

Artículo original

## Estadios ninfales de *Anacroneuria* spp. (Plecoptera: Perlidae) y su relación con variables fisicoquímicas en tres microcuencas del río Combeima, Ibagué, Colombia

### Nymphal stages of *Anacroneuria* spp. (Plecoptera: Perlidae) and its relationship with physicochemical variables in three microbasins of the Combeima River, Ibagué, Colombia

Carlos Váquiro-Capera\*, Gladys Reinoso-Flórez, Giovany Guevara

Grupo de Investigación en Zoología (GIZ), Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad del Tolima, Ibagué, Tolima, Colombia

#### Resumen

El orden Plecoptera representa uno de los grupos de insectos más relevantes en bioindicación en Colombia. En los últimos años su conocimiento ha aumentado ampliamente; no obstante, en algunas zonas de la región andina los estudios taxonómicos y ecológicos son aún incipientes. Dada la importancia de los plecópteros en quebradas de alta montaña, se evaluó la relación entre la presencia y abundancia de ninfas del género *Anacroneuria* con variables fisicoquímicas y bacteriológicas en tres microcuencas andinas asociadas con el río Combeima (Tolima, Colombia): Las Perlas, La Plata y Cay. Se realizaron seis recolecciones diurnas con red Surber en diferentes tramos de las quebradas durante un ciclo hidrológico (2016-2017): lluvia intensa, poca lluvia y transiciones. Se registraron 750 organismos de *Anacroneuria*, entre los cuales se determinaron dos morfoespecies mediante morfometría tradicional (Asp1 y Asp2), y se establecieron las relaciones específicas con determinadas variables en cada microcuenca mediante un análisis de componentes principales (ACP). Se encontró una correlación negativa entre la abundancia de Asp1 y el fósforo ( $r_s = -0,5266$ ) en Las Perlas, la conductividad eléctrica ( $r_s = -0,4725$ ) en La Plata, y los nitratos ( $r_s = -0,4821$ ) en Cay, en tanto que Asp2 presentó correlación negativa con la demanda química de oxígeno (DQO) ( $r_s = -0,5634$ ) y una positiva con la temperatura ( $r_s = 0,6750$ ), el pH ( $r_s = 0,7079$ ), los nitratos ( $r_s = 0,5569$ ) y los fosfatos ( $r_s = 0,6511$ ) en la quebrada Las Perlas. El análisis de correlación de Spearman determinó que Asp1 presentaba un menor rango de respuesta ecológica que Asp2 frente a los cambios en las condiciones naturales del cuerpo de agua.

**Palabras claves:** Bioindicación; Macroinvertebrados acuáticos; Microhábitats; Plecoptera; Quebradas altoandinas.

#### Abstract

The order Plecoptera represents one of the most relevant groups of aquatic insects for bioindicación in Colombia. In recent years, the knowledge on the order has increased greatly; nevertheless, in some areas of the Andean region, the taxonomic and ecological information is still incipient. Given the importance of the plecopterans in high mountain streams, we evaluated the relationship between the presence and abundance of nymphs of the genus *Anacroneuria* with physicochemical and bacteriological variables in three Andean microbasins associated with the Combeima River (Tolima, Colombia): Las Perlas, La Plata, and Cay streams. We conducted six daytime collections with a Surber net in different sections of the streams during a hydrological cycle (2016 – 2017) with high rainfall, low rainfall, and transitions. We registered 750 organisms of *Anacroneuria* and we assigned them to two morphospecies (Asp1 and Asp2) by biometry. Specific relationships were found with certain physicochemical variables in each stream using a principal component analysis (PCA). A negative correlation was found in the Las Perlas stream between the abundance of Asp1 and phosphorus ( $r_s = -0.5266$ ), in La Plata stream with electrical conductivity ( $r_s = -0.4725$ ), and with

**Citación:** Váquiro-Capera C, Reinoso-Flórez G, Guevara G. Estadios ninfales de *Anacroneuria* spp. (Plecoptera: Perlidae) y su relación con variables fisicoquímicas en tres microcuencas del río Combeima, Ibagué, Colombia. Rev. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat. 44(171):458-470, abril-junio de 2020. doi: <https://doi.org/10.18257/raccefyn.951>

**Editor:** Gabriel Roldán

**\*Correspondencia:**

Carlos Váquiro-Capera;  
[civaquiroc@ut.edu.co](mailto:civaquiroc@ut.edu.co)

**Recibido:** 24 de julio de 2019

**Aceptado:** 13 de mayo de 2020

**Publicado:** 30 de junio de 2020



Este artículo está bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-Compartir Igual 4.0 Internacional

nitrate ( $r_s = -0.5569$ ) in the Cay stream, while Asp2 was negatively correlated to chemical oxygen demand (COD) ( $r_s = -0.5634$ ) and positively to temperature ( $r_s = 0.6750$ ), pH ( $r_s = 0.7079$ ), nitrate ( $r_s = 0.5569$ ), and phosphate ( $r_s = 0.6511$ ) in Las Perlas stream. The Spearman correlation analysis determined that Asp1 presented a lower ecological response range than Asp2 regarding changes in the natural conditions of the water.

**Keywords:** Bioindication; Aquatic macroinvertebrates; Microhabitats; Plecoptera; High-Andean streams.

## Introducción

Los macroinvertebrados acuáticos son fundamentales en el funcionamiento de los ecosistemas fluviales, pues son un componente biológico clave de la red trófica acuática que interactúa como enlace entre las diferentes comunidades (bentónica, planctónica, nectónica, detritica) (Tomanova, *et al.*, 2006; Chará-Serna, *et al.*, 2012; Roldán, 2016). Por lo general, los estudios sobre los macroinvertebrados acuáticos hacen especial referencia a los órdenes Ephemeroptera, Plecoptera y Trichoptera, pues además de su demostrado papel ecológico, se les considera bioindicadores de la calidad del agua por su gran sensibilidad frente a los diferentes tenses generados por la intervención antropogénica (Tamaris-Turizo & Turizo-Correa, 2004; Zúñiga, 2010; Alonso-EguíaLis, *et al.*, 2014; Castillo-Sánchez, *et al.*, 2018). Asimismo, estos organismos son sensibles a las variaciones físicas y químicas que se presentan en el ecosistema acuático, a la contaminación y al efecto inducido del cambio climático (Covich, *et al.*, 2003; Pérez-Gómez & Bosque-Sendra, 2008; Zúñiga, 2010; Arango, *et al.*, 2012; Ospina-Arias, *et al.*, 2016). La gestión y el manejo inadecuados del recurso hídrico han reducido el número de especies claves para los ecosistemas dulciacuícolas (Chará-Serna, *et al.*, 2009; Longo, *et al.*, 2010; Roldán, 2016). Esta situación afecta de manera particular al orden Plecoptera, considerado altamente sensible a la contaminación acuática (Tomanova & Tedesco, 2007; Castillo-Sánchez, *et al.*, 2018; Sierra-Labastidas, *et al.*, 2017).

En el orden Plecoptera el género *Anacroneuria* es el taxón de mayor abundancia en el Neotrópico, y reviste gran importancia en los procesos de evaluación de corrientes de agua (Zúñiga, 2010; Bohórquez, *et al.*, 2011) por su desempeño ecológico en la recirculación de nutrientes, como eslabón depredador en la composición de la red trófica y como bioindicador de la calidad de agua (Stewart & Stark, 2002). En Colombia más del 60 % de los registros del género *Anacroneuria* corresponden a la región andina, especialmente los departamentos de Valle del Cauca, Risaralda y Cauca, donde alcanza el 81,0 %, en tanto que en el Tolima y sus cuencas hidrográficas los estudios taxonómicos y ecológicos de plecópteros y del género *Anacroneuria* aún son incompletos. Menos del 10 % de las especies conocidas del género *Anacroneuria* en la región neotropical andina están asociadas con sus formas inmaduras (Barreto-Vargas, *et al.*, 2005; Bohórquez, *et al.*, 2011; Zúñiga, *et al.*, 2013).

Dada la importancia del orden Plecoptera, en particular del género *Anacroneuria* Klapálek (1909), en el presente estudio se planteó ampliar el conocimiento ecológico de este grupo en el país usando como modelo de estudio tres quebradas afluentes del río Combeima (Ibagué, Tolima, Colombia): Las Perlas, La Plata y Cay. Asimismo, se analizaron las relaciones entre su abundancia y distribución espacio-temporal con variables fisicoquímicas y microbiológicas. Este es un procedimiento tradicional en estudios comparativos en comunidades hidrobiológicas que se basa en sus formas inmaduras a nivel de familia y, en algunos casos, de género (Alonso-EguíaLis, *et al.*, 2014). Los resultados del estudio permitirán complementar la información morfológica para mejorar la resolución taxonómica y ecológica de las formas inmaduras de los plecópteros en el departamento del Tolima. Servirán también como base de futuros estudios de bioindicación de la calidad de agua en el río Combeima y sus afluentes, así como de valoración de su biodiversidad y base para establecer estrategias de diagnóstico ambiental y de conservación (Zúñiga, *et al.*, 2013).

## Materiales y métodos

### Área de estudio

La cuenca del río Combeima cuenta con 27.421 ha y se encuentra en la vertiente oriental de la cordillera Central (04°19'30" - 04°39'57" N; 75°10'11" - 75°23'23" O); hace parte de la cuenca mayor del río Coello (**Leonel & Páez, 2000; Pérez & Bosque, 2008**) y limita por el norte con el municipio de Anzoátegui, por el sur con las cuencas de los ríos Opía y Coello, por el oriente con el municipio de Anzoátegui y los ríos La China, Alvarado y Chipalo, y por el occidente con el río Coello. A esta cuenca tributan 18 microcuencas, entre las que sobresalen por su extensión Juntas o Las Perlas, La Plata, El Tejar, Cay y Corazón (**CONPES, 2009**). En cuanto a su superficie altitudinal, la cuenca varía desde los 5.225 m s.n.m. en su nacimiento en el nevado del Tolima hasta los 648 m s.n.m. en su desembocadura en el río Coello (**CORTOLIMA, 2006**). La precipitación media anual es de 1.816 mm<sup>3</sup>, con dos épocas de sequía y dos de lluvia (distribución bimodal): las primeras de diciembre a marzo y de julio a agosto, y las segundas de abril a junio y de septiembre a noviembre, y la temperatura media anual de 17 °C (**CORTOLIMA, 2006**). Según el análisis pluviométrico entre 1986 y 2000, el valor máximo de precipitación alcanzado fue de 2.250 mm<sup>3</sup> en los sectores de Villa Restrepo y la quebrada Cay (**CONPES, 2009**). Las tres quebradas se seleccionaron con base en el área, el caudal, la longitud, el acceso, el rango altitudinal, y los impactos antropogénicos sobre estos cuerpos de agua, atributos según los cuales las quebradas Las Perlas (PE), La Plata (PL) y Cay (CA) son las de mayor relevancia para el estudio (**CORTOLIMA, 2006; CONPES, 2009**) (**Figura 1S**, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/951/2749>).

### Muestreo biológico

En cada microcuenca se establecieron tres áreas de trabajo: parte alta (1), media (2) y baja (3) (**Tabla 1**). Se hicieron seis muestreos (M1 – M6) durante un ciclo hidrológico: de agosto de 2016 a mayo de 2017, incluidos los periodos de transición a temporada de lluvias (M1: agosto, 2016; M4: febrero, 2017), lluvias intensas (M2: octubre, 2016; M5: abril, 2017) y transición a poca lluvia (M3: diciembre, 2016; M6: mayo, 2017), con el fin de tener información de periodos climáticos contrastantes según el registro hidrológico histórico (últimos 30 años) suministrado por el IDEAM para la cuenca del río Combeima y sus tributarios. En diferentes tramos de cada quebrada se hicieron recolecciones aleatorias de material biológico siguiendo las metodologías planteadas por **Froehlich & Oliveira (1997)** y **Buss & Salles (2007)**, utilizando una red Surber (30x30 cm, 0.09 m<sup>2</sup> y 250 µm de poro de malla). El material recolectado se almacenó en frascos plásticos debidamente etiquetados y se fijó en solución de alcohol al 70 %.

**Tabla 1.** Estaciones de muestreo y ubicación geográfica en la cuenca del río Combeima, sectores Las Perlas (PE), La Plata (PL) y Cay (CA), Ibagué (Colombia)

| Estación | Altitud (m) | Coordenadas (N - O) |               | Caracterización general    |
|----------|-------------|---------------------|---------------|----------------------------|
| PE1      | 2.586       | 4° 35' 52,0"        | 75° 18' 14,5" | Sin impacto antrópico      |
| PE2      | 2.073       | 4° 34' 32,0"        | 75° 19' 12,3" | Influencia agrícola        |
| PE3      | 1.998       | 4° 33' 47,9"        | 75° 19' 18,3" | Bajo impacto antrópico     |
| PL1      | 1.791       | 4° 31' 15,4"        | 75° 17' 15,7" | Sin impacto antrópico      |
| PL2      | 1.677       | 4° 30' 47,1"        | 75° 17' 41,0" | Influencia agrícola-urbana |
| PL3      | 1.679       | 4° 30' 42,9"        | 75° 17' 54,2" | Alto impacto antrópico     |
| CA1      | 1.738       | 4° 29' 24,6"        | 75° 14' 37,0" | Influencia agrícola        |
| CA2      | 1.522       | 4° 28' 23,5"        | 75° 15' 16,3" | Influencia agrícola-urbana |
| CA3      | 1.419       | 4° 27' 48,5"        | 75° 15' 39,6" | Alto impacto antrópico     |

### **Toma de muestras bacteriológicas y fisicoquímicas**

Se evaluaron *in situ* las variables de temperatura del ambiente y del agua ( $^{\circ}\text{C}$ ) y de conductividad eléctrica ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ ) con un medidor multiparamétrico portátil (Schott Handylab multi12/Set). Se determinó asimismo la velocidad de la corriente, la profundidad y el caudal según la metodología propuesta por **Sabater & Elozegi** (2009). Se tomaron muestras de agua en cada estación de muestreo y se conservaron a menos de  $10^{\circ}\text{C}$  con gel refrigerante en neveras portátiles para el posterior análisis de las variables fisicoquímicas, el pH (unidades de pH), el oxígeno disuelto ( $\text{mgO}_2/\text{L}$ ), el porcentaje de saturación de oxígeno ( $\%\text{SAT.O}_2$ ), la turbidez (UNT), la alcalinidad total y la dureza ( $\text{mgCaCO}_3/\text{L}$ ), los cloruros ( $\text{mg Cl}/\text{L}$ ), nitratos ( $\text{mgNO}_3/\text{L}$ ) y fosfatos ( $\text{mg PO}_4/\text{L}$ ), el fósforo total ( $\text{mg P}/\text{L}$ ), los sólidos suspendidos y los totales ( $\text{mg}/\text{L}$ ), la demanda biológica de oxígeno ( $\text{DBO}_5$ ) y la DQO ( $\text{mgO}_2/\text{L}$ ), así como los parámetros bacteriológicos de recuento de coliformes totales (RCT) (UFC/100mL) y de coliformes fecales (RCF) (UFC/100mL), en el Laboratorio de Servicios de Extensión en Análisis Químico (LASEREX) de la Universidad del Tolima (Ibagué, Colombia).

### **Determinación de organismos**

Las ninfas se identificaron inicialmente a nivel de género en el Laboratorio de Zoología de la Universidad del Tolima con base en las claves y descripciones taxonómicas de **Benedetto** (1974), **Zamora & Roessler** (1995, 1997), **Marques & Froehlich** (1999), **Hamada & Couceiro** (2003), **Zúñiga, et al.** (2005), **Froehlich** (2009), **Stark, et al.** (2009, 2012) y **Bohórquez, et al.** (2011). Se hizo un análisis biométrico mediante morfometría tradicional en una muestra de 60 especímenes de una población total de 528 organismos del género *Anacroneuria* para diferenciar caracteres morfológicos relevantes en un rango de talla entre los 1,0 y los 1,9 cm de longitud. Los individuos con tallas entre 0,9 cm o menos y 2 cm o más (222) no fueron objeto del estudio debido al desarrollo temprano o por la baja densidad de la población de ninfas en sus últimos estadios, con lo cual se evitaron potenciales errores taxonómicos (**McLellan & Zwick**, 2007). En la medición de la longitud total del organismo (LT) se tuvo en cuenta la distancia desde el labro hasta el extremo distal del último segmento abdominal en su parte dorsal, el ancho de la región cefálica (AC) en su zona dorsal, la longitud de la región cefálica (LC) desde el labro hasta la sutura metópica, el ancho de la cápsula cefálica (AO) y el ancho ocelar (AO) entre los bordes internos de los ojos, la longitud (LP) y el ancho (AP) de la región del pronoto y la longitud de la región abdominal (LA) (**Figura 1**). Como complemento se consideraron los estudios de morfometría tradicional en ninfas del género *Anacroneuria* de **Zamora & Roessler** (1997), **Dujardin, et al.** (1998), **Fenoglio, et al.** (2007) y **Oliveira, et al.** (2007). Las ninfas se midieron en el programa ImageJ-Fiji; una vez capturada la imagen en estereoscopio Optika SZM-LED 2 y cámara digital Optika 4083.B9, se calibraron con placa entomológica en una escala de 1 mm y se rectificaron con el paquete Optika Vision Lite.



**Figura 1.** Ninfa de *Anacroneuria* sp. con las medidas morfométricas evaluadas. LC: longitud cefálica; LP: longitud del pronoto; LA: longitud del abdomen; LT: longitud total; AO: ancho ocelar; AC: ancho cefálico; AP: ancho del pronoto. (Imagen a 12,5x)

### *Análisis de las variables morfológicas*

El supuesto de normalidad de cada variable morfológica se analizó mediante el estadígrafo de Shapiro-Wilks y, si no se cumplía la homogeneidad de varianzas, se recurría a una comparación independiente con un ANOVA no paramétrico de **Kruskal & Wallis** (1952) para comprobar su significación estadística ( $\alpha=0,05$ ). Para determinar el conjunto de variables no correlacionadas, es decir, que explicaban la variación de los resultados de las pruebas morfométricas, se hizo un análisis de componente principales (ACP) con los datos transformados por  $\ln x+1$  al no cumplir los supuestos de normalidad y homocedasticidad. Estos análisis se realizaron con el programa R, versión 3.4.1 (**Team, R. C.**, 2015).

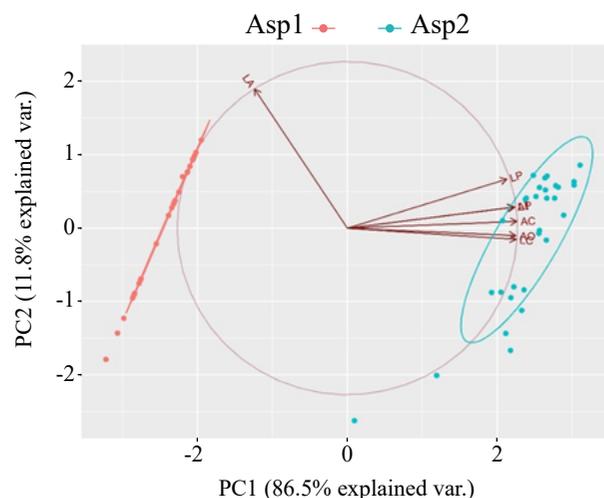
### *Análisis de las variables bacteriológicas y fisicoquímicas y su relación ecológica*

Para establecer las diferencias significativas de cada variable e independientemente por quebrada a nivel espacial y temporal, se utilizó un ANOVA no paramétrico de una vía (Kruskal-Wallis) si no se cumplían los supuestos incluso después de la transformación de los datos con logaritmo natural ( $\ln x+1$ ). Por otra parte, para identificar la relación multivariada de los factores fisicoquímicos y bacteriológicos en cada una de las quebradas de estudio, se utilizó un ACP con el fin de obtener “n” componentes para una mejor interpretación de la relación entre las variables. Mediante el análisis de correlación de Spearman se determinó la asociación entre las morfoespecies en estudio y las variables bacteriológicas y fisicoquímicas en cada microcuena, con el fin de detectar algún tipo de respuesta que pudieran generar en la población de ninfas. Todos los análisis de los datos se realizaron con el programa R, versión 3.4.1 (**Team, R. C.**, 2015).

## Resultados y discusión

### *Morfometría de las ninfas*

Las variables morfométricas (LT, LC, LP, LA, AC, AO, AP) presentaron diferencias significativas (Kruskal-Wallis:  $p \leq 0,05$ ) entre las ninfas analizadas. Por otra parte, el ACP reveló en el componente 1 (CP1) el 86,53 % de la varianza y en el componente 2 (CP2), el 11,80 %, para un acumulado de la varianza total explicada en 98,33 %. El CP1 describía la variación de los morfotipos en relación con la magnitud de los coeficientes de las variables de ancho cefálico ( $AC=0,4047$ ), longitud cefálica ( $LC=0,4029$ ) y ancho ocelar ( $AO=0,4023$ ), por lo que este componente se relacionó con la descripción morfológica de la cabeza, en tanto que el componente 2 (CP2) se relacionó con la variación de los morfotipos en función de la longitud del abdomen ( $LA=0,9198$ ) sobre la longitud total del espécimen (**Figura 2**).



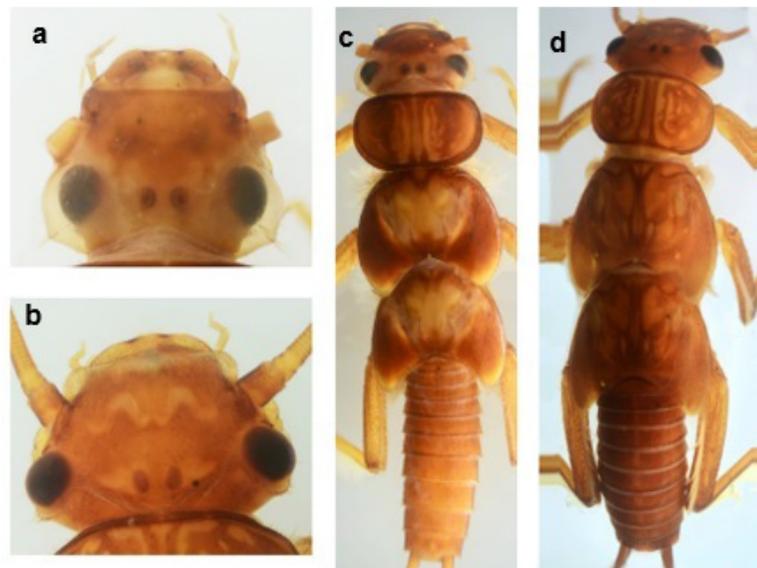
**Figura 2.** Biplot 1x2 del ACP de las variables morfométricas evaluadas en ninfas de *Anacroneuria* recolectadas en el sector de estudio (Las Perlas, La Plata y Cay).

Estos resultados evidencian que entre las variables LA, AC y AO hubo diferencias métricas en la muestra de ninfas seleccionadas; según **Zamora & Roessler** (1995, 1997) y **Gamboa & Arrivillaga** (2010), estas mediciones pueden considerarse como caracteres diagnósticos que ayudan a describir las especies en dos morfotipos, denominados en este estudio como Asp1 y Asp2 (*Anacroneuria* sp1 y *Anacroneuria* sp2, respectivamente). El uso de herramientas morfométricas permite inferir mediante análisis comparativo la presencia de varios morfotipos, su relación ecomorfológica y sus historias de vida, el uso del recurso y las relaciones con el ambiente (**Dujardin, et al.**, 1998). Sin embargo, ante la escasa información sobre la relación de las ninfas del orden Plecoptera con sus formas adultas (**Stark, et al.**, 2009; **Zúñiga**, 2010; **Castillo, et al.**, 2013; **Castillo-Sánchez, et al.**, 2018), es necesario describir los caracteres diagnósticos de las ninfas que facilitan su diferenciación y su relación con las formas adultas mediante otras técnicas como la morfometría geométrica o la determinación a nivel bioquímico y molecular (**Gamboa & Arrivillaga**, 2010; **Gamboa & Arrivillaga-Henríquez**, 2019).

### Diagnosis

El valor promedio de la longitud total (LT) en las ninfas de Asp1 fue de 1,3175 cm ( $\pm$  DE= 0,049). Su cuerpo era delgado y aplanado desde la sección del tórax y el abdomen. La longitud cefálica (LC) fue de 0,1257 cm ( $\pm$  DE= 0,005), el ancho de la cápsula cefálica (AC) de 0,2682 cm ( $\pm$  DE= 0,011) y el ancho ocelar (AO) de 0,1447cm ( $\pm$  DE= 0,011). En la cabeza se observó una mancha de color marrón desde el borde del clipeo hasta la parte media de la cápsula cefálica sin alcanzar los bordes externos. La longitud del pronoto (LP) era de 0,1602 cm ( $\pm$  DE= 0,014) y el ancho (AP) de 0,3004 cm ( $\pm$  DE= 0,014). El abdomen era largo, cilíndrico en su parte proximal y ligeramente aplanado en la parte distal, con una media longitudinal (LA) de 0,5539 cm ( $\pm$  DE: 0,021) (**Figura 3 a, c**).

Por su parte, Asp2 presentó un valor promedio en la longitud total (LT) de 1,6542 cm ( $\pm$  DE= 0,06); comparativamente, el cuerpo era de forma más robusta y semicurva desde la sección del tórax hasta el abdomen que el de Asp1. La longitud cefálica (LC) era de 0,2188 cm ( $\pm$  DE= 0,018), el ancho de la cápsula cefálica (AC) de 0,4009 cm ( $\pm$  DE= 0,023) y el ancho ocelar (AO) de 0,2703 cm ( $\pm$  DE= 0,017). En la parte dorsal de la cabeza también se observaron tres depresiones que formaban entramados particulares, una en la



**Figura 3.** Ninfas de *Anacroneuria* sp1 (Asp1) y *Anacroneuria* sp2 (Asp2) registradas en el área de estudio. **a)** cabeza de Asp1 (57x); **b)** cabeza de Asp2 (40x); **c)** región dorsal de Asp1 (12,5x); **d)** región dorsal de Asp2 (10x)

región media de la cápsula cefálica y dos rodeando los ocelos. El pronoto presentaba una forma más elipsoidal que en Asp1, con una mayor curvatura en la región anterior y una leve depresión interna en posición distal-posterior y hacia la línea ecdisial, y rodeado por finos pelos. La longitud media (LP) era de 0,1927 cm ( $\pm$  DE= 0,012) y el ancho (AP) de 0,4028 cm ( $\pm$  DE= 0,025). El abdomen se presentaba corto en relación con el resto del cuerpo y de forma ancha y robusta, con una longitud (LA) de 0,5168 cm ( $\pm$  DE= 0,019) (**Figura 3 b, d**).

Con base en estos datos, se propone en este estudio que en futuras investigaciones con plecópteros en el río Combeima se reconozcan por lo menos dos poblaciones de ninfas de *Anacroneuria*, ya que no presentaron correspondencia en el crecimiento, entre la longitud del cuerpo y la longitud del abdomen, e incluso en las últimas etapas preimaginales hubo diferencias significativas (LA;  $p < 0,05$ ) entre las poblaciones de las dos morfoespecies propuestas, constituyéndose la longitud del abdomen en un carácter diagnóstico en el presente estudio. En contraposición con los estudios de **Fenoglio, et al.** (2007), se encontró en las ninfas grandes un abdomen más reducido y robusto que el de las pequeñas (**Figura 3 b, d**), lo que refleja una tendencia alométrica entre las dos morfoespecies. En este sentido, hay estudios morfométricos de insectos hemimetábolos (**Klingenberg & Zimmermann, 1992**) y ninfas de *Anacroneuria* (**Gamboa, et al., 2009**; **Gamboa & Arrivillaga-Henríquez, 2010**) en los que se relacionan aspectos ecológicos del tamaño de las ninfas y las partes del cuerpo, así como su sistemática filogenética y su biogeografía (**Fenoglio & Morisi, 2001**). Una diferenciación en la longitud del abdomen en relación con la longitud del cuerpo en las ninfas antes de la etapa preimaginal puede relacionarse con la demanda energética, el presupuesto energético o los requerimientos reproductivos en algunas especies (**Fenoglio & Rościszewska, 2003**; **Fenoglio, 2003**). Según **Gamboa, et al.** (2009), la diferencia de tallas entre las ninfas de *Anacroneuria* promueve la selección de nichos tróficos que definen el tamaño de las presas ingeridas y la actividad diaria de alimentación.

#### **Variables bacteriológicas y fisicoquímicas**

**Quebrada Las Perlas.** En las estaciones PE1, PE2, PE3 las variables que reflejaron variación significativa en su rango ( $p \leq 0,05$ ) fueron la alcalinidad (valores entre 172 y 84 mg/L), la conductividad eléctrica (557 y 297  $\mu$ S/cm), los sólidos totales (542 y 198 mg/L) y el caudal (147,86 y 13,03 m<sup>3</sup>/s), siendo la estación PE2 la de los valores más altos y la PE1 la de los mínimos. Estas variables se ven influenciadas por los cambios en la precipitación en el sector, por las características topográficas del terreno en la PE2, y las variaciones en el caudal y la influencia de material alóctono ante los procesos erosivos que convergen en el lecho de la quebrada, como se ha descrito en otros sistemas acuáticos similares en los Andes colombianos (**Roldán & Ramírez, 2008**; **Ospina-Arias, et al., 2016**). Asimismo, en el análisis temporal de los muestreos (periodos climáticos) se determinaron las variables significativas ( $p \leq 0,05$ ) en su rango: dureza (623 y 104 mg/L), con el valor máximo registrado en febrero de 2017 y el mínimo en agosto de 2016; los nitratos con valores entre los 0,4 mg/L en abril de 2017 y 0,001 mg/L en febrero de 2017; el oxígeno disuelto con un valor máximo de 6,1 mg/L en mayo de 2017 y de 2,7 mg/L en octubre de 2016, y la DQO con un valor máximo de 59,3 mg/L en agosto de 2016 y de 1,0 mg/L en abril de 2017. Estas variables se vieron influenciadas por los cambios bimodales en las épocas de lluvia intensa y las de transición a lluvias, así como por la saturación de iones y los procesos de escorrentía y erosión (**Roldán & Ramírez, 2008**).

**Quebrada La Plata.** Las variables significativas ( $p \leq 0,05$ ) en las estaciones de muestreo fueron la temperatura, con valores entre los 25 °C en la PL3 y 12 °C en PL2; la alcalinidad, entre 79 mg/L en PL2 y 33,1 mg/L en PL1, y la conductividad eléctrica, entre 208  $\mu$ S/cm en PL3 y 14  $\mu$ S/cm en PL1, cuya variación podría deberse a factores como la topografía del terreno, la alta precipitación en el sector PL1 y el arrastre del material alóctono y autóctono por el lecho de la quebrada, lo que modifica las condiciones físicas y químicas a lo largo del cauce en PL2 y PL3 (**Chará-Serna, et al., 2012**; **Ospina-Arias, et al., 2016**). En los

periodos de muestreo, las variables significativas ( $p \leq 0,05$ ) fueron el oxígeno disuelto, que fluctuó entre 6,21 mg/L en mayo de 2017 y 3,56 mg/L en diciembre de 2016; los nitratos, con 1,020 mg/L en abril de 2017 y 0,001 mg/L en agosto de 2016; los RCF, que fluctuaron entre 9, E+05 UFC/100mL en octubre de 2016 y 2, E+00 UFC/100mL en mayo de 2017. Las variables mostraron una asociación con las temporadas de lluvias y de sequía, las características del lecho del cauce, sus afluentes, el entorno y la escorrentía.

*Quebrada Cay.* Las variables significativas ( $p \leq 0,05$ ) fueron la temperatura, con valores entre 24 °C en CA3 y 12 °C en CA1; la conductividad eléctrica entre 250  $\mu\text{S}/\text{cm}$  en CA3 y 148  $\mu\text{S}/\text{cm}$  en CA2; los cloruros, entre 7,7 mg/L en CA3 y 1,3 mg/L en CA1, y los fosfatos, entre 15,8 mg/L en CA2 y 0,1 mg/L en CA1. Estas variaciones se asociaron con la diferencia en los tramos altitudinales (1.738 a 1.419 m s.n.m.), con los asentamientos urbanos y la canalización de las aguas para el acueducto municipal de Ibagué (CORTOLIMA, 2006; Hernández & Ramírez, 2016). En cuanto a los periodos del muestreo, las variables significativas correspondieron al oxígeno disuelto, con valores entre los 6,13 mg/L en mayo de 2017 y los 2,53 mg/L en diciembre de 2016; los sólidos suspendidos, entre 53 mg/L en agosto de 2016 y 17 mg/L en abril de 2017; los nitratos, entre 2,43 mg/L en abril de 2017 y 0,00 mg/L en agosto de 2016 y los RCF con valores entre 1, E+05 UFC/100mL en octubre de 2016 y 7, 0E+00 UFC/mL en abril de 2017. Esta variación de los datos corresponde a periodos de transición a la temporada de pocas lluvias (diciembre-mayo), transición a lluvias (agosto) y periodos de lluvias intensas (octubre-abril), lo que se relaciona con la disminución y el aumento en el arrastre de materiales orgánicos que hacen parte de la microcuenca en los sectores CA2 y CA3 por influencia de la actividad antropogénica en el sector asociada con procesos de deforestación y erosión (Vásquez, *et al.*, 2013; Hernández & Ramírez, 2016).

#### *Análisis de componentes principales*

*Quebrada Las Perlas.* Se determinaron tres componentes de las variables de estudio: el primero fue el de salinidad y cauce, conformado por las variables de cloruros, profundidad, área y caudal con correlaciones positivas, lo que indicaba que un aumento en el caudal involucra una mayor concentración de sales (cloruros), influenciado por el arrastre de minerales y de carga orgánica en época de alta precipitación, lo que interviene en la topografía del cauce y las condiciones ribereñas (Roldán & Ramírez, 2008). El segundo componente de dureza y alcalinidad se componía de las variables de dureza, pH, y alcalinidad, con correlaciones positivas que reflejan un aumento proporcional en la dureza del agua y en su basicidad. Un tercer componente de oxígeno disuelto y contaminación orgánica con correlaciones positivas en las variables de RCT y RCF y negativas en el oxígeno disuelto. Por lo tanto, un aumento de contaminación por material orgánico producto de las actividades antropogénicas (ganadería, agricultura) y el vertimiento de aguas residuales en el sector disminuye la concentración de oxígeno (Gutiérrez-Garaviz, *et al.*, 2014). La varianza total explicada a partir de los tres componentes fue del 65,72 %, en la cual el CP1 aportó el 26,08 %, el CP2 el 23,75 % y el CP3 el 14,88 % (Figura 2S, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/951/2750>).

*Quebrada La Plata.* El análisis definió tres componentes de la siguiente forma: el primer componente de RCT y nitratos hubo correlación negativa con el RCT, el ancho del lecho y los sólidos suspendidos y positiva con los nitratos. Según Roldán & Ramírez (2008) existen valores de nitratos muy bajos en los arroyos altoandinos, pero a medida que se desciende a los valles estos se incrementan debido a la actividad agrícola y el vertimiento de contaminantes domésticos y la erosión de los suelos provocada por el arrastre de sedimentos a causa de las lluvias. En el segundo componente de temperatura, DBO<sub>5</sub> y fósforo mostró correlaciones positivas en las tres variables, lo que indicó que a medida que se incrementó la temperatura del agua al descender en las estaciones de estudio, también lo hicieron las cargas orgánicas en el lecho del cauce por la influencia del material alóctono (Gutiérrez-Garaviz, *et al.*, 2014; Ospina-Arias, *et al.*, 2016). Un tercer componente, ancho del lecho y DQO, conformado por las variables ancho con correlación negativa y

positiva con la DQO y el oxígeno disuelto, lo que indica que la disminución en el ancho del cauce de la quebrada incrementa el contenido de materia orgánica y el consumo del oxígeno disuelto para su descomposición (Roldán & Ramírez, 2008). La varianza total explicada a partir de los tres componentes fue del 55,94 %, con un aporte del CP1 de 22,30 %, del CP2 de 17,32 % y del CP3 de 16,33 % (Figura 3S, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/951/2751>).

*Quebrada Cay.* Se establecieron tres componentes. En el primero, compuesto por conductividad y ancho del lecho, se integraron las variables de conductividad eléctrica y cloruros con correlaciones positivas y negativa con el ancho del lecho. El incremento de la conductividad en el agua estuvo condicionado por la disminución del ancho y el área del cauce, la naturaleza geoquímica del terreno y las épocas de lluvia y sequía (Roldán & Ramírez, 2008). En el segundo componente el material disuelto y la profundidad del lecho las variables de sólidos suspendidos y fósforo tuvieron una correlación positiva, y la profundidad, negativa, en tanto que un tercer componente, los nitratos y la DQO, registró una correlación positiva con las variables de nitratos y oxígeno disuelto y negativa con la DQO. La DQO es un indicador analítico que mide la contaminación mediante el contenido de materia orgánica que afecta la concentración del oxígeno disuelto en el agua, entre otros factores (Roldán & Ramírez, 2008; Gutiérrez-Garaviz, et al., 2014). La varianza total explicada a partir de los tres componentes fue del 58,29 %: el CP1 aportó el 23,27 %, el CP2 el 20,28 % y el CP3 el 14,74 % (Figura 4S, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/951/2752>). Según autores como Froehlich & Oliveira (1997), Bispo, et al. (2006) y Zúñiga (2010), en el Neotrópico los ríos de alta montaña mantienen una dinámica constante por el flujo de sus aguas al pasar de tramos de corriente rápida con una elevada carga de oxígeno y menor intervención antropogénica a zonas de bajo porcentaje de saturación de oxígeno y gran influencia de las actividades agrícolas y demás actividades humanas que generan cambios, a veces significativos, en sus microhábitats y en la dinámica de las poblaciones.

#### ***Correlación de Spearman para las tres microcuencas***

Se evidenció que para la morfoespecie Asp1 en la quebrada Las Perlas se presentó una correlación negativa entre la densidad de su población y el fósforo (-0,5266). Asimismo, en el sector de la quebrada La Plata, hubo correlación con la conductividad eléctrica (-0,4726) y en la quebrada Cay con los nitratos (-0,4821). Para la morfoespecie Asp2, en la quebrada Las Perlas se encontró una relación negativa con la variable DQO (-0,5635) y relaciones positivas con las variables de pH (0,7080), temperatura (0,6750), nitratos (0,5569) y fósforo (0,5421). En las quebradas La Plata y Cay no se evidenció ninguna correlación significativa. En cuanto al gradiente altitudinal, al integrar los datos de las tres microcuencas (2.500 a 1.400 m s.n.m.) se evidenció una correlación negativa de Asp1 con las variables de temperatura (-0,3597), fosfatos (-0,3250), y nitratos (-0,4408) y positiva con las variables de área (0,3754) y caudal (0,3795). Por otra parte, Asp2 mostró relaciones negativas con la variable de temperatura (-0,3840) y RCF (-0,4789) y relaciones positivas con el pH (0,4862), la dureza (0,4709), la alcalinidad (0,3394), la conductividad eléctrica (0,3851), el oxígeno disuelto (0,3164) y los sólidos totales (0,3389). Los análisis permitieron deducir que Asp1 requiere de afluentes donde el caudal y el área sean de una condición ecológica relativamente estable y de baja carga orgánica, ya sea la producida por el arrastre de sedimentos o la escorrentía generada por las lluvias y los suelos erosionados o intervenidos por la actividad agrícola (Roldán & Ramírez, 2008; Sierra-Labastidas, et al., 2017). Por su parte, Asp2 presentó un mayor rango de respuesta ecológica que Asp1 en las microcuencas evaluadas y en un tramo altitudinal (2.500 a 1.400 m s.n.m.), y su densidad se vio afectada por factores como la contaminación orgánica proveniente de la actividad doméstica y agrícola y la carga de materia orgánica resultante de los procesos de erosión en el sector. Estas correlaciones corresponden a las características físicas y ambientales de las microcuencas que responden a sus condiciones topográficas de terrenos con evidente erosión, tramos con pendientes elevadas y zonas

intervenidas por la agricultura y los asentamientos humanos, lo cual es característico de las quebradas de la región andina del país (Leonel & Páez, 2000; Roldán & Ramírez, 2008; Zúñiga, 2010; Vásquez, *et al.*, 2013; Hernández & Ramírez, 2016). El presente estudio coincide con los trabajos de Bispo, *et al.* (2002) y Tomanova & Tedesco (2007) en cuanto al amplio margen de tolerancia de las ninfas de *Anacroneuria* frente a las características fisicoquímicas del agua y demás condiciones ambientales en la zona de estudio, pues toleran algún grado de contaminación orgánica, la deficiencia de oxígeno y grados variables de intervención antropogénica. Según varios autores (Baptista, *et al.*, 2001; Bobot & Hamada, 2002; Tomanova & Tedesco, 2007; Zúñiga, 2010; Castillo-Sánchez, *et al.*, 2018), y tal como se confirmó en este estudio, las ninfas de *Anacroneuria* se establecen tanto en zonas de rápidos de las quebradas como en lugares donde la corriente es baja con una velocidad del agua entre 0,01 y 0,97 m/s, y temperaturas entre los 7 y los 25 °C, así como en quebradas con variación en el porcentaje de saturación de oxígeno (35 a 83 %). También se determinó que con los rangos de conductividad eléctrica registrados (entre 1,5 y 557  $\mu\text{S}/\text{cm}$ ) y una amplitud del lecho entre 0,5 y 12 m, las ninfas de *Anacroneuria* se establecen y exhiben un amplio margen de tolerancia en las zonas altas del Neotrópico (siempre que haya disponibilidad de oxígeno disuelto según la información obtenida), respondiendo adecuadamente a corrientes con perturbación variable y demostrando su capacidad de supervivencia y respuesta ecológica para la adquisición de alimento (Tomanova & Tedesco, 2007).

## Conclusiones

Se confirmó la composición de Plecoptera en las quebradas tributarias de la cuenca del río Combeima analizadas con la presencia únicamente de la familia Perlidae y el género *Anacroneuria* con dos morfoespecies y desde los 2.500 m hasta los 1.400 m s.n.m. Asimismo, se identificaron dos tipos de morfoespecies (*Anacroneuria* sp1, Asp1, y *Anacroneuria* sp2, Asp2) en el estadio ninfal mediante morfometría tradicional y el análisis de componentes principales (ACP) con caracteres morfológicos relevantes como la longitud del abdomen (LA), el ancho ocelar (AO) y el ancho cefálico (AC). Asimismo, el ACP de las variables bacteriológicas y fisicoquímicas permitió inferir que en las estaciones con algún grado de intervención antropogénica (PE2, PI2, PL3, CA2 y CA3), se había restringido el ensamble de las morfoespecies de *Anacroneuria*. El análisis de correlación de Spearman determinó que Asp1 requiere de cuerpos de agua con menor intervención humana y baja carga orgánica de material alóctono o proveniente de la actividad agrícola, en tanto que Asp2 aparentemente tiene un mayor rango de respuesta ecológica frente a los cambios en las condiciones naturales del cuerpo de agua. Se confirmó que las ninfas del género *Anacroneuria* difieren en sus niveles de tolerancia ante las condiciones ambientales cambiantes y que en el Neotrópico estas especies pueden tolerar algún grado de contaminación orgánica, así como variaciones en el caudal y la temperatura del agua.

## Información Suplementaria

**Figura 1S.** Mapa de la cuenca del río Combeima y puntos de muestreo. Ver la figura 1S en <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/951/2749>

**Figura 2S.** *Biplot* 1X2 del ACP de las variables fisicoquímicas de mayor contribución en la quebrada Las Perlas. Ver la figura 2S en <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/951/2750>

**Figura 3S.** *Biplot* 1X2 del ACP de las variables fisicoquímicas de mayor contribución en la quebrada La Plata. Ver la figura 3S en <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/951/2751>

**Figura 4S.** *Biplot* 1X2 del ACP de las variables fisicoquímicas de mayor contribución en la quebrada Cay. Ver la figura 4S en <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/951/2752>

## Agradecimientos

Al Grupo de Investigación en Zoología de la Universidad del Tolima (GIZ-UT). Al Dr. Edwin Orlando López Delgado por su contribución a esta investigación. A la Oficina de Investigaciones y Desarrollo Científico de la Universidad del Tolima por la financiación del proyecto (código 210230516). Los autores agradecen de manera especial al Editor asociado y a los evaluadores, cuyos aportes y comentarios acertados contribuyeron a mejorar el manuscrito.

## Contribución de los autores

El primer autor contribuyó al desarrollo y estandarización de las metodologías de campo y laboratorio y el análisis de los resultados; el segundo autor asesoró de manera continua el desarrollo del proyecto de investigación, el análisis de los resultados y la corrección del documento; el tercer autor colaboró en el análisis de los resultados y la revisión del documento.

## Conflicto de intereses

Ninguno.

## Referencias

- Alonso-EguíaLis, P., Mora, J. M., Campbell, B., Springer, M. (Eds.).** (2014). Diversidad, conservación y uso de los macroinvertebrados dulceacuícolas de México, Centroamérica, Colombia, Cuba y Puerto Rico. Instituto Mexicano de Tecnología del Agua, Universidad Autónoma de Querétaro. p. 444.
- Arango, C., Dorado, J., Guzmán, D., Ruiz, J. F.** (2012). Cambio climático más probable para Colombia a lo largo del siglo XXI respecto al clima presente. Grupo de Modelamiento de Tiempo, Clima y Escenarios de Cambio Climático, Subdirección de Meteorología, IDEAM, Bogotá. Nota Técnica IDEAM. Disponible en: <http://www.ideam.gov.co/documents/21021/21138/Escenarios+Cambio+Climatico+%28Ruiz%2C+Guzman%2C+Arango+y+Dorado%29.pdf/fe5d64fb-3a82-4909-a861-7b783d0691cb>
- Baptista, D. F., Buss, D. F., Dorvillé, L. F. M., Nessimian, J. L.** (2001). Diversity and habitat preference of aquatic insects along the longitudinal gradient of the Macaé river basin, Rio de Janeiro, Brazil. *Revista Brasileira de Biologia*. **61** (2): 249-258.
- Barreto-Vargas, G., Reinoso-Flórez, G., Guevara-Cardona, G., Villa-Navarro, F. A.** (2005). Primer registro de Gripopterygidae (Insecta: Plecoptera) para Colombia. *Caldasia*. **27** (2): 243-246.
- Benedetto, L.** (1974). Clave para la determinación de los plecopteros sudamericanos. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*. **9** (2): 141-170.
- Bispo, P. D. C., Froehlich, C. G., Oliveira, L. G.** (2002). Spatial distribution of Plecoptera nymphs in streams of a mountainous area of central Brazil. *Brazilian Journal of Biology*. **62** (3): 409-417.
- Bispo, P. D. C., Oliveira, L. G., Bini, L. M., Sousa, K. G. D.** (2006). Ephemeroptera, Plecoptera and Trichoptera assemblages from riffles in mountain streams of Central Brazil: Environmental factors influencing the distribution and abundance of immatures. *Brazilian Journal of Biology*. **66** (2B): 611-622.
- Bobot, T. E. & Hamada, N.** (2002). Plecoptera genera of two streams in Central Amazonia, Brazil. *Entomotropica*. **17**: 299-301.
- Bohórquez, H., Reinoso, G., Guevara, G.** (2011). Seasonal size distribution of *Anacroneuria* (Plecoptera: Perlidae) in an Andean tropical river. *Revista Colombiana de Entomología*. **37** (2): 305-312.
- Buss, D. F. & Salles, F. F.** (2007). Using Baetidae species as biological indicators of environmental degradation in a Brazilian river basin. *Environmental Monitoring and Assessment*. **130** (1-3): 365.
- Castillo-Sánchez, K.; Aguirre, Y.; Ríos-González, T., Bernal Vega, J.** (2018). *Anacroneuria* (Plecoptera: Perlidae) del río Caldera, Chiriquí, Panamá, con nuevos registros de distribución, y comentarios sobre distribución altitudinal y variación estacional. *Revista de Biología Tropical*. **66** (1): 164-177.
- Castillo, G., Zúñiga, M. D. C., Bacca, T.** (2013). The order Plecoptera (Insecta) of Nariño department, Colombia. *Revista Colombiana de Entomología*. **39** (2): 229-236.
- Chará-Serna, A. M., Zúñiga, M. D. C., Chará, J.** (2009). Diversidad de Chironomidae (Insecta: Díptera) asociados a hojarasca en quebradas de la cuenca del río Otún (Risaralda, Colombia). En Resúmenes del XXXVI Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología. Medellín.

- Chará-Serna, A. M., Chará, J. D., Zúñiga, M.C., Pearson, R. G., Boyero, L.** (2012). Diets of leaf litter-associated invertebrates in three tropical streams. *Annales de Limnologie-International Journal of Limnology*. **48** (2): 139-144.
- Consejo Nacional de Política Económica y Social, CONPES.** (2009). Estrategias de mitigación del riesgo en la cuenca del río Combeima para garantizar el abastecimiento de agua en la ciudad de Ibagué. Documento 3570.
- Corporación Autónoma Regional del Tolima, CORTOLIMA.** (2006). Plan de ordenación y manejo de la cuenca hidrográfica mayor del río Coello. Ibagué: CORTOLIMA. p. 1036.
- Covich, A. P., Crowl, T. A., Scatena, F. N.** (2003). Effects of extreme low flows on freshwater shrimps in a perennial tropical stream. *Freshwater Biology*. **48** (7): 1199-1206.
- Domínguez, E. & Fernández, H. R.** (2009). Macroinvertebrados bentónicos sudamericanos. Sistemática y Biología. Fundación Miguel Lillo, Tucumán, Argentina. p. 656.
- Dujardin, J. P., Forgues, G., Torrez, M., Martínez, E., Córdoba, C., Gianella, A.** (1998). Morphometrics of domestic *Panstrongylus rufotuberculatus* in Bolivia. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology*. **92** (2): 219-228.
- Fenoglio, S.** (2003). Feeding habits of *Anacraoneuria* nymphs (Plecoptera:Perlidae). *Bollettino della Società entomologica italiana*. **135**: 15-17.
- Fenoglio, S. & Morisi, A.** (2001). *Anacraoneuria starki*, a new species from Nicaragua (Plecoptera: Perlidae). *Aquatic Insects*. **23** (4): 311-314.
- Fenoglio, S. & Rosciszewska, E.** (2003). A characterization of the egg capsules of *Anacraoneuria starki* and *A. talamanca* (Plecoptera: Perlidae), with a suggestion about the distribution of stoneflies in the Tropics. *Folia Biologica-Krakow*. **51** (3/4): 159-164.
- Fenoglio, S., Bo, T., Malacarne, G.** (2007). Allometric growth in *Anacraoneuria* Klapálek 1909 nymphs (Plecoptera:Perlidae). *Tropical Zoology*. **20**: 109-114.
- Froehlich, C. G.** (2009). Plecoptera. En: Domínguez E. y H. Fernández (Eds.) Macroinvertebrados bentónicos sudamericanos. Sistemática y biología. Fundación Miguel Lillo, Tucumán. p. 145-166.
- Froehlich, C. G. & Oliveira, L. G.** (1997). Ephemeroptera and Plecoptera nymphs from riffles in low-order streams in southeastern Brazil. *Ephemeroptera and Plecoptera: Biology-Ecology-Systematics*. **1**: 180-185.
- Gamboa, M., Chacón M., Segnini, S.** (2009). Ritmo diario de alimentación y tamaño de presa en cuatro especies simpátricas de Plecoptera (Insecta) en un río tropical andino. *Ecotrópicos*. **22** (1): 37-43.
- Gamboa, M. & Arrivillaga, J.** (2010). Análisis morfométrico de cuatro especies simpátricas del género *Anacraoneuria* (Plecoptera: Perlidae). *Limnetica*. **29** (2): 0247-256.
- Gamboa, M. & Arrivillaga-Henríquez, J.** (2019). Biochemical and molecular differentiation of *Anacraoneuria* species (Plecoptera, Insecta) in Andean National Park, Venezuela. *Systematics and Biodiversity*. **17** (7): 669-678.
- Gutiérrez-Garaviz, J., Zamora-González, H., Andrade-Sossa, C.** (2014). Efecto de la actividad antrópica sobre la composición y diversidad de macroinvertebrados acuáticos en el río Cofre (sistema lótico andino colombiano). *Revista Biodiversidad Neotropical*. **4** (2): 113-23
- Hamada, N. & Couceiro, S. R. M.** (2003). An illustrated key to nymphs of Perlidae (Insecta, Plecoptera) genera in Central Amazonia, Brazil. *Revista Brasileira de Entomologia*. **47** (3): 477-480.
- Hernández, Y. & Ramírez, H.** (2016). Evaluación del riesgo asociado a vulnerabilidad física por taludes y laderas inestables en la microcuenca Cay, Ibagué, Tolima, Colombia. *Ciencia e Ingeniería Neogranadina*. **26** (2): 111-128.
- Klapálek, F.** (1909). *Wiener Entomologische Zeitung*. **28** (7/8): 228. <https://www.biodiversitylibrary.org/item/42668#page/260/mode/1up>
- Klingenberg, C. P. & Zimmermann, M.** (1992). Static, ontogenetic, and evolutionary allometry: A multivariate comparison in nine species of water striders. *The American Naturalist*. **140** (4): 601-620.
- Kruskal, W. H., & Wallis, W. A.** (1952). Use of ranks in one-criterion variance analysis. *Journal of the American statistical Association*. **47** (260): 583-621.
- Leonel, H. F. & Páez, L. A.** (2000). Aproximación ecosistémica de la cuenca del río Combeima, Departamento del Tolima. *Revista de Ciencias Agrícolas*. **17** (2): 126-135.
- Longo, M., Zarnora, H., Guisande, C., Ramírez, J. J.** (2010). Dinámica de la comunidad de macroinvertebrados en la quebrada Potrerillos (Colombia) respuesta a los cambios estacionales de caudal. *Limnetica*. **29** (2): 195-210.

- Marques, L. F. & Froehlich, C. G.** (1999). Additional characters to distinguish the nymphs of the Perlidae genera from southeastern Brazil (Insecta, Plecoptera). *Aquatic Insects*. **21** (4): 281-284.
- McLellan, I. D. & Zwick, P.** (2007). New species of and keys to South American Gripopterygidae (Plecoptera). *Illiesia*. **3** (4): 20.
- Oliveira, M. A., Souza, R. C. M., Diotaiuti, L.** (2007). Redescription of the genus *Cavernicola* and the tribe Cavernicolini (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae), with morphological and morphometric parameters. *Zootaxa*. **1457** (1): 57-68.
- Ospina-Arias, O., García-Cobas, G., Gordillo-Rivera, J., Tovar-Hernández, K.** (2016). Evaluación de la turbiedad y la conductividad ocurrida en temporada seca y de lluvia en el río Combeima (Ibagué, Colombia). *Ingeniería Solidaria*. **12** (19): 19-36.
- Pérez-Gómez, U. & Bosque-Sendra, J.** (2008). Transiciones de la cobertura y uso de la tierra en el período 1991-2005 en la cuenca del río Combeima, Colombia. *Serie Geográfica - Profesora María de los Ángeles Díaz Muñoz, In Memoriam*. **14**: 163-178. ISSN: 1136-5277.
- Roldán-Pérez, G.** (2016). Los macroinvertebrados como bioindicadores de la calidad del agua: cuatro décadas de desarrollo en Colombia y Latinoamérica. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*. **40** (155): 254-274.
- Roldán, G. & Ramírez, J.J.** (2008). *Fundamentos de Limnología neotropical*. (2a ed.) Medellín: Editorial Universidad de Antioquia. ISBN: 978-958-714-144-3. p. 442.
- Sabater, S. & Elozegi, A.** (2009). Otros factores físicos de importancia para los seres vivos: luz, temperatura, corriente. *Conceptos y técnicas en ecología fluvial*. *Editors: Arturo Elozegi i Sergi Sabater, capítulo 9*, p. 133-140.
- Sierra-Labastidas, T. K., Tamaris-Turizo, C. E., Picón, S. A. R., Rueda-Delgado, G.** (2017). Densidad, biomasa y hábitos alimentarios de *Anacroneuria* Klapálek 1909 (Plecoptera: Perlidae) en un río tropical. *Actualidades Biológicas*. **39** (107): 66-74.
- Stark, B.P., Froehlich, C., Zúñiga, M. del C.** (2009). South American stoneflies (Plecoptera) En: Adis, J., Arias, J.R., Golovatch, S., Wantzen, K.M. y Rueda-Delgado, G. (EDE.). *Aquatic Biodiversity of Latin America (ABLA)*. Vol 5. Pensoft, Sofia-Moscow. p. 154.
- Stark, B. P., Kondratieff, B. C., Gill, B.** (2012). New species and records of *Anacroneuria* (Plecoptera: Perlidae) from Ecuador and Paraguay. *Illiesia*. **8** (6): 78.
- Stewart, K. W. & Stark, B. P.** (2002). *Nymphs of North American Stonefly Genera (Plecoptera)*. Second Edition. The Caddis, Columbus, Ohio, EEUU. p. 320-323.
- Tamaris-Turizo, C. & Turizo-Correa, R.** (2004). Evaluación del hábitat y tipo de alimentación de los plecópteros de la parte alta del río Gaira, departamento del Magdalena, Colombia. Trabajo de grado (Biólogo), Facultad de Ciencias Básicas Universidad del Magdalena, Santa Marta.
- Team, R. C.** (2015). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing. 2014.
- Tomanova, S., Goitia, E., Heles, J.** (2006). Trophic levels and functional feeding groups of macroinvertebrates in neotropical streams. *Hydrobiologia*. **556**: 251-264.
- Tomanova, S. & Tedesco, P.A.** (2007). Tamaño corporal, tolerancia ecológica y potencial de bioindicación de la calidad de agua de *Anacroneuria* spp. (Plecoptera: Perlidae) en América del Sur. *Rev. Biol. Trop.* **55** (1): 67-81.
- Vásquez, J.M., Guevara, G., Reinoso, G.** (2013). Impactos de la urbanización y agricultura en cuencas con bosque seco tropical: influencia sobre la composición y estructura de larvas de tricópteros. *Revista Asociación Colombiana de Ciencias (Col.)*. **25**: 61-70.
- Zamora, G.H. & Roessler, E.** (1995). Descripción morfológica y taxonómica de una nueva especie de *Anacroneuria* (Insecta: Plecoptera). *Revista Asociación Colombiana de Ciencias Biológicas*. **9** (1-2): 85-91.
- Zamora, G.H. & Roessler, E.** (1997). Números de estadios nayaales, ciclo biológico y patrón de crecimiento de *Anacroneuria caucana* (Insecta: Plecoptera). *Revista UNICAUCA Ciencia*. **2**: 15-24.
- Zúñiga, M. del C.** (2010). Diversidad, distribución y ecología del orden Plecoptera (Insecta) en Colombia, con énfasis en *Anacroneuria* (Perlidae). Universidad de la Amazonía. *Revista Momentos de Ciencia*. **7** (2): 101-112.
- Zúñiga, M. del C., Stark, B. P., Gutiérrez, L.C.** (2005). *Anacroneuria caraca* Stark: Primer registro de Plecoptera (Insecta) para la Sierra Nevada de Santa Marta, Colombia. *Revista Dugandía, Ciencias Básicas, Universidad del Atlántico*. **1** (1): 84-89.
- Zúñiga, M. del C., Stark, B. P., Posso, C. E., Garzón, E.** (2013). Especies de *Anacroneuria* (Insecta: Plecoptera: Perlidae) de Colombia, depositadas en el Museo de Entomología de la Universidad del Valle (Calí, Colombia). *Revista Biota Colombiana. Suplemento de datos*: 5-12.