.

Figure 6. CCA biplots showing (a) water quality parameters and streams, and (b) Odonata species (based on mean individuals per sample) and water quality parameters. Stream codes: F = forest, P = pasture, C = coffee plantation, U = urban. Season codes: D = dry, R = rainy. Environmental codes: Tss = total suspended solids, Alk = alkalinity, $\text{NO}_3 + \text{NO}_2$ = nitrate + nitrite, TP = total phosphorus, DO = dissolved oxygen, Cond = conductivity, Temp = temperature, SO_4 = sulfate.

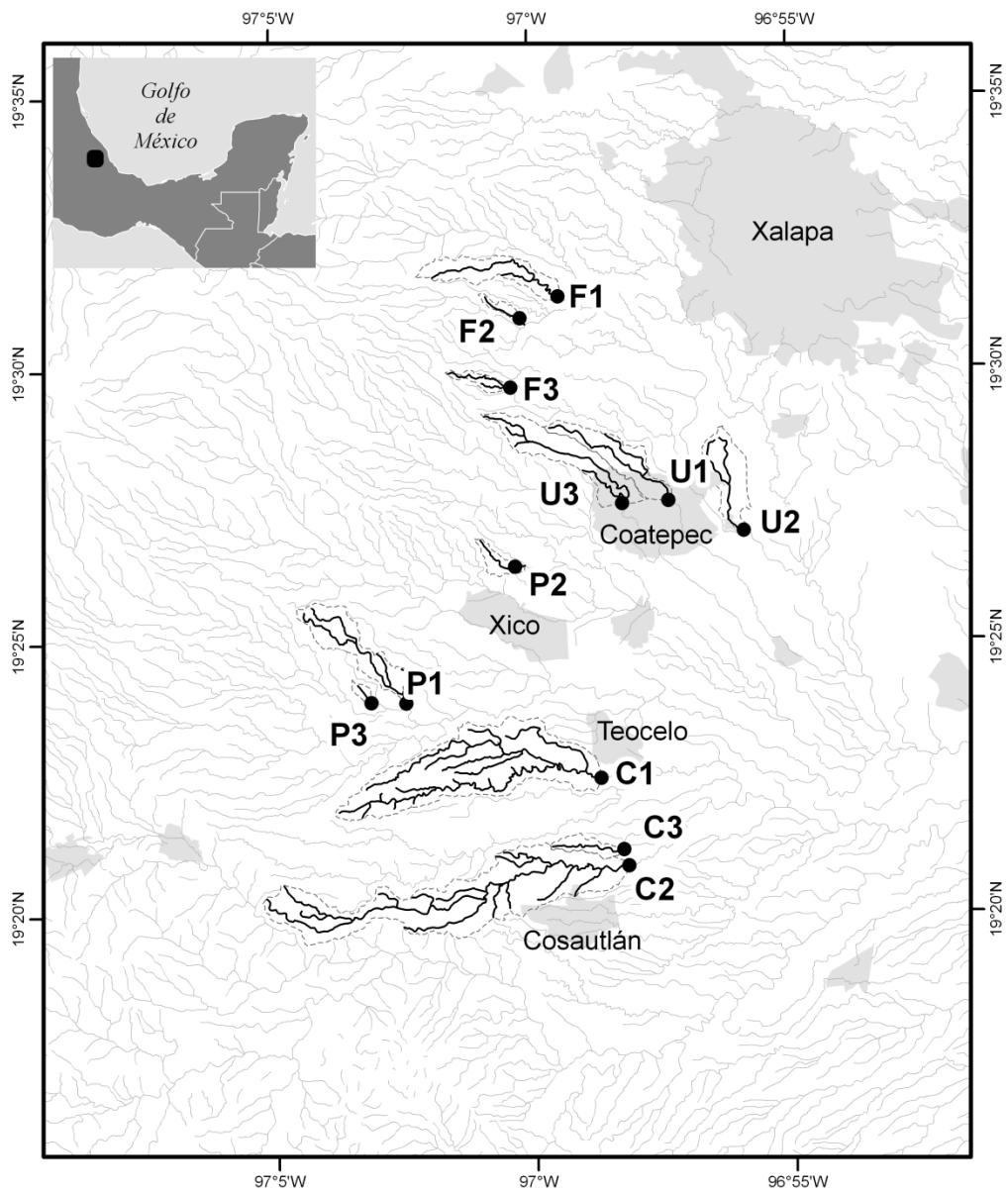


Figure 1.

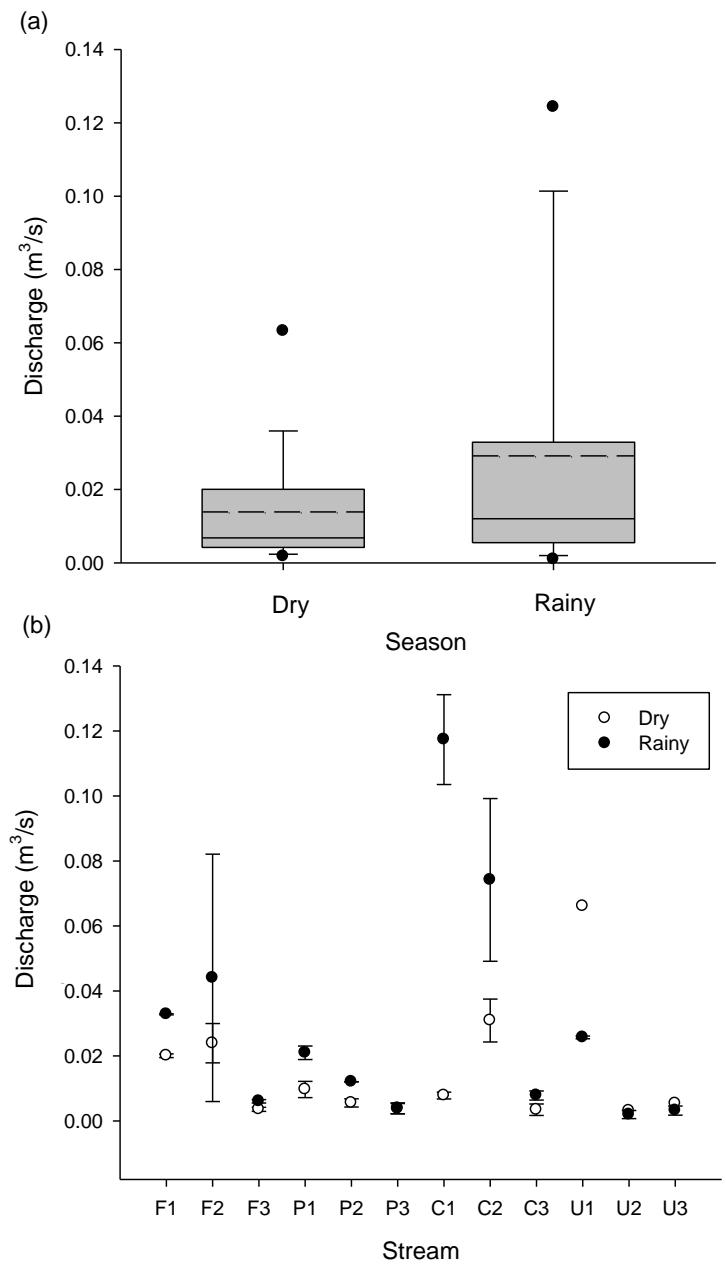


Figure 2.

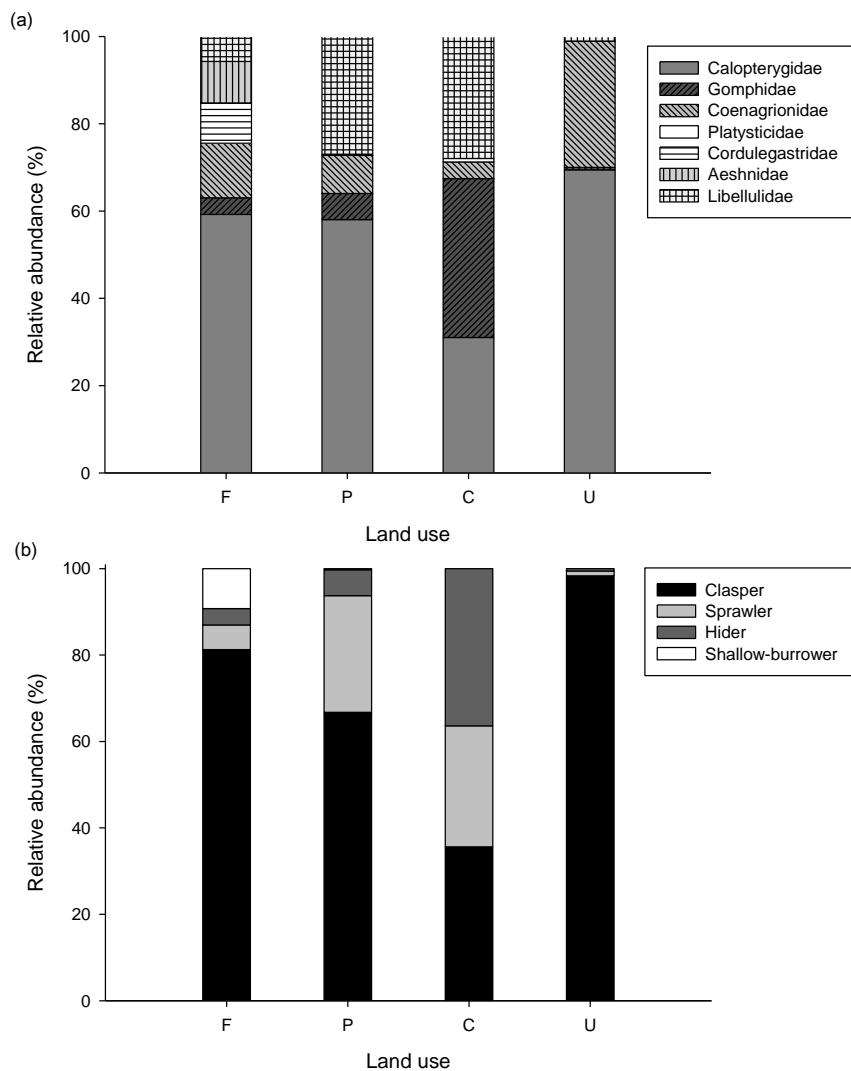


Figure 3.

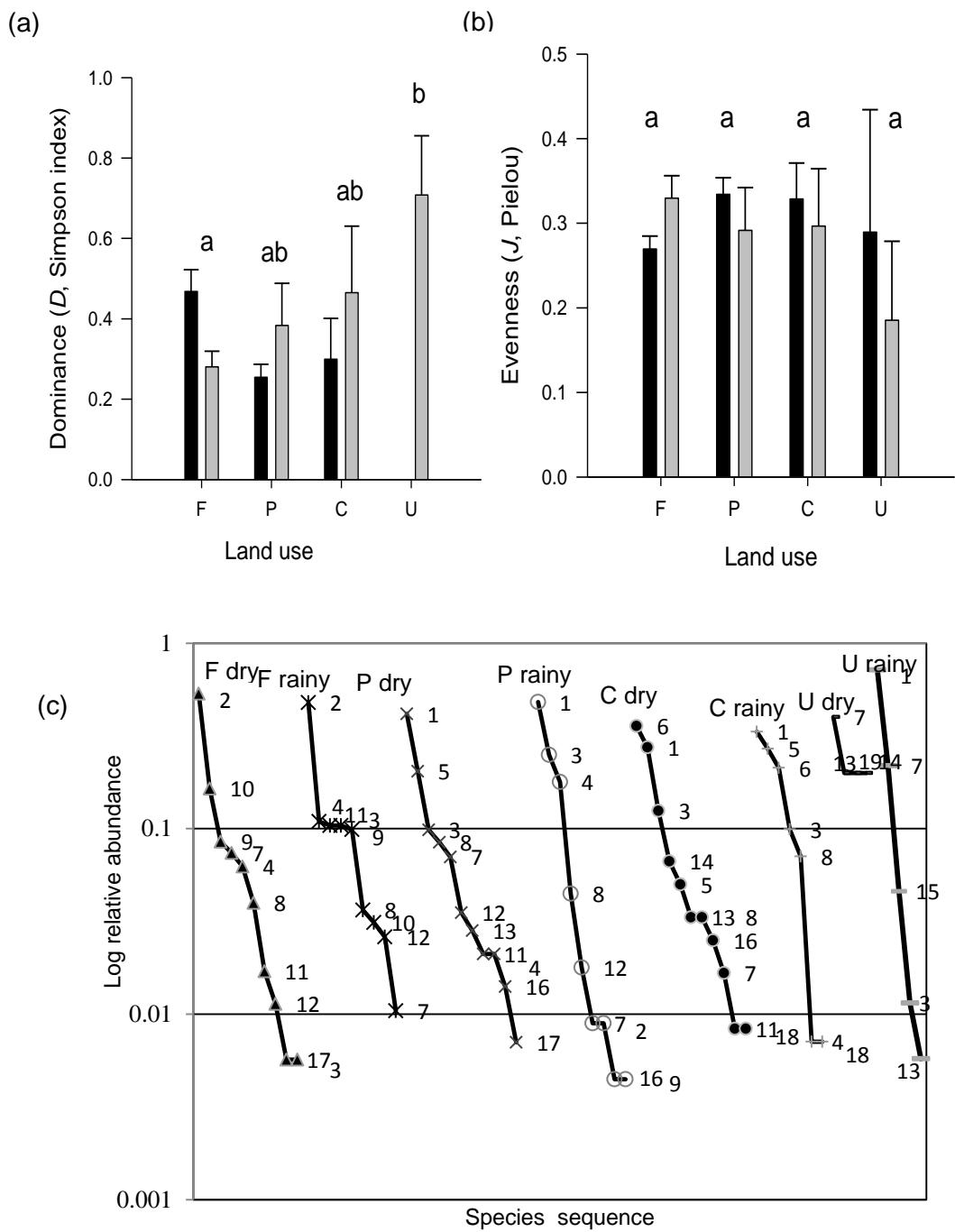


Figure 4.

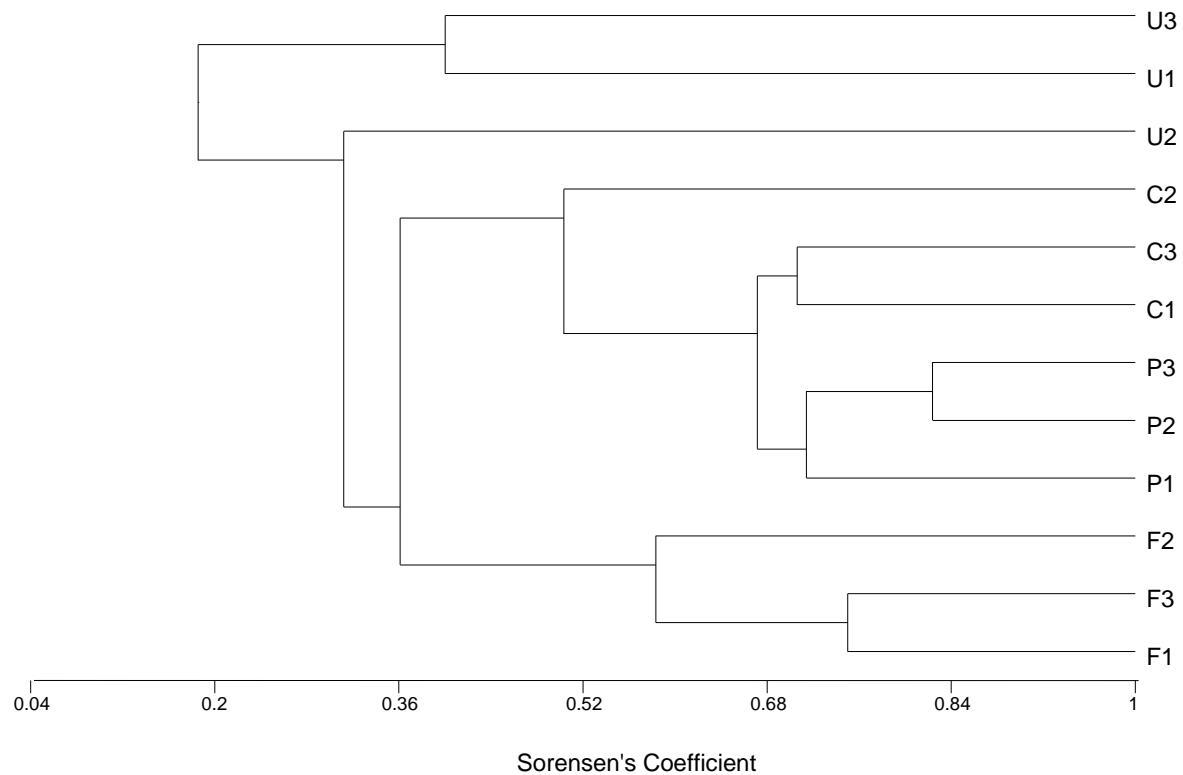


Figure 5.

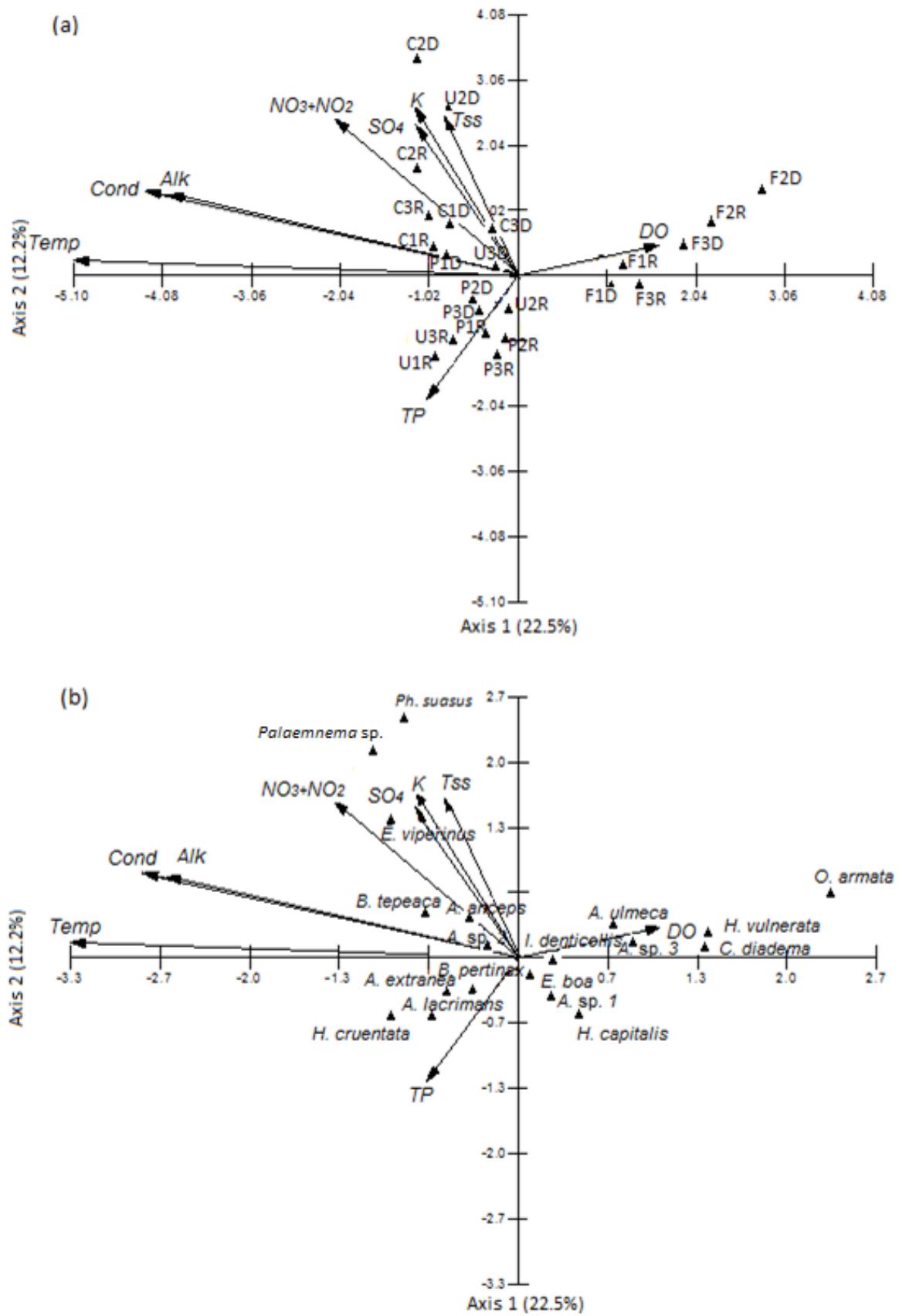


Figure 6.

CAPÍTULO 4

**Efectos del uso de suelo sobre los ensamblajes de macroinvertebrados en la cuenca alta del
río La Antigua, Ver.**

En preparación

Resumen

El cambio de uso de suelo en la cuenca alta del río la Antigua ha alterado las características fisicoquímicas de los ríos y arroyos que drenan en la región. El objetivo de este estudio fue conocer los efectos en doce arroyos de microcuenca con distintos usos de suelo (bosque, cafetal, pastizal, urbano) sobre el hábitat y la calidad del agua y los macroinvertebrados acuáticos, e identificar los mejores bioindicadores de estas condiciones, utilizando métodos multiparamétricos. Por una parte, en arroyos de bosque mesófilo se encontró mayor abundancia de organismos intolerantes a materia orgánica e indicadores de las mejores condiciones del hábitat (*Lepidostomatidae*, *Calamoceratidae*), y en el otro extremo, los arroyos urbanos mostraron una mayor abundancia de organismos tolerantes a mayores concentraciones de ésta (Mollusca y Chironomidae), así como la reducción de la riqueza de familias de macroinvertebrados acuáticos. No hubo diferencias entre la abundancia relativa de los taxa y las métricas evaluadas de los macroinvertebrados de arroyos de pastizal y cafetal. En este estudio se obtuvo información útil para conocer el estado de integridad ecológica de los arroyos para planear el mejor manejo de los diferentes usos de suelo.

Palabras clave: insectos, moluscos, platelmintos, acuáticos, bioindicadores, métricas, arroyos.

Introducción

Los ecosistemas dulceacuícolas se encuentran entre los más amenazados a nivel mundial (Hering et al. 2006), con una pérdida global del 37% de las especies y una reducción del 70% de los hábitats dulceacuícolas de acuerdo al *Living Planet Report* de la WWF (2012). Las actividades humanas a nivel de paisaje son la principal amenaza a la integridad ecológica de los ecosistemas dulceacuícolas (Strayer et al. 2003), por lo que resulta urgente determinar cómo afectan la estructura y funcionamiento de estos ecosistemas, con el fin de establecer mecanismos para su restauración. En regiones tropicales, el bosque mesófilo de montaña se encuentra entre los ecosistemas más importantes por su gran diversidad y servicios ambientales que brinda al ser humano, como por ejemplo, la captación de agua, control de la erosión del suelo y regulación hídrica (Bubb et al. 2004). Sin embargo, la velocidad de pérdida de hábitats es alta, y la contaminación del agua continúa aumentando (Bonell et al. 2005).

Usos del suelo

En la cuenca alta del río La Antigua ubicada en Veracruz, México, los principales cambios de uso de suelo se deben a las actividades ganaderas, agrícolas y al establecimiento de áreas urbanas que han favorecido la deforestación de lo que originalmente fue bosque mesófilo de montaña en esta región (Muñoz-Villers & López-Blanco 2008). Dichas actividades se realizan incluso dentro de la zona ribereña federal que por ley debe dejarse intacta (Ley de Aguas Nacionales, artículo 3º, sección XLVIII). La deforestación modifica el hábitat de la zona ribereña y del cauce e impacta de forma negativa la calidad del agua de los arroyos. Por ejemplo, la pérdida de la vegetación puede disminuir la entrada al cauce de troncos, ramas y hojas, que son fuente natural de microhábitats, materia orgánica y nutrientes al descomponerse (Bison y Bilby 1998). Asimismo, puede ocurrir un incremento de la temperatura del agua, debido a la reducción de la sombra sobre el cauce (Couceiro et al. 2006). La disminución de la vegetación en las zonas ribereñas de pastizales, zonas agrícolas y urbanas, así como el pisoteo de las vacas, y la frecuencia y volumen de las descargas domésticas en áreas urbanas pueden desestabilizar las orillas y modificar la morfología del canal (Bengeyfield 2007; Baker et al. 2008). Esto puede incluso aumentar la tasa de sedimentación en los arroyos, debido al incremento de la escorrentía y la pérdida del suelo (Chapman y Chapman 2003). En la zona de estudio se han detectado las siguientes actividades que favorecen la perturbación de los arroyos. En los pastizales, el ganado tiene acceso libre a los

arroyos (obs. pers.), lo que puede incrementar la materia orgánica y patógenos en el agua, a través de las heces (Hubbard et al. 2004). En las plantaciones de café de sombra se aplican herbicidas para reducir el crecimiento de malezas e insecticidas para controlar las plagas (productores com. pers.; Guadarrama-Zugasti, 2000). Los restos de los pesticidas utilizados pueden llegar a los arroyos y liberar sus componentes, a través de la escorrentía del suelo, produciendo un aumento en los niveles de nutrientes y compuestos tóxicos en el agua (Allan 2004). En las áreas urbanas son frecuentes las descargas de las aguas residuales domésticas directamente en los arroyos que las atraviesan (obs. pers.), lo cual puede producir un aumento significativo de los nutrientes, materia orgánica y contaminantes (Walsh et al. 2005).

Cualidades de los macroinvertebrados acuáticos como bioindicadores

En la actualidad uno de los grupos acuáticos más utilizados para la evaluación del impacto ambiental en los ríos y arroyos son los macroinvertebrados acuáticos (Springer 2010). Las principales características que los hacen buenos bioindicadores son: 1) tienen una amplia distribución geográfica, 2) se les puede encontrar en una gran variedad de hábitats y presentan una amplia diversidad de hábitos alimentarios, por lo que son abundantes e importantes desde el punto de vista funcional dentro de los ecosistemas; estas cualidades generan un amplio rango de respuestas ante diferentes perturbaciones en el ambiente; 3) tienen movilidad limitada y en general, períodos generacionales cortos, que les permiten tener respuestas rápidas ante cambios de las condiciones ambientales; y 4) son fáciles de muestrear utilizando métodos de bajo costo (Resh 2008; Springer 2010).

Las alteraciones del hábitat y del agua por cambios del uso de suelo modifican la composición de los ensamblajes de macroinvertebrados acuáticos (Allan 2004; Kasangaki et al. 2008; Nessimian et al. 2008). Se ha encontrado que en sitios muy alterados disminuye la riqueza de taxa y la abundancia de los grupos más sensibles a modificaciones de su medio y dominan los grupos tolerantes (Roque et al. 2003; Kasangaki et al. 2008). En respuesta a la pérdida de la vegetación ribereña, la abundancia de los macroinvertebrados que se alimentan de microalgas puede aumentar, ya que éstas incrementan su biomasa por el incremento de la luz que incide sobre el cauce (Delong y Brusven 1998, Quinn 2000). El aumento de nutrientes en el agua podría tener los mismos efectos sobre las microalgas (Allan 2004). La sedimentación puede reducir la abundancia y riqueza de macroinvertebrados (Ritcher et al. 1997), ya que elimina a los

organismos bentónicos que habitan en los espacios intersticiales del fondo, debido a que reduce la respiración al tapar sus estructuras respiratorias, o bien, afectar la alimentación al reducir la densidad de presas (Wood y Armitage 1997). Sin embargo, otros organismos que se alimentan de partículas suspendidas o que utilizan los sedimentos para camuflarse con el sustrato, podrían beneficiarse de una sedimentación intermedia (Gray y Ward 1982). La entrada de materia orgánica de fuentes antropogénicas puede modificar el sistema trófico del arroyo, al aumentar la abundancia de organismos exóticos que se alimentan de ésta (Bison y Bilby 1998). Los restos de insecticidas en el agua provenientes de la escorrentía del suelo, podrían tener efectos tóxicos sobre los macroinvertebrados (Schulz y Liess 1999).

Para interpretar y analizar el impacto de las actividades humanas sobre los ensamblajes de macroinvertebrados y su medio se utilizan métricas, son parámetros calculados que representan algunos aspectos de la estructura, composición y función biológica de los ensamblajes de macroinvertebrados acuáticos, y que cambian al incrementarse el impacto humano (Barbour 2000). El objetivo de este estudio fue identificar los taxa y las métricas de macroinvertebrados acuáticos que responden a las características del hábitat y de calidad del agua presentes en los arroyos que drenan distintos usos de suelo, en la cuenca alta del río La Antigua. Las hipótesis y predicciones fueron las siguientes. El manejo de los diferentes usos de suelo altera la calidad del agua de los arroyos. La calidad del agua es mejor en arroyos de microcuenca de bosque mesófilo y es más alterada en arroyos urbanos. Las condiciones del hábitat reflejan un mayor estado de conservación en los arroyos de bosque con respecto a los arroyos de microcuenca con diferente uso de suelo. El grado de alteración del hábitat y de la calidad del agua se relaciona con la presencia y abundancia de los macroinvertebrados acuáticos. En comparación con arroyos de bosque mesófilo, se espera encontrar una reducción de la riqueza de taxa de macroinvertebrados acuáticos, el aumento de taxa tolerantes y la disminución de taxa sensibles a alteraciones de su medio en arroyos que fluyen en microcuenca con diferente uso de suelo, sobre todo en arroyos urbanos.

Materiales y Métodos

Área de estudio

Los arroyos estudiados drenan desde la pendiente oriental del volcán Cofre de Perote, hasta llegar a la desembocadura del río Pescados, donde convergen los ríos de la cuenca alta de la Antigua (Figura 1). Se eligieron tres arroyos permanentes por cada uno de los usos de suelo predominantes en la región: bosque mesófilo de montaña (bosques: F1, F2 y F3), pastizales para ganado vacuno (pastizales: P1, P2 y P3), cafetales de sombra (cafetales: C1, C2 y C3), y mixtos con influencia urbana (urbano: U1, U2 y U3). Los arroyos se distribuyeron en diferentes microcuencas que tienen por lo menos el 50% de su superficie con la cobertura correspondiente a cada categoría de uso de suelo. Las microcuencas de los arroyos urbanos también tuvieron influencia de cafetales y cultivos de caña, sin embargo los muestreos fueron realizados en el área de influencia urbana. Se muestraron arroyos de primero a tercer orden, principalmente en suelos de tipo andosol húmico y a una altitud entre 947 y 1629 m. s.n.m (Tabla 1). En la región se presentan tres estaciones climáticas: fría-húmeda (nortes, noviembre-marzo), seca (abril-mayo) y lluviosa (junio-octubre) (Williams-Linera 2007). La precipitación total anual varía entre los 1500 y 2000 mm.

Evaluación del hábitat

Se llevó a cabo la evaluación de la estructura del hábitat ribereño y del cauce, utilizando un índice cualitativo sugerido por la EPA para arroyos de bajo orden (Barbour et al. 1999). Este método consiste en la estimación visual de las condiciones de los remansos, el canal y las orillas, en donde se evalúan las siguientes características: el tipo de sustrato (arena, gravilla, grava, vegetación sumergida y raíces) y la variabilidad de remansos (profundos o someros); el canal del flujo (qué tanto cubre la orilla el agua), la alteración del canal (canalización o dragado), la sinuosidad del cauce (si es recto o tiene curvas), la disponibilidad de sustratos para la epifauna (mezcla de ramas, troncos y guijarros) y la deposición de sedimentos en el canal; la estabilidad (protección de la orilla por la vegetación ribereña y ancho de la vegetación en las orillas). El procedimiento consiste en asignar puntajes a cada característica del hábitat, categorizados como pobre (0-5), marginal (6-10), subóptimo (11-15), y óptimo (16-20). Posteriormente los puntajes

de las características individuales se suman para evaluar el hábitat en cada arroyo. Como complemento, se describe la dominancia y presencia de estratos y la cubierta vegetal ribereña.

Variables físicas y químicas

Las muestras de agua de cada arroyo se colectaron en la estación de lluvias (octubre) de 2010. En cada sitio se estableció un transecto de 100 m para el muestreo, donde cada uso de suelo estuviera representado en la zona adyacente al arroyo. Para el análisis de variables físicas y químicas del agua se colectó una muestra de 4 L en recipientes de polietileno en diferentes sitios (4) a lo largo del transecto de 100 m. Para la determinación del fósforo las muestras de agua se colectaron en frascos de vidrio de 250 ml. Las muestras de agua se refrigeraron a 4°C por 24-48 h antes de los análisis que se realizaron en el laboratorio.

Para la determinación del caudal (Q), se midió la profundidad y la velocidad instantánea a lo largo de un transecto transversal utilizando un flujómetro (Probe 101FP201). El caudal fue calculada como $Q = Av$, donde A es el área transversal y v es el flujo (m^3/s) (Hauery Lamberti 1996). La temperatura (T , °C), el oxígeno disuelto (O_2 , mg/L), y la conductividad (Cond, $\mu\text{S}/\text{cm}$) se determinaron *in situ* con un medidor multiparamétrico (YSI Mod. 85) y el pH con un potenciómetro (Oakton). En el laboratorio se determinaron las siguientes variables utilizando las técnicas de APHA (1998): sólidos suspendidos totales (Sst, método gravimétrico), amonio (NH_4^+ , método Nessler), nitratos (NO_3^- , método colorimétrico con brucina), nitritos (NO_2^- , método de diazotización), fósforo total (TP, digestión de persulfato y colorimetría con el ácido ascórbico), cloruros (Cl^- , método argentométrico), y sulfatos (SO_4^{2-} , método turbidimétrico).

Muestreo e identificación de macroinvertebrados acuáticos

Los muestreos de los macroinvertebrados se llevaron a cabo en cada arroyo durante la estación de lluvias en octubre de 2010 en el mismo transecto de 100 metros en donde se colectaron las muestras de agua. Se colectaron catorce muestras de macroinvertebrados: siete de rápidos (alta velocidad de corriente) y siete de orillas (con baja velocidad de corriente), tratando de abarcar todos los tipos de sustratos presentes (hojarasca, detritos, pastos, raíces, macrofitas, rocas, limo, arena). Para los arroyos urbanos sólo se colectaron cuatro muestras, ya que durante el muestreo de prospección se encontró una simplificación de la riqueza de macroinvertebrados y una abundancia excesiva de larvas de Chironomidae en tan sólo una muestra. Para la toma de

muestras se utilizó una red acuática con marco en D (45 x 12 cm) con una apertura de malla de 500 µm, con la cual se barrió 1 m² del sustrato; si había piedras grandes en el sitio de muestreo éstas se lavaban manualmente sobre la red para desprender a los macroinvertebrados, en las orillas se sacudió la red en la vegetación, y las macrofitas que se encontraron sobre rocas se sacudieron manualmente, para que se desprendieran los macroinvertebrados del sustrato. Las muestras se fijaron en alcohol al 96%. En las siguientes 48 h de haber tomado las muestras, éstas se lavaron utilizando un tamiz (con apertura de malla misma que la red acuática) para separar los restos de vegetación. Posteriormente, bajo una lámpara con lupa (Studio Designs 12309), se separaron todos los macroinvertebrados del sustrato más fino, preservándolos en alcohol al 80%.

De acuerdo a los protocolos de Evaluación Rápida II de Plafkin et al. (1989), se identificaron los organismos a nivel de familia, pues se ha encontrado que este nivel taxonómico es suficiente para conocer los efectos de las perturbaciones sobre los ensamblajes de macroinvertebrados, y ofrece resultados más fácil y rápidamente que la identificación a nivel de especie (Thorne y Williams 1997). Para la identificación se utilizó un microscopio estereoscópico (Leica, MZ6) y guías de identificación especializadas (Merrit et al. 2008; Epler 2010). Todos los organismos se depositaron en la Colección Entomológica del Instituto de Ecología, A.C. (IEXA).

Análisis de datos

Para saber qué variables fisicoquímicas pudieron influir sobre la abundancia relativa de los macroinvertebrados acuáticos en los diferentes arroyos, se llevaron a cabo correlaciones de Spearman entre estas dos variables, y se eligieron sólo las variables y taxa correlacionados significativamente. Para identificar diferencias significativas de los ensamblajes de macroinvertebrados acuáticos entre usos de suelo, se comparó la abundancia relativa por taxón (familias de insectos acuáticos, crustáceos, moluscos y platelmintos) entre usos de suelo (considerando los tres arroyos por uso de suelo como repeticiones), con un ANOVA de una vía o con su equivalente no paramétrico (Kruskal-Wallis) cuando no se cumplieron los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas. Cuando hubo diferencias significativas se utilizó la prueba de Tukey para determinar entre qué usos de suelo hubo diferencias. Adicionalmente, se llevó a cabo un análisis de agrupamientos con base en la abundancia relativa de los taxa de macroinvertebrados acuáticos de cada arroyo, con el fin de identificar si los ensamblajes de

macroinvertebrados son similares entre arroyos de microcuencas con el mismo uso de suelo, y si difieren de los ensamblajes de microcuencas con distinto uso de suelo. Para ello se utilizó el método de agrupamiento UPGMA y se eligió el coeficiente de Spearman, con el paquete estadístico MVSP (*Multi-Variate Statistical Package program*; Kovach 1999). Por otra parte, se eligieron y determinaron 25 métricas (Tabla 2) que han sido utilizadas comúnmente por diversos autores (Barbour et al. 1999; Blocksom et al. 2002; Davis et al. 2003; Cho et al. 2011; Moya et al. 2011; <http://www.epa.gov/>) y que caracterizan a los ensamblajes de macroinvertebrados por su riqueza, composición y tolerancia a contaminación orgánica.

Finalmente, se analizaron los puntajes resultantes de la evaluación del hábitat, las variables de calidad del agua y las métricas de los macroinvertebrados para cada arroyo con un Análisis Canónico de Correspondencias (CCA PC-ORD para Windows 5; McCune y Mefford 2005). Las variables fisicoquímicas (excepto el pH), las métricas y los puntajes del hábitat se transformaron previamente con log (x+1), con el fin de identificar relaciones entre las tres variables, que pudieran reflejar los efectos de los usos de suelo sobre el hábitat, calidad del agua y macroinvertebrados acuáticos en los arroyos de la región de estudio. Se eliminaron aquellas variables fisicoquímicas que mostraron redundancia (multicolinealidad) que tuvieran un factor de inflación mayor a 20, quedando únicamente cinco variables fisicoquímicas (conductividad, fósforo total, sólidos suspendidos totales, oxígeno disuelto y condición del hábitat). Por su parte, las siguientes métricas resultaron ser idénticas FT = %FT, FEPT = %FEPT, FE = %FE, FP = %FP (Tabla 2), por lo que se eliminaron los porcentajes para correr el CCA.

Resultados

Evaluación del hábitat

Los arroyos de bosque tuvieron mejores condiciones del hábitat (puntaje total = 146-152) que los de pastizal, cafetal y urbanos (Tabla 3). La caracterización de los remansos mostró que la variedad de sustratos fluctuó entre marginal y óptima para todos los tipos de arroyos, siendo óptima (16-20), es decir, con una mezcla de arena, gravilla, grava, raíces y vegetación sumergida (familia Podostomataceae), sólo en un arroyo de bosque y otro de pastizal. La condición marginal (6-10), caracterizada por la disminución de los tipos de sustratos presentes, se encontró en todos

los tipos de arroyos. El canal del flujo fue variable entre los doce arroyos, es decir, no hubo una tendencia clara en relación con los diferentes usos de suelo, y en general no hubo alteraciones visibles de la morfología del canal de canalización o dragado. Sólo el arroyo U1 está canalizado. La sinuosidad de los arroyos en los tramos estudiados también fue variable entre los doce arroyos, sin una aparente relación con el uso de suelo. Todos los arroyos de bosque presentaron un sustrato óptimo para la colonización de la fauna bentónica, es decir, una mezcla de ramas, guijarros y troncos; en los pastizales y en dos de los arroyos de cafetal, el sustrato fue óptimo o subóptimo, lo que significa una menor proporción de la mezcla de ramas, guijarros y troncos; y en los arroyos urbanos fue de subóptimo a pobre, es decir, una disminución o ausencia de diferentes sustratos, como ramas y troncos. Todos los arroyos presentaron deposición de sedimento (marginal y pobre), aunque particularmente en el arroyo de bosque F2 fue menor (óptimo = sin sedimentación). La caracterización de las orillas mostró que los arroyos de bosque fueron los únicos donde hubo siempre protección y estabilidad de la orilla por la presencia de la vegetación ribereña (óptimo), ya que el estrato dominante fue el arbóreo, no presentó pastos y tuvo la mayor cobertura del dosel. En los arroyos de pastizales el estrato dominante, evidentemente fueron los pastos, mientras que aparentemente en los cafetales no hubo un estrato dominante, y para los arroyos urbanos la vegetación ribereña estuvo reducida (Tabla 3).

Variables físicas y químicas

La temperatura promedio del agua en los arroyos de bosque fue menor (9-13.5 °C) que en los arroyos urbanos (18-20.17 °C) (Tabla 4.4). Asimismo, los arroyos de bosque fueron los más oxigenados (7.6-8.6 mg/L), y los menos oxigenados fueron los urbanos (1.4-4.6 mg/L). El pH más alcalino se registró en los arroyos de C1 y P1 (7.8 y 7.7, respectivamente) y el más ácido fue en F2 (5.6), para el resto de los arroyos el pH fue circumneutral (entre 6.1 y 7.4). El arroyo F3 mostró la conductividad más baja (16.5 µS/cm), mientras que la más alta fue para U2 (173.03 µS/cm). Los sólidos suspendidos totales fueron mayores en arroyos urbanos (7.75-38.08mg/L), seguido de los cafetales (5.63-12.19 mg/L) y arroyos de bosques (5.35-16.87) y por último en los arroyos de pastizal (2.11-4.64mg/L). El amonio fue mayor en arroyos urbanos (0.23-1.6 mg/L) que en el resto de los arroyos (0.02-0.26mg/L). La concentración de nitratos + nitritos fue mayor en arroyos de cafetales (2.87-4.64mg/L) y en U3 (3.55mg/L), que con respecto al resto de los

arroyos (0.26-0.59mg/L). El fósforo total, los cloruros y sulfatos fueron más altos en el arroyo U2 que en el resto de los arroyos (Tabla 4).

Composición y abundancia de macroinvertebrados

Se colectó un total de 62 familias de insectos acuáticos agrupadas en nueve órdenes además de otros taxa superiores de invertebrados acuáticos como Crustacea (Subphylum), Mollusca (Phyllum) y Platelminta (Phyllum). De acuerdo a la abundancia relativa por grupo taxonómico (Tabla 5), el grupo de macroinvertebrados más abundante fue Diptera, seguido de Ephemeroptera, Coleoptera, Trichoptera, Platelminta, Plecoptera, Odonata, Mollusca, Hemiptera, Crustacea, Megaloptera y Lepidoptera. Las familias más abundantes fueron Chironomidae (Diptera), Leptohyphidae (Ephemeroptera), Elmidae (Coleoptera), Baetidae (Ephemeroptera) y Simuliidae (Diptera). Cabe mencionar que los ejemplares de Tubificidae, que sólo se colectaron en arroyos urbanos fueron muy abundantes se descartaron, ya que fue imposible llevar a cabo su conteo, puesto que no se pudieron separar por individuo.

Usos de suelo y macroinvertebrados acuáticos

Con base en la abundancia relativa de las familias de insectos acuáticos y de los otros invertebrados acuáticos (Crustacea, Mollusca, Platelminta), los arroyos se agruparon de acuerdo al uso de suelo de sus microcuencas (Fig. 2). Se formaron dos grandes grupos: uno con los arroyos urbanos y el otro agrupó a los cafetales, pastizales y bosques. Los arroyos de pastizal y de cafetal fueron más similares entre sí, y los arroyos de bosque se agruparon y separaron del resto en el otro extremo del dendrograma.

De los 65 taxa colectados, aproximadamente la tercera parte se correlacionó con al menos una variable fisicoquímica, y los moluscos fueron los únicos que se correlacionaron positivamente con los sólidos suspendidos, amonio y cloruros (Tabla 6). El resto de los taxa se correlacionó negativamente con el amonio y los cloruros, a excepción del oxígeno disuelto, para el que todas las correlaciones significativas fueron positivas. La temperatura, la conductividad, y los sulfatos se correlacionaron negativamente con diferentes familias (Tabla 6), el fósforo total con las familias Baetidae, Perlidae, Hydraenidae, Hydrobiidae, Lepidostomatidae, Tipulidae y

con los nitratos + nitritos sólo la familia Psephenidae. Las familias que se correlacionaron con un mayor número de variables del agua (temperatura, oxígeno disuelto, conductividad, sólidos suspendidos, amonio, fósforo total, cloruros y sulfatos) fueron: Nemouridae, Psephenidae, Lepidostomatidae, Calamoceratidae, Hydraenidae, Tipulidae y Philopotamidae.

Sólo en seis familias de insectos acuáticos y en los moluscos la abundancia relativa promedio fue significativamente diferente entre arroyos con distinto uso de suelo (Tabla 7). Los moluscos fueron más abundantes en los arroyos urbanos que en los arroyos de pastizal. Libellulidae fue más abundante en arroyos de pastizales y cafetales que en arroyos urbanos. En cambio, Perlidae estuvo presente en todos los arroyos excepto en los urbanos. Belostomatidae fue más abundante en arroyos de cafetal que en arroyos de bosque, y no estuvo presente en arroyos urbanos. Corydalidae fue más abundante en arroyos de cafetal que en el resto de los arroyos. Los tricópteros Lepidostomatidae y Calamoceratidae fueron igualmente abundantes en arroyos de bosque, pastizal y cafetal, en arroyos urbanos no se colectaron.

Relación entre usos de suelo y las métricas

En el análisis canónico de correspondencias el primer eje explicó el 49.1% de la varianza total (prueba de Montecarlo, $p = 0.01$), y mostró un gradiente de uso de suelo. En el lado derecho del diagrama se ubicaron los arroyos urbanos y del lado izquierdo se encuentran los arroyos de pastizal, cafetal y de bosque (Figura 3a). El eje 2 explicó el 25% de la varianza total, y separó a los arroyos más alterados (U2 y U3) del resto de los arroyos. Los arroyos urbanos se caracterizaron por tener las mayores concentraciones de sólidos suspendidos totales y fósforo total, y los valores más altos de conductividad. En estas condiciones se encontraron los mayores porcentajes de organismos tolerantes y mayor número de familias tolerantes (%Tol, FTol), porcentaje de moluscos (%M), los mayores porcentajes de familias dominantes (%Dom; Chironomidae y Platelminta), y de quironómidos (%Ch) en los arroyos urbanos U2 y U3 (Fig. 3b). Los mayores valores del índice Biótico por Familia (IBF) también se encontraron en arroyos urbanos. Por su parte, en el río urbano U1, que es el menos alterado de los arroyos urbanos, se asoció el mayor porcentaje de platelmintos (%Pla). En el otro extremo, el mayor porcentaje y familias de plecópteros (%P, FP), el mayor número y porcentaje de familias intolerantes a

materia orgánica (FIIntol, %Intol), de crustáceos (%Cr) y número de familias de tricópteros (FT) se encontró en los arroyos de bosque, donde hubo mayores puntajes del hábitat y una mayor oxigenación en el agua. Los valores más altos para el resto de las métricas (FEPT, FETO, FE, FD, FTot) se registraron en los arroyos pastizal y cafetal.

Discusión

Efectos del uso de suelo sobre el hábitat y las variables fisicoquímicas del agua

Los arroyos de bosque estudiados mostraron las mejores condiciones del hábitat y del agua, a diferencia de los otros tipos de arroyos. Su gran cobertura arbórea sobre el cauce que les da sombra, los bajos valores de temperatura, conductividad, sólidos suspendidos y las altas concentraciones de oxígeno son característicos de arroyos de bosques (Kasangaki et al. 2008). Los arroyos de pastizal presentaron distintos sustratos que favorecen el establecimiento de los macroinvertebrados, como distintos tamaños de sustratos y vegetación sumergida; sin embargo, mostraron inestabilidad de las orillas, posiblemente por el paso libre del ganado vacuno y la vegetación ribereña. También presentaron características del agua similares a los arroyos de bosque, en parte porque en estos sitios no se usan fertilizantes para hacer crecer el pasto (productores com. pers.). Los arroyos de cafetal mostraron distintos tipos de sustratos en el cauce, pero presentaron inestabilidad de las orillas, ya que las orillas de los arroyos tienen baja densidad de vegetación herbácea (obs. pers.) que proteja la orilla, como se ha observado en otros cafetales (Arellano, 2000). Por otra parte, las mayores concentraciones de nutrientes registradas en los ríos de cafetal, posiblemente se deben al uso de fertilizantes que ha sido reportado en el cultivo de café (Guadarrama-Zugasti 2000). Vázquez et al. (2011) en arroyos de la misma región, también reporta en ríos de cafetal altas concentraciones de nutrientes y de sólidos suspendidos en comparación con pastizales y bosque mesófilo. Sin embargo, en el presente estudio, los sólidos suspendidos de los cafetales no fueron tan altos, al considerar sólo el muestreo en la estación de lluvias, en cambio en el capítulo anterior que incluyó el muestreo del estiaje, sí se encontró un aumento de los sólidos suspendidos en arroyos de cafetal. En la estación de lluvias los sólidos suspendidos de los arroyos de cafetal sólo fueron más altos con respecto a los arroyos de pastizal. Por otra parte, los arroyos U2, y U3 mostraron en general el tipo de hábitat y calidad del

agua esperado para este tipo de arroyos, es decir, con una baja variedad y abundancia de sustratos para el establecimiento de los macroinvertebrados, caracterizándose por una ausencia de vegetación sumergida, de ramas y troncos, así como inestabilidad en las orillas por la poca protección de la vegetación; y en el agua mayores temperaturas, mayores concentraciones de fósforo, amonio, cloruros, sólidos suspendidos, y bajos niveles de oxígeno, que en el resto de los arroyos. Estas características son indicadoras de enriquecimiento orgánico proveniente de la zona urbana (Walsh et al. 2005).

Efectos del uso de suelo sobre los macroinvertebrados acuáticos

La abundancia relativa de los taxa de macroinvertebrados y sus métricas diferenciaron a los arroyos de bosque de los otros arroyos. Los resultados encontrados en este trabajo coinciden con otros estudios en los que compararon arroyos de sitios agrícolas, de pastizal, y urbanos con respecto a sitios de bosque, encontrando que los arroyos de bosque fueron diferentes al resto de los arroyos (Carlisle 2008; Kasangaki et al. 2008; Nessimian 2008; Bücker et al. 2010; Moya 2011; Carlson et al. 2012). En el presente estudio los arroyos de bosque se caracterizaron por una mayor abundancia de organismos intolerantes a enriquecimiento de materia orgánica, como Calamoceratidae y Lepidostomatidae (Trichoptera) y Perlidae (Plecoptera) (Hilsenhoff 1988), lo cual puede estar relacionado con la buena oxigenación y las bajas temperaturas del agua. Tanto tricópteros como plecópteros requieren de hábitats bien oxigenados y con bajas temperaturas (Wiggins 1996; Stewart y Stark 2002; Merritt et al. 2008). Por otra parte, la mayor abundancia de hojarasca en los arroyos de bosque (obs. pers.) posiblemente favoreció la mayor abundancia de Lepidostomatidae y Calamoceratidae en estos arroyos, ya que estos organismos construyen su refugio con hojarasca (Merrit et al. 2008).

Los resultados de calidad de agua y del CCA confirman un gradiente de perturbación en la calidad del agua en el que los pastizales y cafetales muestran una alteración intermedia. Estos resultados se complementan con el Índice Biótico por Familia (IBF) obtenido para cada tipo de arroyo. Los valores del IBF sugieren que el agua de los arroyos de bosque fue de muy buena calidad ($IBF_F = 3.9$), la de arroyos de pastizal y cafetal fue de buena calidad ($IBF_{P, C} = 4.5$), y la de arroyos urbanos fue pobre en calidad del agua ($IBF_U = 6.5$). Estos resultados, así como al comparar los valores de las métricas utilizadas entre usos de suelo, no mostraron diferencias entre los arroyos de pastizal y cafetal, a pesar de que en los arroyos de cafetal la conductividad, sólidos

suspendidos y de nutrientes tendieron a ser mayores que en arroyos de pastizal. Posiblemente las diferencias de estas variables no fueron lo suficientemente grandes para afectar la riqueza y composición de los macroinvertebrados. En otros estudios se ha encontrado que el enriquecimiento con nutrientes y el aporte de sedimentos en zonas agrícolas elimina taxa sensibles y beneficia a taxa tolerantes a estas condiciones (Wagenhoff et al. 2011), por ejemplo favorece a los grupos filtradores: moluscos, oligoquetos y quironómidos (Harding et al. 1999). Otra posibilidad es que la falta de diferencias respecto a los efectos de arroyos de pastizal y cafetal sobre los macroinvertebrados se deba a las diferencias de la calidad del agua con respecto a la estacionalidad. En el capítulo 3 de esta tesis la identificación a nivel de especie en las larvas de odonatos permitió detectar, particularmente en el estiaje, la asociación de algunas especies a arroyos de cafetal, en donde se registraron mayores concentraciones de sedimentos, que utilizan estas especies para enterrarse.

Al comparar entre usos de suelo, las alteraciones más grandes que se reflejaron en las métricas de los ensamblajes de macroinvertebrados las encontramos en los arroyos urbanos, que se caracterizaron por presentar una mayor abundancia de organismos indicadores de perturbación antropogénica como los moluscos, quironómidos, y platelmintos; además presentaron una reducción en el número total de familias de acuerdo al IBF. Algunos moluscos como caracoles y almejas, son buenos indicadores de degradación de la calidad del agua (Salánki et al. 2003), ya que al ser filtradores, pueden ingerir microalgas, bacterias, y acumular partículas finas, por lo que pueden tolerar altos niveles de materia orgánica. Los quironómidos también filtran materia orgánica suspendida, se entierran en el sedimento y además toleran condiciones anóxicas (Correa-Araneda et al. 2010). Tanto los moluscos como quironómidos son también indicadores de arroyos con aportes de sedimento (Gray y Ward 1982), ya que se entierran en él. La reducción en el número de familias en arroyos urbanos con respecto al resto de los arroyos, coincide con lo reportado en otros estudios realizados en arroyos urbanos, en donde también se ha encontrado una calidad del agua pobre, gran abundancia de organismos tolerantes a alteraciones en el agua y la disminución de la riqueza de taxa de macroinvertebrados (Paul y Meyer 2001; Allan 2004; Meyer et al. 2005; Walsh et al. 2005; Carlisle 2008).

Para la mayoría de los taxa que se correlacionaron con al menos una variable del agua, el aumento en la concentración de cloruros y de amonio se correlacionó negativamente con su

abundancia. Williams et al. (2004) identificaron al aumento de los niveles de cloruros en el agua de arroyos como la causa de una disminución de la abundancia, riqueza de especies y la dominancia de *Chironomus* (Chironomidae). El aumento del amonio en el agua también puede ser un factor al que son sensibles ciertos macroinvertebrados, como por ejemplo algunos efemerópteros y crustáceos (Berenzen et al. 2001; Beketov 2004), y aunque el amonio es relativamente no tóxico, las reacciones químicas en el agua lo convierten a amoniaco y nitritos, que sí lo son (Maul 2004). Las familias que se correlacionaron negativamente con un mayor número de variables del agua, indicadoras de enriquecimiento de materia orgánica (Lepidostomatidae, Calamoceratidae, Nemouridae, Tipulidae, Psephenidae, Hydraenidae, y Philopotamidae) (Walsh et al. 2005), son en su mayoría consideradas intolerantes a materia orgánica (Hilsenhoff, 1988).

En este estudio se identificaron los taxa y métricas que indican el tipo de condiciones del hábitat y del agua en diferentes arroyos de la cuenca alta del río La Antigua. En arroyos de bosque mesófilo se encontraron sobre todo organismos intolerantes a materia orgánica e indicadores de buenas condiciones del hábitat, y en el otro extremo, los arroyos urbanos mostraron una mayor abundancia de organismos tolerantes a ésta y reducción de la riqueza de familias de macroinvertebrados acuáticos. Por su parte, no hubo diferencias entre arroyos de pastizal y cafetal, y tampoco entre éstos con respecto a los arroyos conservados de bosque mesófilo. La información generada en este estudio representa un punto de partida y base para futuros biomonitoreos en la región de la cuenca alta del río La Antigua.

Literatura citada

- Allan, J. D. 2004. Landscapes and riverscapes: the influence of land use on stream ecosystems. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 35: 257–284.
- APHA (American Public Health Association). 1998. *Standard methods for the examination of water and wastewater*, 20 ed. APHA-AWWA-WEF. Washington D.C., USA.
- Arellano, R. G. 2000. Pérdida de suelo y nutrientes en agroecosistemas de café en la subcuenca del río Castán, Trujillo-Venezuela. *Revista Forestal Venezolana*, 44: 79–86.
- Baker, D. W., C. A. Pomeroy, W. K. Annable, J. G. McBroom, J. S. Schwartz y J. Gracie. 2008. Evaluating the Effects of Urbanization on Stream Flow and Channel Stability — State of Practice. *World Environmental and Water Resources Congress*.
Permalink:[http://dx.doi.org/10.1061/40976\(316\)339](http://dx.doi.org/10.1061/40976(316)339)
- Barbour, M.T., J. Gerritsen, B. D. Snyder y J. B. Stribling. 1999. *Rapid bioassessment protocols for use in streams and wadeable rivers: periphyton, benthic macroinvertebrates and fish*, 2a ed. EPA 841-B-99-002. U.S. Environmental Protection Agency; Office of Water; Washington, D.C.
- Barbour, M. T. y C. O. Yoder. 2000. The multimetric approach to bioassessment as used in the United States of America, pp. 281–92. En: J. F. Wright, D. W. Sutcliffe, M. T. Furse (eds.). 2000. *Assessing the biological quality of fresh waters: RIVPACS and other techniques*. Freshwater Biological Association, Ambleside, Cumbria.
- Beketov, M. A. 2004. Different sensitivity of mayflies (Insecta, Ephemeroptera) to ammonia, nitrite and nitrate: linkage between experimental and observational data. *Hydrobiologia* 528: 209–216.
- Bengeyfield, P. 2007. Quantifying the effects of livestock grazing on suspended sediment and stream morphology. Advancing the Fundamental Sciences: *Proceedings of the Forest Service National Earth Sciences Conference, San Diego, California*, 18-22 October 2004, PNW GTR-689, Portland, OR: U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Pacific Northwest Research Station.

- Berenzen, N., R. Schulz y M. Liess. 2001. Effects of chronic ammonium and nitrite contamination on the macroinvertebrate community in running water microcosms. *Water Research* 35: 3478–3482.
- Bison, P. A. y R. E. Bilby. 1998. Organic matter and trophic dynamics, pp. 373–398. En: R. J. Naiman y R. E. Bilby (Eds.). *River ecology and management: Lessons from the pacific coastal ecoregion*. Springer, New York.
- Blocksom, K. A., J. P. Kurtenbach y D. J. Klemm. 2002. Development and evaluation of the Lake Macroinvertebrate Integrity Index (LMII) for New Jersey lakes and reservoirs. *Environmental Monitoring and Assessment* 77: 311–333.
- Bonell, M., M. M. Hufschmidt y J. S. Gladwell. 2005. *Hydrology and water management in the humid tropics*. Cambridge University Press, New York.
- Bubb, P., I. May, L. Miles y J. Sayer. 2004. *Cloud forest agenda*. – UNEP-WCMC, Cambridge.
- Bücker A., M. Sondermann, H. G. Frede y L. Breuer. 2010. The influence of land-use on macroinvertebrate communities in montane tropical streams – a case study from Ecuador. *Fundamental and Applied Limnology* 177: 267–282.
- Carlisle D. M. y C. P. Hawkins. 2008. Land use and the structure of western US stream invertebrate assemblages: predictive models and ecological traits. *Journal of the North American Benthological Society* 27: 986–999.
- Carlson, P. E., R. K. Johnson y G. McKie Brendan. 2012. Optimizing stream bioassessment: habitat, season, and the impacts of land use on benthic macroinvertebrates. *Hydrobiologia*. DOI 10.1007/s10750-012-1251-5
- Chapman, C. A. y L. J. Chapman. 2003. Deforestation in tropical Africa: impacts on aquatic ecosystems, pp. 229–246. En: T. L. Crisman, L. J. Chapman, C. A. Chapman y L. S. Kaufman. *Conservation, ecology and management of african freshwaters*, University Press of Florida, Gainesville.
- Cho, W. S, Y. S. Park, H. K Park, H.Y. Kong y T.S. Chon. 2011. Ecological informatics approach to screening of integrity metrics based on benthic macroinvertebrates in streams.

Annales de Limnologie *International Journal of Limnology* 47, S51-S62.DOI

10.1051/limn/2011019.

- Correa-Araneda, F., R. Rivera, J. Urrutia, P. de los Ríos, A. Contreras y F. Encina-Montoya. 2010. Efectos de una zona urbana sobre la comunidad de macroinvertebrados bentónicos de un ecosistema fluvial del sur de Chile. *Limnetica* 29: 183–194.
- Couceiro, S., N. Hamada, S. Luz, B. Forsberg y T. Pimentel. 2006. Deforestation and sewage effects on aquatic macroinvertebrates in urban streams in Manaus, Amazonas, Brazil. *Hydrobiologia* 575: 271–284.
- Davis, S., S. W. Golladay, G. Vellidis y C. M. Pringle 2003. Macroinvertebrate biomonitoring in intermittent coastal plain streams impacted by animal agriculture. *Journal of Environmental Quality* 32:1036–1043.
- Delong, M. D. y M. A. Brusven. 1998. Macroinvertebrate community structure along the longitudinal gradient of an agriculturally impacted stream. *Environmental Management* 22: 445–57.
- Epler, J. H. 2010. *The water beetles of Florida* - an identification manual for the families Chrysomelidae, Curculionidae, Dryopidae, Dytiscidae, Elmidae, Gyrinidae, Haliplidae, Helophoridae, Hydraenidae, Hydrochidae, Hydrophilidae, Noteridae, Psephenidae, Ptilodactylidae and Scirtidae. Florida Department of Environmental Protection, Tallahassee, Florida.
- Gray, L. J. y J. V. Ward. 1982. Effects of sediment releases from a reservoir on stream macroinvertebrates. *Hydrobiologia* 96: 177–184.
- Guadarrama-Zugasti, C. 2000. *The transformation of coffee farming in Central Veracruz, Mexico: sustainable strategies?* PhD thesis, University of California, Santa Cruz.
- Guerold, F. 2000. Influence of taxonomic determination level on several community indices. *Water Research* 34: 487–492.
- Harding, J. S., R. G. Young, J. W. Hayes, K. A. Shearer y J. D. Stark. 1999. Changes in agricultural intensity and river health along a river continuum. *Freshwater Biology* 42: 345–357.

Hauer, F. R. y G.A. Lamberti (Eds.). 1996. *Methods in Stream Ecology*. Academic Press. San Diego, California.

Hawkins, C. P., R. H. Norris, J. N Hogue y J. W. Feminella. 2000. Development and evaluation of predictive models for measuring the biological integrity of streams. *Ecological Applications* 10: 1456–1477.

Hering, D., R. K. Johnson, S. Kramm, S. Schmutz, K. Szoszkiewicz y P. F. M. Verdonschot 2006. Assessment of European streams with diatoms, macrophytes, macroinvertebrates and fish: a comparative metric-based analysis of organism response to stress. *Freshwater Biology* 51: 1757–1785.

Hilsenhoff, W. L. 1988. Rapid field assessment of organic pollution with a family-level biotic index. *Journal of the North American Benthological Society* 7: 65–68.

Hubbard, R. K., G. L. Newton y G. M. Hill. 2004. Water quality and the grazing animal. *Journal of Animal Science* 82: 55–263.

Kasangaki, A., L. J. Chapman y J. Balirwa. 2008. Land use and the ecology of benthic macroinvertebrate assemblages of high-altitude rainforest streams in Uganda. *Freshwater Biology* 53: 681–697.

Kovach, W. L. 1999. *MVSP-A MultiVariate Statistical Package for Windows*, ver. 3.1. Kovach Computing Services, Pentraeth, Wales.

Ley de Aguas Nacionales, articulo 3º, sección XLVIII. Diario oficial de la nación. Segunda Sección. Viernes 8 de junio de 2012.

Maul, J. D., J. L. Farris, C. D. Milam, C. M. Cooper, S. Testa y D. L. Feldman. 2004. The influence of stream habitat and water quality on macroinvertebrate communities in degraded streams of northwest Mississippi. *Hydrobiologia* 518: 79–94.

McCune, B. y M. J. Mefford. 2005. PC-ORD. Version 5.0. *Multivariate analysis of ecological data*. MjM Software Design. Glenden Beach, Oregon.

- Merritt, R. W., K. W. Cummins y M. B. Berg (Eds.). 2008. *An introduction to the aquatic insects of North America*, 4^a ed. Kendall/Hunt Publishing Company, Dubuque Iowa.
- Merritt, R.W., K.W. Cummins, y M. B. Berg. 2008. *An introduction to the aquatic insects of North America*. 4a ed., Kendall/Hunt Publishing Co., Dubuque, Iowa.
- Meyer, J. L., M. J. Paul y W. K. Taulbee. 2005. Stream ecosystem function in urbanizing landscapes. *Journal of the North American Benthological Society* 24: 602–612.
- Moya, N., E. Domínguez, E. Goitia y T. Oberdorff. 2011. Desarrollo de un índice multimétrico basado en macroinvertebrados acuáticos para evaluar la integridad biológica en ríos de los valles interandinos de Bolivia. *Ecología Austral* 21:135–147.
- Muñoz-Villers, L. E. y J. López-Blanco. 2008. Land use/cover changes using Landsat TM/ETM images in a tropical and biodiverse mountainous area of central-eastern Mexico. *International Journal of Remote Sensing* 29: 71–93.
- Nessimian J. L., E. M. Venticinque, J. Zuanon, Jr. P. De Marco, M. Gordo, L. Fidelis, J. D'arc Batista y L. Juen. 2008. Land use, habitat integrity, and aquatic insect assemblages in Central Amazonian streams. *Hydrobiologia* 614: 117–131.
- Paul, M. J. y J. L. Meyer. 2001. Streams in the urban landscape. *Annual Review of Ecology and Systematics* 32:333–65.
- Plafkin, J. L., M. T. Barbour, K. D. Porter, S. K. Gross y R. M. Hughes. 1989. *Rapid bioassessment protocols for use in streams and rivers: Benthic macroinvertebrates and fish*. U.S. Environmental Protection Agency, Office of Water Regulations and Standards, Washington, D.C. EPA 440-4-89-001.
- Quinn J. M. 2000. Effects of pastoral development, pp. 208–29. En: K. J. Collier, M. J. Winterbourn (Eds.). *New Zealand Stream Invertebrates: Ecology and Implications for Management*, Caxton Press, Christchurch, Nueva Zelanda.
- Resh, V. H. 2008. Which group is best? Attributes of different biological assemblages used in freshwater biomonitoring programs. *Environmental Monitoring and Assessment* 138: 131–138.

- Richter, B. D., D. P. Braun, M. A. Mendelson, y L. L. Master. 1997. Threats to imperiled freshwater fauna. *Conservation Biology* 11: 1081–1093.
- Roque, F.O., S. Trivinho-Strixino, G. Strixino, R. C. Agostinho y J. C. Fogo. 2003. Benthic macroinvertebrates in streams of the Jaragua State Park (Southeast of Brazil) considering multiple spatial scales. *Journal of Insect Conservation* 7:63–72.
- Ross, S. M., J. B. Thornes y S. Nortcliff. 1990. Soil hydrology, nutrient and erosional response to the clearance of terra firme forest, Maraca Island, Roraima, northern Brazil. *The Geographical Journal* 156: 267–282.
- Salánki, J., A. Farkas, T. Kamardina y K. S. Rózsa. 2003. Molluscs in biological monitoring of water quality. *Toxicology Letters* 140: 403–410.
- Schulz R, M. Liess. 1999. A field study of the effects of agriculturally derived insecticide input on stream macroinvertebrate dynamics. *Aquatic Toxicology* 46:155–176.
- Springer, M. 2010. Biomonitoring acuático. Capítulo 3, pp. 3–9. En: M. Springer, A. Ramírez y P. Hanson. *Macroinvertebrados acuáticos de agua dulce de Costa Rica I*. Revista de Biología Tropical Vol. 58 (Suppl. 4).
- Stewart, K. W. y B. P. Stark. 2002. *Nymphs of North American stonefly genera (Plecoptera)*. The Caddis Press, Columbus, Ohio.
- Strayer, D. L., R. E. Beighley, L.C. Thompson, S. Brooks, C. Nilsson, G. Pinay y R. J. Naiman. 2003. Effects of land cover on stream ecosystems: roles of empirical models and scaling issues. *Ecosystems* 6: 407–423.
- Thorne, St. T. R. y W. P. Williams. 1997. The response of benthic macroinvertebrates to pollution in developing countries: a multimetric system of bioassessment. *Freshwater Biology* 37: 671–686.
- US Environmental Protection Agency (US EPA).Chapter 7: Benthic Macroinvertebrate Protocols. Consultado el 10 de octubre 2012.
<http://water.epa.gov/scitech/monitoring/rsl/bioassessment/ch07b.cfm#Section 7.4>

- Vázquez, G., J. A. Aké-Castillo y M. E. Favila. 2011. Algal assemblages and their relationship with water quality in tropical Mexican streams with different land uses. *Hydrobiologia*, 667: 173–189.
- Wagenhoff, A., C. R. Townsend, N. Phillips y C. D. Matthaei. 2011. Subsidy-stress and multiple-stressor effects along gradients of deposited fine sediment and dissolved nutrients in a regional set of streams and rivers. *Freshwater Biology* 56: 1916–1936.
- Walsh, C. J., A. H. Roy, J. W. Feminella, P. D. Cottingham, P. M. Groffman y R. P. Morgan. 2005. The urban stream syndrome: current knowledge and the search for a cure. *Journal of the North American Benthological Society* 24: 706–723.
- Wiggins, G. B. 1996. *Larvae of the North American caddisfly genera (Trichoptera)*. 2^aed. University of Toronto Press, Toronto.
- Williams, M. L., C. G. Palmer y A. K. Gordon. 2004. South african riverine macroinvertebrate responses to chlorine and chlorinated sewage effluents: An overview. pp. 322–329. *Proceedings of the 2004 Water Institute of Southern Africa (WISA) Biennial Conference*. 2 -6 May 2004. Cape Town, South Africa.
- Williams-Linera, G. 2007. *El bosque de niebla del centro de Veracruz: ecología, historia y destino en tiempos de fragmentación y cambio climático*. Instituto de Ecología, A.C. CONABIO, México.
- Wood, P. J. y P. D. Armitage. 1997. Biological effects of fine sediment in the lotic environment. *Environmental Management* 21:203–217.
- WWF World Wide Fund for Nature, Zoological Society of London, Global Footprint Network, European Space Agency. 2012. *The Living Planet Report: Biodiversity, biocapacity and better choices*. London.

Tabla 1. Características de los arroyos estudiados de la Cuenca alta del Río La Antigua. F = bosques, P = pastizales, C = cafetales, U = urbanos.

Arroyo	% superficie por microcuenca				Área Total (km ²)	Tipo de suelo	Coordenadas		Orden	Altitud (m.s.n.m.)
	F	P	C	U			E	N		
F1	68.7	24.6	2.2	4.3	3787	Andosol húmico	96°59'27.01"	19°31'19.009"	2	1491
F2	89.5	8.1	1.3	0	479	Andosol húmico	97°00'11.22"	19°30'55.40"	1	1577
F3	69.6	26.9	0.7	2.5	1197	Andosol húmico	97°00'23"	19°29'39"	2	1629
P1	17.7	79.1	1.5	1.1	405	Andosol húmico	97°02'27.77"	19°23'52.95"	2	1473
P2	17.1	58.1	20.1	4.3	848	Andosol húmico	97°00'20"	19°26'22"	1	1343
P3	25.1	71.3	3.8	0	361	Andosol húmico	97°3'8.331"	19°23'53.771"	1	1486
C1	15.1	27.3	49.6	5.4	16320	Andosol húmico	96°58'42.344"	19°22'28.822"	3	1054
C2	14.6	10.8	67.7	4.2	13425	Andosol húmico	96°58'11.468"	19°20'52.191"	3	947
C3	3.7	5.5	80	6.9	1560	Andosol húmico	96°58'16.864"	19°21'10.169"	1	1072
U1	6.7	3.1	35.8	27.6	11716	Andosol húmico Feozemháplico	96°57'21.22"	19°27'33.81"	2	1401
U2	4.2	2.9	61.4	5.2	3264	Feozemháplico	96°55'54"	19°27'00"	2	1132
U3	31	10.6	22.7	28.3	6670	Andosol húmico Feozemháplico	96°58'14.64"	19°27'30.83"	2	1221

Tabla 2. Métricas de riqueza, composición y tolerancia de macroinvertebrados acuáticos, y su respuesta esperada con la perturbación antropogénica de acuerdo Barbour et al. (1999) (¹), Cho et al. (2011) (²) y Moya et al. (2011) (³), Blocksom et al. (2002) (⁴), Davis et al. 2003 (⁵), <http://www.epa.gov/>(⁶).

Abreviatura	Métrica	Respuesta hipotética con alteración antropogénica
<i>Riqueza</i>		
Ftot	Riqueza total de familias ^{1,2,3}	disminuye
FEPT	Riqueza de familias de EPT ^{1,2}	disminuye
FETO	Riqueza de familias de ETO ⁴	disminuye
FE	Riqueza de familias de Ephemeroptera ^{1,2}	disminuye
FP	Riqueza de familias de Plecoptera ^{1,2}	disminuye
FT	Riqueza de familias de Trichoptera ^{1,2}	disminuye
<i>Composición</i>		
% FEPT	% familias EPT ^{1,3}	disminuye
% FE	% familias de Ephemeroptera ²	disminuye
% FP	% familias de Plecoptera ^{1,2}	disminuye
% FT	% familias de Trichoptera ^{1,2}	disminuye
% FD	% familias de Diptera ^{1,2}	aumenta
% E	% abundancia relativa de Ephemeroptera ²	disminuye
% P	% abundancia relativa de Plecoptera ²	disminuye
% T	% abundancia relativa de Trichoptera ²	disminuye
% Ch	% abundancia relativa de Chironomidae ^{1,3}	aumenta
% Cr	% abundancia relativa de Crustacea ^{2,5}	disminuye
% M	% abundancia relativa de Mollusca ⁶	aumenta
% Pla	% abundancia relativa de Platelminta	.?

Tolerancia

Fintol	Núm. de familias intolerantes ^{1,2} , VT < 4	disminuye
Ftol	Núm. de familias tolerantes ^{1,2} , VT > 6	aumenta
% Intol	% abundancia relativa de Intolerantes ² , VT < 4	disminuye
% Tol	% abundancia relativa de Tolerantes ² , VT > 6	aumenta
IBF	IBF ² , $\sum i pi vt/100*$	aumenta
% Dom	% de la familia dominante ¹	aumenta

*Índice IBF adaptado a la abundancia relativa: pi = abundancia relativa de la familia, vt = valor de tolerancia de la familia, 100 = total de la abundancia relativa.

Tabla 3. Caracterización del hábitat ribereño y del cauce para cada arroyo. Abreviaciones: a = árboles, b = arbustos, c = hierbas, d = pasto, - = sin dominancia aparente. Los números representan los puntajes obtenidos con la evaluación visual de diez características de una escala de 0 a 20; los puntajes incrementan conforme la calidad del hábitat incrementa de la siguiente forma: pobre 0-5; marginal 6-10; subóptima 11-15; óptima 16-20. Las características del banco son resultado de la suma de los bancos derecho e izquierdo.

Arroyo	Remanso		Canal						Orilla			Vegetación ribereña		
	Caracterización del Sustrato	Variabilidad	Estado del canal de flujo	Alteración	Sinuosidad	Sustratos para la epifauna	Deposición de Sedimento	Estabilidad	Protección de la vegetación	Ancho de la vegetación ribereña	Puntajes totales	Dominancia de estratos	Estratos presentes	Cubierta vegetal (%)
F1	19	8	4	20	7	20	10	18	20	20	146	a	abc	75-100
F2	8	8	9	20	14	17	17	20	18	20	151	a	abc	75-100
F3	15	9	8	20	17	18	9	18	18	20	152	-	abc	75-100
X Bosque	14.0	8.3	7	20	12.7	8.3	12	18.7	18.7	20	149.7	-	-	-
P1	8	7	3	20	6	13	2	8	0	0	67	d	ad	0-25
P2	19	14	10	20	18	18	6	12	1	0	118	d	ad	0-25
P3	14	9	9	20	8	14	9	14	12	0	109	d	abcd	50-75
X Pastizal	13.7	10.0	7.3	20	10.7	15	5.7	11.3	4.3	0	98.0	-	-	-
C1	8	10	9	20	6	18	3	4	14	2	94	-	abcd	50-75
C2	12	12	2	20	14	15	13	12	2	20	122	-	abcd	25-50
C3	10	14	7	17	10	7	2	0	12	20	99	ab	abcd	50-75
X Cafetal	10.0	12.0	6	19	10	13.3	6	5.3	9.3	14	105.0	-	-	-
U1	6	0	15	5	2	5	7	20	1	0	46	d	ad	25-50
U2	10	10	8	14	10	13	5	10	9	16	105	ab	abd	50-75
U3	14	9	5	18	15	10	10	4	6	2	93	bd	abd	25-50
X Urbano	10.0	6.3	9.3	12.3	9	9.3	7.3	11.3	5.3	6	81.3	-	-	-

Tabla 4. Valores promedio de las variables fisicoquímicas (\pm error estándar) en los arroyos de la cuenca alta del río La Antigua. Los valores más altos se muestran en negritas.

Arroyo	Temp (°C)	OD (mg/L)	pH	Cond (μS/cm)	Sst (mg/L)	NH ₄ ⁺ (mg/L)	NO ₃ ⁻ +NO ₂ ⁻ (mg/L)	TP (mg/L)	Cl ⁻ (mg/L)	SO ₄ ²⁻ (mg/L)
Bosque										
F1	13.53 ± 0.01	7.59 ± 0.08	6.43 ± 0.11	23.5 $\pm <0.01$	5.35 ± 0.61	0.03 $\pm <0.01$	1.48 ± 0.27	0.13 ± 0.01	2.98 ± 0.04	2.27 ± 0.06
F2	9.6 ± 0.00	8.59 ± 0.12	5.59 ± 0.13	23.45 ± 0.03	5.67 ± 2.22	0.03 $\pm <0.01$	1.28 ± 0.01	0.07 ± 0.01	4.02 ± 0.11	2.34 ± 0.08
F3	13.20 ± 0	6.75 ± 0.5	6.15 ± 0.1	16.15 ± 0.04	16.87 ± 1.5	0.05 $\pm <0.01$	0.64 ± 0.09	0.04 ± 0.01	3.67 ± 0	2.33 ± 0.02
Pastizal										
P1	17.34 ± 0.02	6.61 ± 0.17	7.67 ± 0.03	74.06 ± 0.06	2.11 ± 0.50	0.03 $\pm <0.01$	0.22 ± 0.01	0.2 ± 0.05	3.71 ± 0.04	2.15 ± 0.07
P2	15.28 ± 0.01	5.82 ± 0.55	6.29 ± 0.08	22.49 ± 0.07	2.73 ± 0.05	0.02 $\pm <0.01$	0.16 ± 0.03	0.82 ± 0.40	3.64 ± 0.07	2.08 ± 0.12
P3	16.05 ± 0.01	6.85 ± 0.1	7.00 ± 0.04	49.28 ± 0.2	4.64 ± 1.0	0.02 $\pm <0.01$	0.26 ± 0.04	0.07 ± 0.02	3.66 ± 0.04	2.23 ± 0.04
Cafetal										
C1	19.13 ± 0.01	6.11 ± 0.28	7.84 ± 0.02	104.71 ± 0.18	12.13 ± 0.74	0.16 ± 0.01	4.64 ± 0.81	0.19 ± 0.01	3.93 ± 0.12	2.28 ± 0.05
C2	16.88 ± 0.04	6.98 ± 0.31	6.97 ± 0.13	62.68 ± 0.95	12.19 ± 1.91	0.04 ± 0.01	2.87 ± 0.53	0.07 ± 0.02	3.86 ± 0.11	2.74 ± 0.08
C3	18.09 ± 0.12	6.95 ± 0.1	7.41 ± 0.02	74.96 ± 0.1	5.63 ± 0.3	0.05 ± 0.01	3.57 ± 0.04	0.14 $\pm <0.01$	3.67 ± 0	2.67 ± 0.1
Urbano										
U1	18.02 ± 0.02	5.51 ± 0.27	6.73 ± 0.08	60.73 ± 0.60	21.63 ± 3.78	0.26 ± 0.01	1.56 ± 0.41	0.53 ± 0.02	4.41 ± 0	2.56 ± 0.19
U2	20.17 ± 0.01	1.45 ± 0.16	6.91 ± 0.01	173.03 ± 1.01	38.08 ± 10.87	1.61 ± 0.07	0.69 ± 0.04	1.67 ± 0.04	11.7 ± 0.25	9.85 ± 0.27
U3	19.82 ± 0.03	4.63 ± 0.3	6.45 ± 0.01	57.95 ± 0.04	7.75 ± 1.6	0.23 ± 0.01	3.55 ± 0.03	0.22 ± 0.01	4.59 ± 0.13	2.97 ± 0.06

Tabla 5. Abundancia relativa de los grupos taxonómicos de macroinvertebrados acuáticos colectados en los doce arroyos de la cuenca alta del río La Antigua.

Orden/Familia	Bosque			Pastizal			Cafetal			Urbano			
	F1	F2	F3	P1	P2	P3	C1	C2	C3	U1	U2	U3	%
Platelminta	0.35	0.00	2.76	0.50	10.34	3.31	3.95	0.21	2.60	79.42	0.36	1.67	7.7
Mollusca	0.29	0.45	0.41	0.00	0.11	0.00	2.01	0.07	0.43	4.50	3.38	2.39	1.14
Crustacea	1.73	0.00	4.38	0.00	0.23	0.22	0.06	0.26	0.29	0.00	0.00	0.00	0.63
Ephemeroptera													24.1
Leptophlebiidae	0.31	2.55	13.31	2.50	1.88	1.44	7.03	0.68	2.46	0.00	0.00	0.00	
Leptocephidae	32.90	1.95	2.60	12.06	6.68	19.09	20.15	7.13	30.54	0.00	0.00	4.31	
Heptageniidae	0.08	0.23	1.22	0.19	0.06	0.36	0.06	0.00	1.16	0.00	0.00	0.00	
Baetidae	1.16	28.06	9.50	29.72	2.91	20.61	4.21	14.61	15.05	0.54	0.03	0.72	
Odonata													2.8
Platystictidae	0.35	0.08	0.08	0.54	1.37	1.30	0.82	0.31	3.76	0.00	0.05	0.00	
Calopterygidae	1.73	0.53	1.38	2.88	2.80	1.87	2.13	0.28	0.29	0.94	0.00	25.36	
Coenagrionidae	0.43	0.00	0.41	0.12	0.17	0.07	0.00	0.00	0.00	0.00	0.23	9.09	
Aeshnidae	0.00	0.30	0.16	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
Gomphidae	0.14	0.00	0.00	0.08	0.46	0.00	1.57	0.35	0.00	0.00	0.00	0.00	
Cordulegastridae	0.14	0.08	0.89	0.00	0.06	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
Libellulidae	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	
Plecoptera													3.82
Nemouridae	12.00	8.93	0.81	0.00	0.06	0.94	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
Perlidae	0.37	0.60	6.01	0.12	0.51	0.29	1.82	1.53	3.33	0.00	0.00	0.00	
Hemiptera													0.74
Mesovelidae	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.29	0.00	0.00	0.00	
Hebridae	0.00	0.00	0.00	0.04	0.00	0.00	0.00	0.28	0.14	0.00	0.00	0.00	
Veliidae	0.06	0.00	1.06	0.38	0.11	0.72	0.00	0.05	0.87	0.00	0.00	0.00	
Gerridae	0.06	0.00	0.00	0.00	0.06	0.22	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
Belostomatidae	0.16	0.00	0.24	1.08	0.57	0.29	1.00	0.47	1.30	0.00	0.00	0.00	
Corixidae	0.00	0.00	0.00	0.04	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
Naucoridae	0.19	0.00	0.24	0.23	0.00	0.00	0.06	0.02	0.29	0.00	0.00	0.00	
Saldidae	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	
Coleoptera													12
Gyrinidae	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.07	0.00	0.00	0.00	0.00	
Dytiscidae	0.02	0.00	0.49	0.04	0.00	0.00	0.00	0.00	0.14	0.00	0.03	0.00	
Hydrophilidae	0.00	0.00	0.08	0.12	0.00	0.00	0.06	0.00	0.14	0.00	0.00	0.00	
Hydraenidae	0.04	0.08	1.30	0.04	0.46	1.01	0.00	0.61	0.00	0.00	0.00	0.00	
Staphylinidae	0.00	0.00	0.08	0.19	0.11	0.00	0.00	5.19	0.72	0.00	0.00	0.00	
Scirtidae	0.02	0.00	0.00	0.12	0.11	0.07	2.76	0.05	0.58	0.00	0.00	0.00	
Elmidae	4.34	5.70	16.80	8.37	33.07	10.73	20.65	16.38	6.66	0.10	0.00	1.91	
Dryopidae	0.00	0.00	0.00	0.12	0.00	0.07	0.06	0.38	0.00	0.00	0.00	0.00	

Ptilodactylidae	0.10	0.08	0.00	0.00	3.71	1.59	0.82	0.07	0.87	0.00	0.00	0.00	
Psephenidae	0.02	0.53	0.32	0.27	1.60	1.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
Lampyridae	0.00	0.00	0.00	0.00	0.06	0.07	0.00	0.00	0.14	0.00	0.05	0.00	
Curculionidae	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.05	0.00	0.00	0.00	0.00	
Megaloptera													0.21
Sialidae	0.00	0.00	0.00	0.00	0.06	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
Corydalidae	0.04	0.00	0.00	0.38	0.34	0.07	0.82	0.45	0.58	0.00	0.00	0.00	
Trichoptera													7.87
Philopotamidae	0.10	0.00	0.00	1.61	1.31	3.39	0.00	0.02	0.14	0.00	0.00	0.00	
Hydropsychidae	0.99	0.38	7.95	1.61	3.37	5.40	9.04	4.39	3.47	0.00	0.21	1.67	
Polycentropodidae	0.25	0.08	0.49	1.88	0.00	0.00	0.00	0.19	0.00	0.00	0.00	0.00	
Ecnomidae	0.00	0.00	0.00	0.00	0.51	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	
Xyphocentrodidae	0.02	0.00	0.08	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
Hydrobiosidae	0.06	0.53	0.97	1.46	0.06	1.66	0.44	0.71	0.00	0.00	0.00	0.00	
Glossosomatidae	0.00	0.00	0.00	0.04	0.00	0.07	0.00	0.05	0.00	0.00	0.00	0.00	
Hydroptilidae	0.00	0.00	0.57	0.38	0.29	0.14	0.06	1.98	0.43	0.00	0.00	0.00	
Lepidostomatidae	2.85	12.23	0.49	0.15	0.06	0.07	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	
Calamoceratidae	6.18	1.35	5.93	0.23	3.43	0.07	0.31	0.35	0.29	0.00	0.00	0.00	
Leptoceridae	0.48	0.15	1.38	0.19	1.77	0.00	0.19	0.00	0.14	0.00	0.00	0.00	
Helicopsychidae	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	
Lepidoptera													0.13
Crambidae	0.04	0.00	0.00	0.38	0.40	0.14	0.19	0.21	0.29	0.00	0.00	0.00	
Diptera													38.8
Simuliidae	1.18	10.80	0.81	3.76	6.97	14.41	2.57	15.43	4.49	0.05	0.00	3.59	
Ceratopogonidae	0.00	0.60	0.00	0.00	0.06	0.00	0.00	0.05	0.00	0.10	0.08	0.00	
Chironomidae	30.75	22.36	11.77	27.23	13.65	7.78	17.07	26.33	17.51	14.15	95.39	48.80	
Dixidae	0.02	0.00	0.73	0.08	0.00	0.14	0.06	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
Culicidae	0.00	0.00	0.24	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
Tanyderidae	0.00	0.00	0.00	0.00	0.11	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
Psychodidae	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.05	0.00	0.00	0.13	0.00	
Tipulidae	0.06	1.13	3.98	0.61	0.11	1.37	0.00	0.47	0.29	0.00	0.00	0.00	
Stratyomidae	0.00	0.08	0.08	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.14	0.00	0.00	0.00	
Athericidae	0.00	0.08	0.00	0.23	0.00	0.00	0.00	0.05	0.00	0.00	0.00	0.00	
Tabanidae	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.07	0.14	0.00	0.00	0.00	
Empididae	0.00	0.08	0.00	0.04	0.06	0.00	0.00	0.00	0.00	0.20	0.00	0.48	
Syrphidae	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.05	0.00	
Sarcophagidae	0.00	0.08	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	

Tabla 6. Coeficientes de correlación de Spearman ($P \leq 0.05$) entre las variables fisicoquímicas del agua y la abundancia de macroinvertebrados acuáticos por taxa. Se muestran sólo los taxa para los que hubo una correlación significativa.

Taxa	Variables fisicoquímicas								
	Temp	OD	Cond	Sst	NH_4^+	$\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$	TP	Cl^-	SO_4^{2-}
Mollusca				0.79	0.84			0.60	
Crustacea								-0.80	
Leptohyphidae								-0.65	
Baetidae		0.71					-0.71		
Heptageniidae								-0.66	
Libellulidae				-0.68	-0.63			-0.77	
Nemouridae	-0.84	0.59	-0.77		-0.57			-0.59	
Perlidae		0.58					-0.70		
Veliidae								-0.74	
Hydraenidae	-0.73		-0.61		-0.63		-0.65	-0.61	
Elmidae					-0.56			-0.61	-0.57
Ptilodactylidae					-0.59			-0.64	
Psephenidae			-0.67	-0.70	-0.85	-0.84		-0.61	-0.81
Philopotamidae				-0.85	-0.83			-0.74	-0.67
Polycentropodidae		0.57							
Hydrobiosidae					-0.61		-0.62		
Lepidostomatidae	-0.91	0.70	-0.68		-0.64		-0.61		
Calamoceratidae	-0.82	0.64	-0.62					-0.69	
Leptoceridae								-0.65	-0.71
Crambidae				-0.61	-0.57				
Simuliidae		0.65		-0.65	-0.84				
Dixidae									-0.58
Tipulidae	-0.72	0.66			-0.62		-0.81		

Tabla 7. Abundancia relativa promedio (%) de cada taxón de macroinvertebrados acuáticos por uso de suelo. F = bosque, P = pastizal, C = cafetal, U = urbano. $F/H = F$, estadístico de ANOVA, H = estadístico de Kruskal-Wallis, grados de libertad: 3.

Taxa	Familia	F	P	C	U	F/H	P
Phylum Mollusca		0.38ab	0.04b	0.84ab	3.43a	$H = 8.7$	0.03
Orden Odonata	Libellulidae	0.17ab	1.07 a	1.63 a	0.02 b	$H = 8.8$	0.03
Orden Plecoptera	Perlidae	2.32 a	0.31 a	2.23 a	0	$H = 9.0$	0.03
Orden Hemiptera	Belostomatidae	0.13 a	0.64 ab	0.93 b	0	$F = 6.4$	0.03
Orden Megaloptera	Corydalidae	0.01 a	0.27 a	0.61 b	0	$F = 15.6$	0.001
Orden Trichoptera	Lepidostomatidae	5.19 a	0.09 a	0.01 a	0	$H = 10.2$	0.02
	Calamoceratidae	4.49 a	1.24 a	0.32 a	0	$H = 8.9$	0.03

Leyendas de figuras

Figura 1. Localización de los sitios de muestreo en cada arroyo de estudio de la cuenca alta del río La Antigua. F = bosque, P = pastizal, C = cafetal, U = urbano.

Figura 2. Dendrograma de agrupamiento con base en la abundancia relativa de macroinvertebrados acuáticos de arroyos. F = bosque, P = pastizal, C = cafetal, U = urbano.

Figura 3. Diagrama de ordenación que muestra (a) los arroyos y las variables fisicoquímicas del agua que no mostraron multicolinealidad, y (b) las métricas y las mismas variables fisicoquímicas. F = bosque, P = pastizal, C = cafetal, U = urbano. SST = sólidos suspendidos totales, PT = fósforo total, Cond = conductividad, H = puntaje del hábitat, OD = oxígeno disuelto.

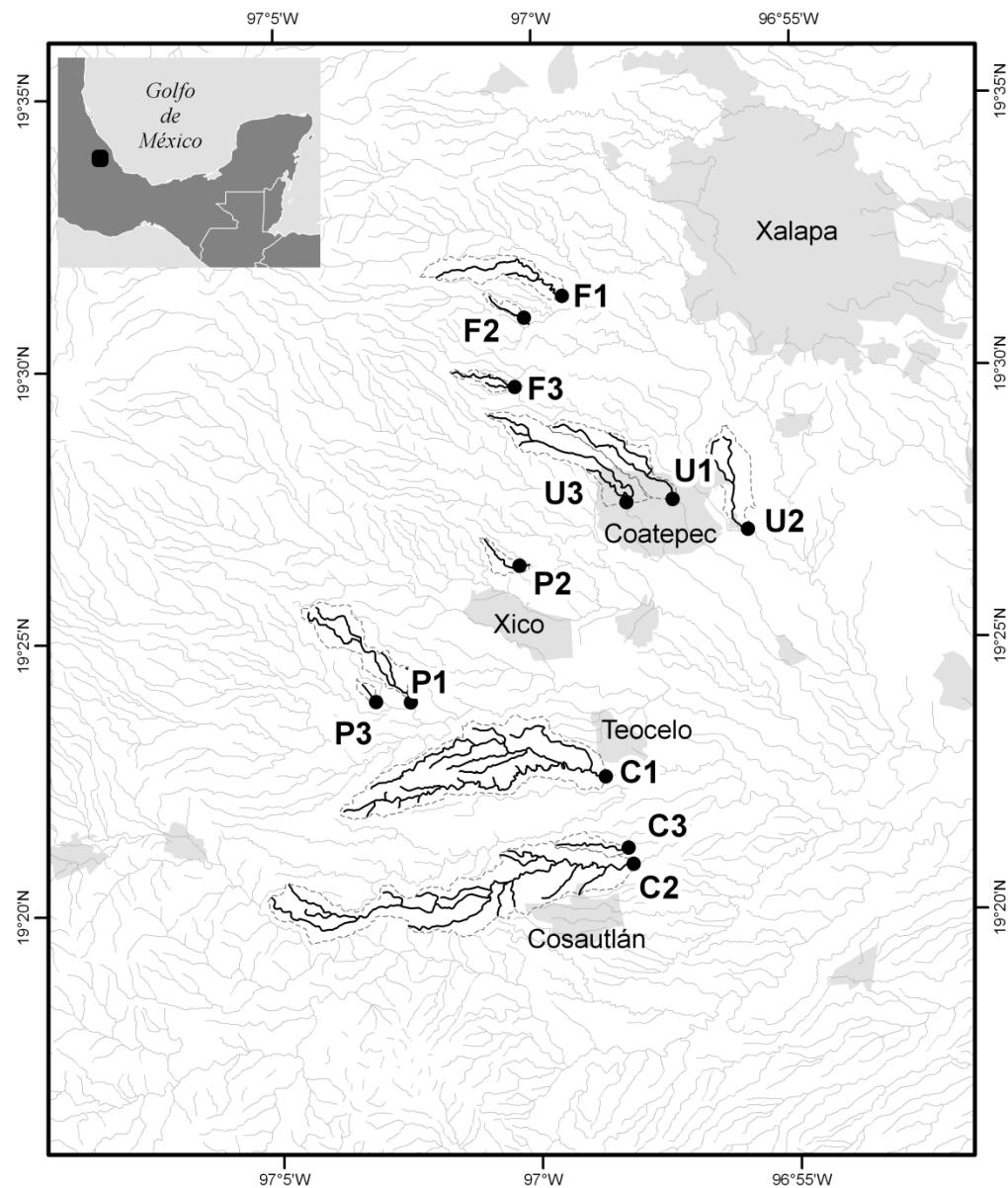


Figura 1.

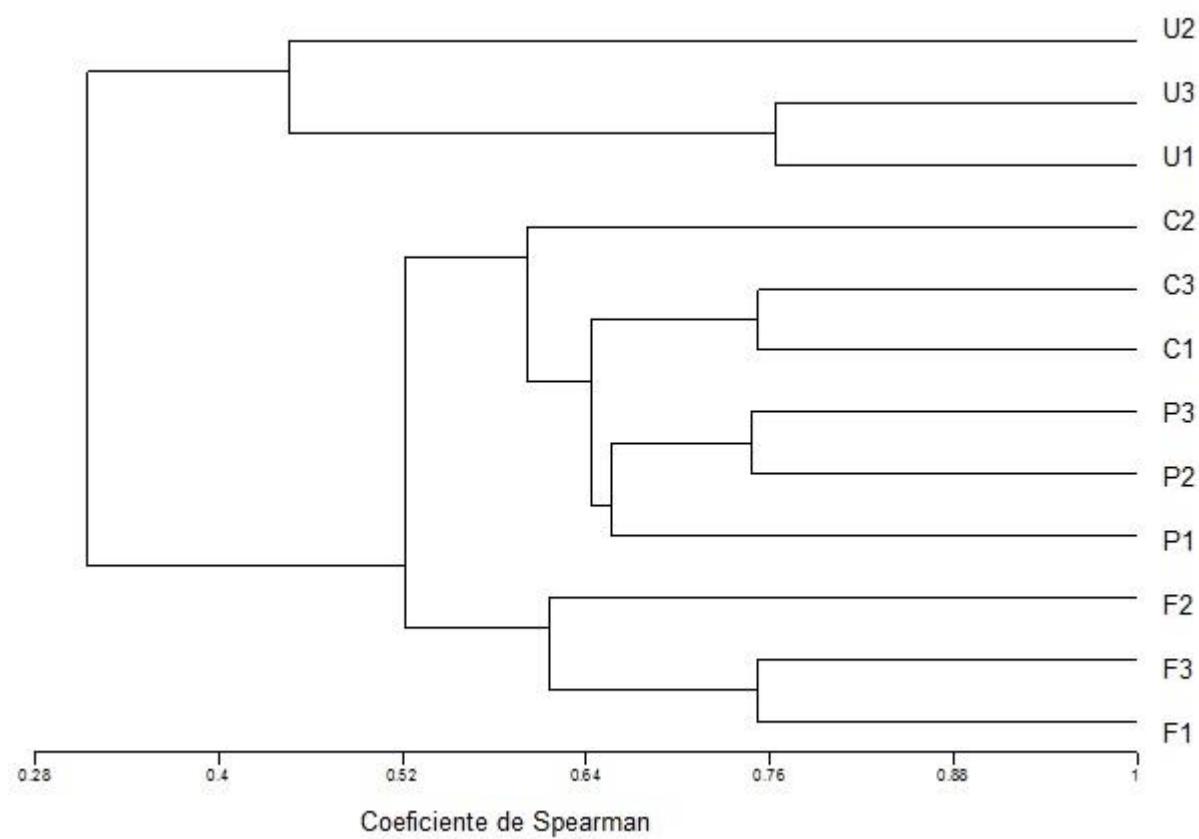


Figura 2.

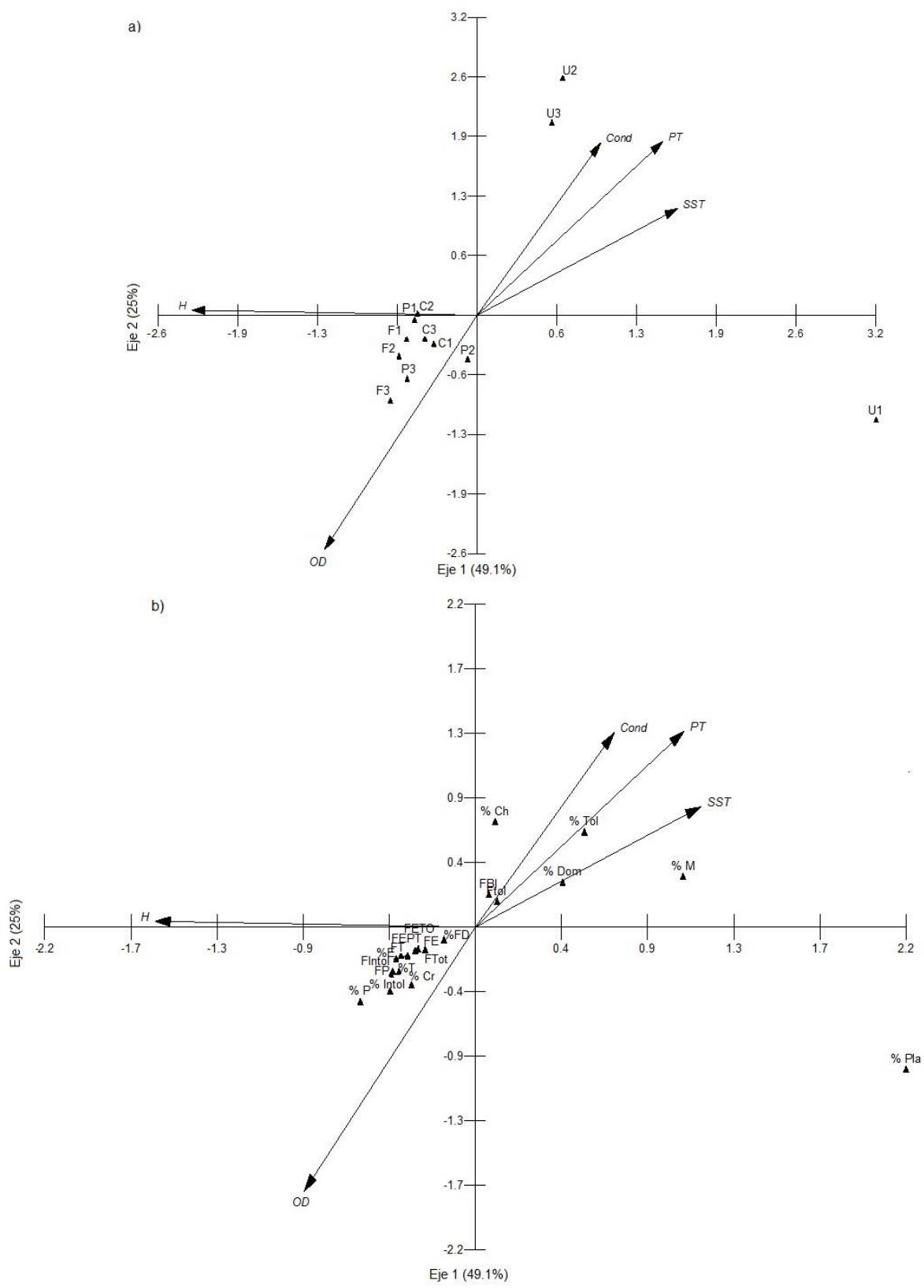


Figura 3.

CAPÍTULO 5.
DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN GENERAL

DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN GENERAL

El bosque mesófilo de montaña es uno de los ecosistemas de mayor importancia en México, por sus biodiversidad (Challenger 1998), por los servicios ecosistémicos que genera (Brujnzel 2004), por su disminuida superficie (González-Espinosa et al. 2012) y por las presiones antropogénicas que presenta (CONABIO 2010). En la cuenca alta del río La Antigua las principales amenazas a su permanencia son el cambio de uso de suelo, la ganadería y la agricultura. Cabe resaltar la cuenca alta del río La Antigua, la cual hace parte de la región de bosque mesófilo del Centro de Veracruz (que incluye también a la Sierra Norte de Puebla-Sierra de Chiconquiaco, Huatusco-Coscomatepec, y Pico de Orizaba) conforma la región de bosque mesófilo del país con mayor presión por densidad poblacional (CONABIO 2010).

En este trabajo se analizaron los efectos de las condiciones del hábitat ribereño y la calidad del agua de doce arroyos ubicados en microcuencas con diferente uso de suelo, sobre los ensamblajes de macroinvertebrados acuáticos, tomando como condiciones de referencia arroyos que drenan el bosque mesófilo de montaña. Los resultados mostraron cómo distintos factores estresantes en el medio acuático y ribereño, así como la estacionalidad, pueden alterar la reproducción una especie indicadora de enriquecimiento de materia orgánica, la estructura y composición de especies de un ensamblaje particular de insectos acuáticos (Odonata) y la riqueza y abundancia a nivel de familia de los ensamblajes de macroinvertebrados acuáticos.

Los arroyos de bosque se caracterizaron por presentar las mejores condiciones del hábitat y de calidad del agua. La amplia cobertura arbórea que se encuentra sobre el cauce disminuye la cantidad de luz que llega al arroyo, favoreciendo bajas temperaturas, y su buen estado de conservación favorece bajos valores de conductividad, sólidos suspendidos y altas concentraciones de oxígeno que son característicos de arroyos de bosques (Kasangaki et al. 2008). En este estudio, las condiciones oligotróficas de los arroyos de bosque provocaron una reducción en la fecundidad de una especie indicadora de enriquecimiento de materia orgánica, se encontraron larvas de odonatos que se vieron favorecidas por estas condiciones (*Oplonaeshna armata*, *Cordulegaster diadema*, y *Hetaerina vulnerata*). También en los arroyos de bosque se detectó una mayor abundancia de algunos organismos intolerantes a materia orgánica e indicadores de buenas condiciones del hábitat, como los tricópteros de las familias Lepidostomatidae y Calamoceratidae. Los arroyos de pastizal presentaron muy poca vegetación

ribereña e inestabilidad de las orillas, pero fueron similares a los arroyos de bosque en cuanto a su calidad de agua y sus efectos sobre la fecundidad de una especie indicadora de enriquecimiento de materia orgánica (disminución de la fecundidad). A nivel de familia, los ensamblajes de macroinvertebrados fueron también similares entre ambos tipos de arroyos, pero a nivel de especies de odonatos, sí hubo especies que sólo se encontraron en arroyos de bosque (*H. vulnerata* y *O. armata*).

Los arroyos de cafetal, dos de ellos los arroyos más grandes (de tercer orden) y que pertenecieron a las microcuencas más grandes también, presentaron evidencias del uso de fertilizantes, al encontrarse mayores concentraciones de nutrientes en el agua, así como evidencias de sedimentación, pues mostraron inestabilidad en las orillas y mayores concentraciones de sólidos suspendidos que los arroyos de bosque y pastizal, sin embargo esta variable fue similar a los arroyos urbanos. Estos arroyos mostraron las condiciones más favorables para la reproducción de *C. dubia*, posiblemente por la mayor disponibilidad de sólidos suspendidos que pudieron haber utilizado como alimento, pues se trata de una especie filtradora de partículas en suspensión (Monakov 2003). Los arroyos de cafetal también favorecieron una mayor abundancia relativa de los odonatos *Erpetogomphus viperinus*, *Phylogomphoides suasus*, que se caracterizan por utilizar el sustrato arenoso, característico de sitios con aporte de sedimentos, para enterrarse y de esta forma acechar y atrapar a sus presas (McPeak 2008).

Como se esperaba los arroyos urbanos fueron los más alterados, ya que presentaron una vegetación ribereña muy escasa, inestabilidad de las orillas, poca variedad de sustratos para el establecimiento de los macroinvertebrados acuáticos y altas concentraciones de solutos indicadores de contaminación urbana, (Walsh et al. 2005) provenientes de las descargas de las aguas municipales no tratadas que llegan a los ríos de la región (Pérez-Maqueo et al. 2011). Los macroinvertebrados que se asociaron a estos arroyos fueron los odonatos *Argia extranea*, *Argia lacrimans* e *Ischnura denticollis*, los moluscos, quironómidos (Diptera) y platelmintos. Todos ellos se han encontrado como organismos tolerantes al enriquecimiento con materia orgánica (Thompson 1978; Gray y Ward 1982; Hilsenhoff 1991; Corbet 1999; Correa-Araneda et al. 2010). En estos arroyos hubo también una reducción significativa de la riqueza de familias de macroinvertebrados acuáticos, lo cual coincidió con los resultados de otros autores en arroyos urbanos de EUA (Paul y Meyer 2001; Carlisle 2008).

Encontramos una mayor diferencia de los efectos de los usos del suelo sobre las especies de Odonatos (capítulo 3) que sobre los ensamblajes de macroinvertebrados en general identificados a nivel de familia (capítulo 4). Posiblemente se deba a que los muestreos de los macroinvertebrados se llevaron a cabo durante la estación de lluvias únicamente, cuando las diferencias en la calidad del agua entre arroyos disminuyen, como se discute en el capítulo 4. Podemos decir que el uso de distinta resolución taxonómica para distinguir los efectos de los usos del suelo sobre los organismos acuáticos produjo resultados similares independientemente de si se tratase de especies de Odonatos o familias de macroinvertebrados acuáticos.

La consideración de dos estaciones climáticas contrastantes fue importante en este estudio, ya que se encontraron diferencias temporales en la calidad del agua de los arroyos de estudio, lo que se reflejó en la fecundidad de *C. dubia* y en los ensamblajes de larvas de odonatos en particular. Durante la estación de lluvias hubo un mayor caudal en los arroyos, que en el estiaje, lo que provocó la disminución de las concentraciones de los solutos e iones, así como un incremento en la fecundidad de *C. dubia*. Estos resultados sugieren que la calidad del agua en esta estación mejora favoreciendo el incremento de la fecundidad de *C. dubia*. Esto coincide con lo encontrado en el arroyo urbano más alterado (U2), ya que en el estiaje, fue cuando se registró la mayor concentración de solutos y se detectó la supresión total de la fecundidad en esta especie. Las larvas de odonatos fueron más abundantes durante el periodo de lluvias que en el estiaje, pero es posible que esto esté relacionado con la fenología de las especies de odonatos más que con la dilución de los solutos en la estación de lluvias.

Los resultados de este estudio indican que las prácticas de manejo locales tales como la eliminación de la vegetación ribereña (en los pastizales y cafetales), el uso de fertilizantes y pesticidas (en los cafetales) y las descargas directas de aguas residuales (en las áreas urbanas) son las principales responsables del estado ecológico de los arroyos estudiados. Para mitigar su impacto, la Ley de Aguas Nacionales (artículo 3º, sección XLVIII) establece que se debe existir una zona de amortiguamiento (“buffer”) con vegetación en las orillas de los arroyos. En los arroyos estudiados de pastizal, cafetal y zonas urbanas se debe dejar sin manejo tal área, para que se prevenga la erosión, sedimentación, entrada de nutrientes y contaminantes a los cursos de agua. También la Ley de Aguas Nacionales (Artículo 86 Bis 2) establece que debe haber una canalización de las descargas municipales hacia una planta de tratamiento antes de su entrada a

los arroyos, para evitar las descargas directas. Estas mejoras en las prácticas de manejo adquieren mayor importancia al tener en cuenta que los arroyos de cabecera estudiados transfieren las afectaciones antropogénicas río abajo, hacia la cuenca baja del río La Antigua, donde los ríos tienen una gran importancia económica, pues de ellos dependen actividades como la pesca de los langostinos *Macrobrachium acanthurus* y *M. carcinus*; los cultivos de café y caña de azúcar y la agricultura de temporal. En la parte baja de la cuenca ya se ha identificado contaminación por agroquímicos, residuos domésticos e industriales y desechos por los beneficios del café (http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/regionalizacion/doctos/rhp_077.html).

En nuestro país, a pesar de que en las últimas décadas se ha incrementado el desarrollo de pruebas de toxicidad (Ramírez-Romero y Mendoza-Cantú 2008) e interés por los biomonitoreos (Mathuriau et al. 2012), que complementan los tradicionales monitoreos químicos, todavía es incipiente la aplicación de estas técnicas (CONAGUA 2008; Mathuriau et al. 2012), posiblemente debido a varios factores: existen pocos especialistas a nivel nacional, todavía algunos protocolos y métodos se encuentran en vías de ser adaptados a cada región, y por la falta de capacitación de personal. De hecho el diagnóstico del estado actual de los cuerpos de agua a nivel nacional es en general el resultado de monitoreos fisicoquímicos de la calidad del agua en zonas con una alta influencia antropogénica.

En este trabajo, la especie de prueba *Ceriodaphnia dubia*, algunas especies de larvas de odonatos y algunas familias y otros taxa de macroinvertebrados acuáticos, resultaron buenos bioindicadores de la calidad del agua en los arroyos de microcuencas con distinto uso de suelo, al tener una mayor fecundidad, en el caso de *C. dubia*, o al presentar una mayor abundancia, para los macroinvertebrados acuáticos (incluyendo a las larvas de odonatos) reflejando particularmente una baja concentración de solutos y temperaturas más bajas en arroyos de bosques (*Oplonaeshna armata*, *Cordulegaster diadema*, y *Hetaerina vulnerata*; Lepidostomatidae y Calamoceratidae), aporte de nutrientes y sedimentos en arroyos de cafetal (*C. dubia*, *Erpetogomphus viperinus*, *Phyllogomphoides suasus*) y enriquecimiento de materia orgánica en arroyos urbanos (*C. dubia*, *Argia extranea*, *Argia lacrimans* e *Ischnura denticollis*, los moluscos, quironómidos y platelmintos). La estacionalidad, por su parte, influyó sobre la calidad del agua de los arroyos, al reflejar una dilución de los solutos en la estación de lluvias, y una disminución de los efectos negativos sobre la fecundidad de *C. dubia*. También el hábitat

ribereño y del cauce fue factor importante que influyó sobre el aumento o disminución de la abundancia de estos macroinvertebrados acuáticos, al entender la calidad del agua como un efecto de las condiciones del mismo hábitat, y al encontrar, por medio del diagnóstico visual, una simplificación de la heterogeneidad natural de la vegetación ribereña y de los microhábitats en el cauce.

Por otra parte, podemos decir que, en términos de costo-beneficio, de los distintos tipos de bioevaluación aplicados y el análisis fisicoquímico del agua, éste último fue el más costoso, aunque generó los resultados más rápidamente. Los bioensayos generaron resultados rápidamente, pero fueron más costosos que los métodos de biomonitoring, los cuales, debido al tiempo invertido en el manejo de las muestras y la identificación de los organismos, produjeron resultados en un mayor periodo de tiempo. Asimismo, el análisis fisicoquímico del agua en conjunto con los métodos de bioevaluación, permitieron identificar la biodisponibilidad y sus efectos de algunos componentes del agua, como la materia orgánica y los sedimentos. No obstante, los métodos de bioevaluación no sustituyen a los métodos químicos, ya que difícilmente reflejan con precisión qué sustancias en particular son las responsables de las alteraciones sobre los ensamblajes de macroinvertebrados. En este estudio, la complementación de los bioensayos, utilizando una especie de prueba, y el biomonitoring de los odonatos y los macroinvertebrados tanto en el tiempo como en el espacio permitieron identificar que el uso de suelo fue un factor que determinó los estados de conservación de los arroyos de la cuenca alta de río La Antigua.

Literatura citada

- Bruijnzeel, L. A. 2004. Hydrological functions of tropical forests: not seeing the soil for the trees? *Agriculture, Ecosystems and Environment* 104: 185–228.
- Callanan, M., J. R. Baars y M. K. Quinn. 2008. Critical influence of seasonal sampling on the ecological quality assessment of small headwater streams. *Hydrobiologia* 610: 245–255.
- Carlisle, D. M. y C. P. Hawkins. 2008. Land use and the structure of western US stream invertebrate assemblages: predictive models and ecological traits. *Journal of the North American Benthological Society* 27:986–999.
- Challenger, A. 1998. La zona ecológica templada húmeda (el bosque mesófilo de montaña), pp. 443–518. En: *Utilización y conservación de los ecosistemas terrestres de México, pasado, presente y futuro*. CONABIO, México.
- Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). 2000a. Programa de Regiones Hidrológicas Prioritarias. CONABIO. México.
- Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). 2000b. Programa de Regiones Prioritarias Terrestres. CONABIO. México.
- Comisión Nacional del Agua (CONAGUA). 2008. *Programa anual de trabajo para la medición de calidad del agua*. Subdirección General Técnica Gerencia de Calidad del Agua, CONAGUA. México.
- Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). 2010. *El Bosque mesófilo de montaña en México: Amenazas y oportunidades para su conservación y manejo sostenible*. CONABIO, México D.F.
- Corbet, P.S. 1999. *Dragonflies: Behavior and ecology of Odonata*. Cornell University Press, Ithaca, New York, USA.
- Correa-Araneda, F., R. Rivera, J. Urrutia, P. de los Ríos, A. Contreras y F. Encina-Montoya. 2010. Efectos de una zona urbana sobre la comunidad de macroinvertebrados bentónicos de un ecosistema fluvial del sur de Chile. *Limnetica* 29: 183–194.

- González-Espinosa, M., J. A. Meave, N. Ramírez-Marcial, T. Toledo-Aceves, F. G. Lorea-Hernández y G. Ibarra-Manríquez. 2012. Los bosques de niebla de México: conservación y restauración de su componente arbóreo. *Ecosistemas* 2: 36–52.
- Gray, L. J. y J. V. Ward. 1982. Effects of sediment releases from a reservoir on stream macroinvertebrates. *Hydrobiologia* 96: 177–184.
- Hilsenhoff, W. L. 1991. Diversity and classification of insects and Collembola, pp. 593–663. En: J.H. Thorp y A.P. Covich (Eds.), *Ecology and Classification of North American Invertebrates* Academic Press, San Diego, California, USA.
- Kasangaki, A., L. J. Chapman y J. Balirwa. 2008. Land use and the ecology of benthic macroinvertebrate assemblages of high-altitude rainforest streams in Uganda. *Freshwater Biology* 53: 681–697.
- Mathuriau, C., N. Mercado-Silva, J. Lyons y L. M. Martínez Rivera. 2012. Fish and macroinvertebrates as freshwater ecosystem bioindicators in Mexico: Current state and perspectives, pp. 251–261. En: U. O. Spring (Ed.) *Water resources in Mexico, scarcity, degradation, stress, conflicts, management, and policy*. Springer, Berlín.
- McPeek, M. A. 2008. Ecological factors limiting the distributions and abundances of Odonata, pp. 51–62. En: A. Córdoba-Aguilar (Ed.). *Dragonflies and damselflies: model organisms for ecological and evolutionary research*, Oxford University Press.
- Monakov, A. B. 2003. Waterfleas-Cladocera, pp.133–172. En: Monakov A. B. (Ed.). *Feeding of freshwater invertebrates*. Kenobi Productions, Ghent, Belgium,
- Muñoz-Villers, L.E.y J. López-Blanco. 2008. Land use/cover changes using Landsat TM/ETM images in a tropical and biodiverse mountainous area of central-eastern Mexico. *International Journal of Remote Sensing* 29: 71–93.
- Ley de Aguas Nacionales*, articulo 3°, sección XLVIII y artículo 86 BIS2. Diario oficial de la nación. Segunda Sección.
- Paul, M. J. y J. L. Meyer. 2001. Streams in the urban landscape. *Annual Review of Ecology and Systematics* 32: 333–365.

- Pérez-Maqueo O., L. E. Muñoz-Villers, G. Vázquez, M. Equihua y P. León-Romero. 2011. Amenazas a los recursos hídricos, pp. 327–339. En: *La biodiversidad en Veracruz: estudio de estado*. Vol. I. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Gobierno del Estado de Veracruz, Universidad Veracruzana, Instituto de Ecología, A.C.
- Ramírez-Romero, P. y A. Mendoza-Cantú (compiladoras). 2008. *Ensayos toxicológicos para la evaluación de sustancias químicas en agua y suelo. La experiencia en México*. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT), México.
- Comisión Nacional del Agua (CONAGUA). 2010. Estadísticas del agua en México. SEMARNAT. México,
D.F.http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/regionalizacion/doctos/rhp_077.html
- Thompson, D. J. 1978. Prey size selection by larvae of the damselfly, *Ischnura elegans* (Odonata). *Journal of Animal Ecology* 47: 769–785.
- Walsh, C. J., A. H. Roy, J. W. Feminella, P. D. Cottingham, P. M. Groffman y R. P. Morgan. 2005. The urban stream syndrome: current knowledge and the search for a cure. *Journal of the North American Benthological Society* 24: 706–723.
- Williams-Linera, G. 2007. *El bosque de niebla del centro de Veracruz: ecología, historia y destino en tiempos de fragmentación y cambio climático*. Instituto de Ecología, A.C. CONABIO, México.