



FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

TRABAJO FIN DE GRADO
TÍTULO: LÍQUENES Y MUSGOS COMO
BIOINDICADORES DE CONTAMINACIÓN
ATMOSFÉRICA

Autor: Elena Morillo Sanz

Fecha: 22/07/2020

Tutor: Leopoldo Garcia Sancho

Índice

1	Resumen.....	3
2	Introducción	4
2.1	Bioindicadores	4
2.2	Líquenes y musgos	5
2.3	Contaminación atmosférica	7
3	Objetivos.....	10
4	Materiales y métodos	10
5	Resultados y discusión.....	10
5.1	Líquenes y dióxido de azufre (SO ₂)	12
5.2	Líquenes y compuestos nitrogenados	15
5.3	Líquenes y ozono (O ₃).....	16
6	Conclusiones	17
7	Bibliografía	¡Error! Marcador no definido.

1 Resumen

El desarrollo industrial y urbano ha producido un aumento de la contaminación atmosférica, que puede tener consecuencias sobre el medio ambiente y sobre la salud de las personas. Desde el siglo XIX se ha asociado con una disminución de la diversidad líquénica. Los líquenes, organismos simbióticos compuestos por un hongo y un componente fotosintético (algas o cianobacterias), han mostrado en diferentes publicaciones ser excelentes bioindicadores de la contaminación ambiental tanto de forma cualitativa como cuantitativa, presentado la ventaja de ser más económicos que otros métodos. En este trabajo se analiza la aplicación de los líquenes y musgos como biomonitores del dióxido de azufre (SO₂), los óxidos de nitrógeno (NO_x) y el ozono (O₃). El primero de estos contaminantes es el que más afecta a las poblaciones de líquenes y en menor medida, a los musgos, y ha sido por tanto el más estudiado. Los óxidos de nitrógeno tienen una relevancia especial en zonas con alta densidad de tráfico y su peligrosidad está asociada a su alta reactividad, por lo que son capaces de formar contaminantes secundarios, que afectan a la salud humana y medioambiental, como el ozono. Hacen falta más estudios para poder afirmar que los líquenes son buenos bioindicadores del ozono, por su alta tolerabilidad hacia lo que parece ser un factor limitante.

Abstract

Industrial and urban development have produced an increase in air pollution, which can have consequences on the environment and on people's health. Since the 19th century it has been associated with a decrease in lichen diversity. Lichens, symbiotic organisms composed of a fungus and a photosynthetic partner (algae or cyanobacteria), have been found in different publications to be excellent bioindicators of environmental contamination both qualitatively and quantitatively and presented the advantage of being more cheaper than other methods. In this work the application of lichens and mosses as biomonitors of sulfur dioxide (SO₂), nitrogen oxides (NO_x) and ozone (O₃) is analyzed. The first of these pollutants is the one that most affects lichen populations and also mosses, therefore the most studied. Nitrogen oxides have a special relevance in areas with high traffic density and their danger is associated with their high reactivity, so they are capable of forming secondary pollutants, which affect human and environmental health, such as ozone. More studies are needed to be able to affirm that lichens are good bioindicators of ozone, since their high tolerability towards what seems to be a limiting factor.

2 Introducción

El desarrollo industrial durante el siglo XIX trajo consigo muchos cambios, entre ellos un empeoramiento de la calidad del aire y con ello, una disminución de la biodiversidad vegetal. Nylander (1), en 1886, fue el primero en relacionar los líquenes con la calidad del aire, estudiando su presencia en los “Jardins du Luxenburg”, en París. Otro estudio muy importante fue el desarrollado en 1970 por Hawksworth y Rose en Inglaterra (2) en el que desarrollaron una escala cualitativa que relacionaba el grado de contaminación por dióxido de azufre y la presencia de líquenes epífitos.

En España el primer estudio que relacionaba los líquenes con la contaminación atmosférica se publicó en 1977 por Crespo *et al.* (3) que realizaron un análisis cuantitativo sobre las comunidades de líquenes epífitos y posteriormente, mapas de isocontaminación. Estos tipos de estudios se han extendido a otras zonas de la península, utilizando metodologías similares, como en Galicia, Lisboa o León.

Tras estos estudios, los líquenes se han relacionado con otros parámetros como la presencia de metales pesados, ozono, óxidos de nitrógeno o incluso con la presencia de problemas de salud en una determinada zona geográfica.

2.1 Bioindicadores

Los bioindicadores son seres vivos que nos dan información sobre las condiciones del medio en el que se encuentra. Es decir, son organismos cuyas funciones vitales van a estar relacionadas con distintos factores, tanto naturales como antropogénicos y que nos permiten señalar la presencia de estos, pudiendo ser útil para evidenciar la existencia de diferentes contaminantes y su incidencia sobre organismos vivos (4,5).

Atendiendo al tipo de datos que nos pueden proporcionar podemos diferenciar dos conceptos:

- Bioindicadores: su presencia, ausencia, cantidad u otras características van a indicar la presencia o no de un factor ambiental, es decir, nos dan datos cualitativos.
- Biomonitores: su presencia o ausencia nos dan información cualitativa, pero van a tener características medibles y proporcionales a la presencia o ausencia de un contaminante o alteración, lo que nos da información cuantitativa.

Dependiendo del tipo de respuesta del organismo a los diferentes contaminantes los bioindicadores se pueden clasificar en:

- Acumuladores: organismos que acumulan contaminantes en sus tejidos gracias a la resistencia que tienen hacia ellos. Un ejemplo es la presencia de metales pesados.
- Oportunistas: seres vivos que, ante una alteración determinada del medio, crecen a una velocidad superior a la normal como respuesta a una disminución de la competencia con otros organismos.
- Detectores: bioindicadores que viven en un medio determinado y ante un cambio ambiental, su presencia o características se ven alteradas (ausencia, disminución del crecimiento...).

Otro concepto es el de las especies centinela, que son introducidas artificialmente en un medio debido a su alta sensibilidad frente a un contaminante y a su rapidez para detectarlo (4,5,6).

El uso de bioindicadores para evaluar la contaminación de un medio tiene ventajas frente a métodos tradicionales. Este tipo de técnicas son más baratas y van a permitir obtener resultados relativos a toda la vida del bioindicador, mientras que los métodos fisicoquímicos solo nos dan información de un momento puntual. Si un contaminante permanece poco tiempo en el medio o está en cantidades muy pequeñas, las técnicas fisicoquímicas podrían tener poca utilidad, sin embargo, estos contaminantes podrían acumularse en microorganismos o alterar sus características, funcionando como bioindicadores. Otra limitación de las técnicas tradicionales es que no permiten establecer los efectos sinérgicos o antagónicos de varios contaminantes presentes en un medio, esto se solucionaría con el uso de bioindicadores.

2.2 *Líquenes y musgos*

Los líquenes son organismos que surgen de la asociación de un hongo, al que se le denomina micobionte, y de un componente fotosintético, al que se le denomina fotobionte.

Los hongos son organismos heterótrofos, es decir, no puede elaborar su propia materia orgánica por lo que la consiguen por otras fuentes, como puede ser de materia orgánica en descomposición, parasitando otros seres vivos o, como es el caso de los líquenes, estableciendo una relación de simbiosis con organismos con capacidad fotosintéticas.

El fotobionte pueden ser algas, normalmente de los géneros *Trebouxia* o *Trentepohlia* o cianobacterias, siendo el género más común *Nostoc*. El micobionte en la mayoría de los casos

son hongos ascomicetos, es decir, con reproducción sexual mediante esporas formadas en ascos (7,8).

La biología de estos organismos va a hacer que sean buenos bioindicadores de la contaminación atmosférica por diferentes razones (7,9,4):

1. Dependen totalmente de la atmósfera y del sustrato para realizar su metabolismo porque carecen de raíces.
2. No tienen cutícula, toda la superficie va a contribuir en la absorción de nutrientes del aire.
3. Son perennes, de crecimiento lento y con una alta longevidad, esto va a permitir que acumulen durante más tiempo los contaminantes en concentraciones más altas que otros organismos de su entorno.
4. Son muy sensibles a cambios en el pH en el entorno, esto es útil en el caso de la presencia de SO₂ y otros contaminantes de carácter ácido en la atmósfera.
5. Hay una gran variabilidad interespecífica en cuanto a la sensibilidad de los distintos contaminantes, lo que permite valorar el grado de contaminación.
6. Su recolección es sencilla.
7. Tienen bajos requerimientos de nutrientes y humedad, lo que permite que se encuentren en sitios muy diversos, incluso donde la mayoría de los seres vivos no son capaces de sobrevivir.

Según la Guía de líquenes epífitos (2000) (7) los efectos de los contaminantes sobre los líquenes pueden ser de tres tipos:

1. Metabólicos y fisiológicos: en la parte fotobionte puede verse alterada la fotosíntesis o la respiración, además podrían inhibirse procesos como la fijación de N₂.
2. Alteraciones morfológicas y anatómicas: alteraciones del crecimiento, manchas, disminución del tamaño del talo, alteración de orgánulos...
3. Efectos sobre las comunidades: las especies sensibles a los contaminantes van a desaparecer y pueden suceder dos cosas, que se sustituyan por especies tolerantes a los contaminantes presentes en el medio o que no aparezcan otros, disminuyendo la biodiversidad.

En cuanto a su estructura o formas de crecimiento podemos dividir los líquenes en tres biotipos (7,8):

- Líquenes crustáceos: su cara inferior está estrechamente unida al sustrato, siendo difícil separarlo sin destruirlo.
- Líquenes foliáceos: están parcialmente unidos al sustrato, en este caso, podemos separarlo sin destruirlo. Su estructura es más compleja y en este caso la cara inferior está diferenciada y van a tener una estructura laminar.
- Líquenes fruticulosos: el talo va a unirse al sustrato generalmente por un punto, formando pequeños arbustos.

Para el uso de los líquenes como bioindicadores nos centramos en las especies epífitas, es decir, líquenes que se han adaptado a vivir sobre otras plantas, normalmente los árboles. No debemos confundir este término con otras formas de vida parásitas, en este caso el hospedador no va a recibir ningún daño y, a diferencia de las plantas parásitas, las epífitas no van a obtener el agua o nutrientes directamente de la especie hospedadora. (10)

Los musgos son plantas pertenecientes a la división *Briophyta*, de pequeño tamaño y caracterizadas por un ciclo de vida con dos generaciones, gametofítica (haploide) y esporofítica (diploide). Su estructura es simple, carecen de un sistema vascular desarrollado y, al igual que los líquenes, crecen sobre diferentes superficies como son las rocas, el suelo o árboles, generalmente en ambientes húmedos. Gracias a su simplicidad, amplia distribución geográfica y sensibilidad a los cambios del aire, los musgos se consideran unos buenos bioindicadores de distintos contaminantes atmosféricos, destacando su uso en la monitorización de metales pesados.

2.3 Contaminación atmosférica

La contaminación atmosférica se define como “la presencia en la atmósfera de materias, sustancias o formas de energía que impliquen molestia grave, riesgo o daño para la seguridad y la salud de las personas, el medio ambiente y demás bienes de cualquier naturaleza.” (11)

Es importante diferenciar los conceptos de emisión e inmisión. En la Ley 8/2002 del 18 de diciembre de protección del ambiente atmosférico de Galicia (12) se definen estos conceptos:

- Emisión: “Descarga o vertido a la atmósfera, realizados de forma continua o con carácter irregular, de sustancias o formas de energía procedentes, directa o

indirectamente, de instalaciones, equipos y actividades potencialmente contaminantes del aire ambiente”.

- Nivel de inmisión: “concentración de un contaminante en el aire ambiente o su depósito en superficies en un momento o en un periodo determinados”.
- Límite de inmisión: “Concentración máxima admisible de un contaminante dado en el aire ambiente, basada en conocimientos científicos y establecida a fin de evitar, prevenir o reducir los efectos nocivos para la salud humana y el medio ambiente en su conjunto, que debe alcanzarse en un plazo determinado y no superarse una vez alcanzado”.

Los contaminantes pueden venir de fuentes naturales (incendios, erupciones volcánicas...) o de fuentes antropogénicas (industria, automóviles, tratamiento de residuos...). Atendiendo a su origen, los contaminantes pueden dividirse en contaminantes primarios (son emitidos directamente al aire) y los secundarios (proviene de transformaciones químicas o físicas de los contaminantes primarios). (13,14)

Los contaminantes primarios pueden a su vez:

- Gaseosos: dióxido de azufre (SO_2), monóxido de carbono (CO), óxidos de nitrógeno (NO_x) como el dióxido de nitrógeno (NO_2) y el monóxido de nitrógeno (NO), hidrocarburos (HC), dióxido de carbono (CO_2)
- No gaseosos: metales pesados como el cadmio, plomo o mercurio y partículas (PM) que a su vez se pueden dividir según su tamaño en PM_{10} (diámetro menor a 10 micras) y $\text{PM}_{2,5}$ (diámetro menor a 2,5 micras).

En cuanto a los contaminantes secundarios destacan el ozono (O_3) y algunos compuestos derivados del SO_2 como el ácido sulfúrico (H_2SO_4) y el trióxido de azufre (SO_3).

Debido a sus efectos tóxicos sobre la salud y/o medio ambiente y a su capacidad para afectar a diferentes especies liquénicas vamos a centrarnos en el dióxido de azufre, los óxidos de nitrógeno y el ozono. Hay que tener en cuenta que los efectos dependen de la concentración y el tiempo de exposición a los contaminantes.

El SO_2 es un gas incoloro que proviene principalmente de la combustión de combustibles fósiles azufrados, principalmente en el sector industrial. Va a tener efectos sobre distintos ecosistemas, ocasionando una pérdida de la biodiversidad y una alteración del suelo como consecuencia de

la reacción de este contaminante con vapor de agua y otros componentes de la atmósfera, contribuyendo a la formación de la lluvia ácida. En cuanto a los efectos sobre la salud, puede producir irritación ocular y, a nivel del sistema respiratorio, lesiones, infecciones y exacerbación del asma. Además, se ha visto que los días con niveles altos de este contaminante aumentan los ingresos por cardiopatías. Los valores fijados por la OMS en este caso son de $20 \mu\text{g}/\text{m}^3$ de media en 24 h y de $500 \mu\text{g}/\text{m}^3$ de media en 10 minutos. (13,14)

Los óxidos de nitrógeno (NO_2 , NO) son gases emitidos en procesos de combustión de carburantes, producidos, principalmente, por transporte, industria y generación eléctrica. En las zonas urbanas el tráfico rodado tiene un gran impacto, emitiendo el 75% del NO_2 . Los óxidos de nitrógeno además tienen un alto impacto debido a que van a sufrir transformaciones físicas y químicas, dando lugar a contaminantes secundarios como el ozono troposférico. Estas transformaciones van a depender de diversos factores como la temperatura, la emisión de estos contaminantes o la intensidad de la luz solar. Contribuyen al efecto invernadero y a la formación de lluvia ácida, produciendo efectos adversos sobre el medio ambiente como la acidificación o la limitación del crecimiento en algunos vegetales. Los efectos sobre la salud van a ser similares a los del SO_2 , con irritación ocular y diferente sintomatología a nivel del sistema respiratorio. En las directrices de la OMS se establecen valores fijados para este contaminante, siendo $40 \mu\text{g}/\text{m}^3$ de media anual y $200 \mu\text{g}/\text{m}^3$ de media en una hora. (13,14,15)

El ozono (O_3) es un gas altamente reactivo que puede diferenciarse en ozono estratosférico (compone el 90% del ozono de la atmósfera formando la capa de ozono, destaca su factor protector frente a la radiación ultravioleta) y el troposférico, considerado un contaminante secundario atmosférico. El ozono está de forma natural en la troposfera debido al transporte desde la estratosfera y a la formación mediante reacciones fotoquímicas. Los principales precursores del ozono troposférico son los óxidos de nitrógeno (NO_x), ya mencionados, y los compuestos orgánicos volátiles (COV). Para que tengan lugar estas reacciones es necesaria la presencia de luz solar, por este motivo los niveles de ozono sufren un ciclo diario con un pico máximo a medio día, es decir, cuando hay niveles más altos de precursores debido al tráfico y radiación solar más intensa. Los niveles de ozono también siguen un ciclo estacional, siendo, en zonas urbanas o cercanas, alcanzando sus máximos en verano y sus mínimos en invierno. Otra característica del ozono troposférico es que puede transportarse grandes distancias, pudiendo encontrar niveles altos de ozono en un lugar y haberse formado a partir de la emisión

de precursores en zonas lejanas. Se trata de un oxidante muy agresivo teniendo diversos efectos negativos sobre el medio ambiente como reducción de la biodiversidad, alteración de ecosistemas o contribuir en el efecto invernadero. En cuanto su efecto sobre la salud se ha visto que incrementa la mortalidad prematura y tiene efectos sobre el sistema respiratorio similares a los mencionados anteriormente. La OMS recomienda como valor límite $100 \mu\text{g}/\text{m}^3$ de ozono de media en ocho horas. (16,11)

3 Objetivos

El objetivo de este trabajo bibliográfico de fin de grado es explicar el fundamento y metodología y la utilidad del uso musgos y líquenes bioindicadores para monitorizar diferentes contaminantes atmosféricos y como afectan a las diferentes especies, centrándonos, por su importancia, en los líquenes y en contaminantes como el dióxido de azufre, los óxidos de nitrógeno y el ozono.

4 Materiales y métodos

Para la realización del trabajo se ha llevado a cabo una revisión bibliográfica de diferentes publicaciones científicas utilizando diversas bases de datos como PubMed, Google Academic o ScienceDirect. También se han utilizado diferentes libros relacionados con los líquenes, la contaminación o la ecotoxicología y sitios webs oficiales como los de la Organización Mundial de la Salud, la Organización de las Naciones Unidas. Las palabras claves utilizadas fueron “lichen”, “moss”, “air pollution”, “bioindicator”, “sulfur dioxide”, “biomonitoring”.

5 Resultados y discusión

Como se ha visto, los líquenes son magníficos bioindicadores que nos van a dar información acerca de la calidad de la atmósfera., presentando la ventaja frente a los métodos físico-químicos de ser estudios más económicos. Para poder medir la respuesta de los líquenes a los contaminantes atmosféricos podemos utilizar principalmente dos métodos: los estudios de gradiente y los estudios de fumigación.

Los estudios de gradiente se basan en la idea de que los efectos de la contaminación atmosférica sobre los líquenes van a variar siguiendo un gradiente, es decir, van a verse menos afectados cuanto más alejados estén de la fuente de contaminación. Para poder llevarlos a cabo tenemos principalmente dos opciones:

1. Mapear una zona específica. Se basa en elaborar mapas atendiendo a la presencia o ausencia de líquenes en áreas determinadas. El primer estudio de este tipo se realizó en 1926 por Sernander en Estocolmo que diferenció tres zonas: “desierto de líquenes” (ausencia de líquenes) “zona de lucha” (hay líquenes escasos, se trata de una zona de transición entre el desierto de líquenes y la siguiente zona) y la “zona normal”. A partir de los datos obtenidos podemos establecer la relación entre los líquenes y la contaminación de forma cualitativa (presencia/ausencia de especies concretas de líquenes), semicuantitativa (escalas basadas en la sensibilidad de las especies) o cuantitativa (mediante la elaboración de índices) (7,17). Entre los índices utilizados destacan:

- a. Índice de pureza atmosférica (IPA). Utilizado por primera vez por LeBlanc y Sloover en 1970. Permite tener una evaluación del nivel de contaminación atmosférica basándose en la presencia y frecuencia de especies de líquenes en un área. Hay muchas fórmulas para calcular el IAP, pero con la que se obtiene mayor correlación con la contaminación es la siguiente (considerando F como la frecuencia de cada especie, pudiendo ser como mínimo 1 y como máximo 10) (18).

$$IPA = \sum F_i$$

Con los valores obtenidos pueden crearse mapas de isocontaminación, que pueden estar divididos en cinco niveles:

Tabla 1. Niveles de contaminación del índice de pureza atmosférica

Nivel	IAP	Grado de contaminación
A	≤ 12,5	Muy alto
B	12,5 - 25	Alto
C	25 – 37,5	Moderado
D	37,5 - 50	Bajo
E	≥50	Muy bajo

Fuente: adaptado de Conti ME, Cecchetti G. Biological monitoring: lichens as bioindicators of air pollution assessment - a review. Environmental Pollution. 2001 Octubre; 114(3).

- b. Índice de diversidad de Shannon y Wiener. La medida de la biodiversidad específica puede ser muy útil en estudios ecológicos, pero es muy complicada de estimar. El índice de diversidad de Shannon y Wiener es de los más utilizados. En base a dos factores (el número de especies presentes y su

abundancia relativa) refleja la heterogeneidad de la comunidad estudiada aplicando la siguiente fórmula:

$$H = - \sum \pi_i \ln \pi_i$$

Siendo π_i el número de cuadros de la gradilla ocupados por un taxón entre el número total de cuadros de la gradilla. El valor normalmente va a estar entre 1,5 y 3,5, aumentando con la riqueza y la homogeneidad de la población, alcanzando su máximo cuando todas las especies están igual de presentes (19,20).

Otra aplicación de los mapas elaborados es comparar mapas de la misma zona en diferentes épocas (por ejemplo, un mapa de ahora con uno de hace 10 años), esto nos va a dar información sobre la evolución de la atmósfera en esa área, de forma que si se observa una disminución de la biodiversidad o densidad de los líquenes, se traduce en un aumento de la contaminación y si se observa un aumento de los mismos parámetros implica que ha disminuido la contaminación en dicha zona.

2. Recoger líquenes nativos de una zona para analizar directamente los contaminantes que tienen en el talo o trasplantar líquenes de áreas no contaminadas a áreas contaminadas para medir la bioacumulación de contaminantes y cambios morfológicos o fisiológicos en ellos (18).

Los estudios de fumigación consisten en exponer a los líquenes a contaminantes específicos en condiciones controladas para estudiar su respuesta mediante variables como la fotosíntesis, la respiración o la concentración de clorofila. Esta metodología tiene la ventaja de que da información más específica, permite establecer qué efectos concretos produce un contaminante o mezcla de ellos sobre las especies estudiadas, lo que puede ser útil para los estudios de campo (17).

5.1 Líquenes y dióxido de azufre (SO_2)

El dióxido de azufre es el principal contaminante que altera la distribución de los líquenes epífitos en zonas urbanas. Al ser un gas, los líquenes lo absorben en el proceso de respiración a través de las estomas y van a acumular sulfatos y bisulfatos en los tejidos. Los principales mecanismos de toxicidad mediante los que van a actuar el dióxido de azufre y derivados son la desactivación enzimática (produce una disminución de la actividad metabólica, y pérdida de la

función y la integridad de las membranas) y la reacción con bio-moléculas, que pueden ser química mediante la formación de aductos con los bisulfitos o la oxidación de biomoléculas. Esto va a dar lugar a la oxidación de la clorofila e inhibición de su síntesis y va a tener efectos sobre procesos necesarios como la fotosíntesis, la respiración o la fijación del nitrógeno. Es característico de estos procesos que se produzca un amarilleamiento y decoloración de los talos, además de una deformación de su estructura, causando su muerte (17,21).

Atendiendo a los efectos que produce el dióxido de azufre sobre los líquenes hay diversos parámetros que pueden ser útiles para estimar la relación entre ambos como puede ser la tasa fotosintética, la tasa respiratoria o la fluorescencia de la clorofila. La exposición al dióxido de azufre, generalmente, aumenta la degradación de clorofila a a-feofitina, por tanto, la variación del ratio clorofila a-feofitina puede ser indicativo de daño por exposición a SO₂ (18).

En ocasiones, como respuesta al estrés van a perder parte de la capacidad de retención hídrica; si medimos el ratio peso seco/peso húmedo puede ser un valor útil para la biomonitorización, al igual que la producción de etileno, que se incrementa en condiciones de estrés (17).

En Deltoro, et al. (2002) (22) se evaluó, mediante un estudio de fumigación, el efecto del SO₂ en el intercambio gaseoso, la fluorescencia de la clorofila y los enzimas antioxidantes, sobre los líquenes *Evernia prunastri* y *Ramalina fariacea*. Se encontraron resultados distintos en cada especie, destacando el aumento de la actividad de las enzimas antioxidantes en *R. farinacea* y la disminución en *E. prunastri*. El aumento en el caso de *R. farinacea* confiere mayor protección frente a la formación de radicales libres de oxígeno inducida por el SO₂, lo que sugiere que la sensibilidad de los líquenes al SO₂ va a depender en gran medida de su capacidad para procesarlo una vez absorbido.

Otro estudio de fumigación realizado por Thomas y Nash (1973) (23), que trataba de estudiar la sensibilidad de los líquenes al dióxido de azufre exponiendo, a corto plazo, durante 10 minutos a ocho especies de líquenes distintas a dicho contaminante. Se vio que a mayor exposición al SO₂, aumentaba la degradación de la clorofila a feofitina, siendo *Parmelia carperata* la especie más sensible, seguida de *Cladonia cristatella*, mientras que en *Phycia millegrana* y *Cladonia furcata* eran las más tolerantes. Además, se apreció que, a mayor contenido hídrico del talo, mayor sensibilidad frente al SO₂.

Uno de los trabajos más importantes es el publicado por Hawksworth y Rose en 1970 (2) en el que se afirma que el dióxido de azufre presente en la atmósfera puede ser estimado de forma cualitativa mediante el estudio de los líquenes epífitos. El estudio se realizó en Inglaterra y Gales y se diferenciaban 10 zonas de isocontaminación, siendo la zona 0 la más contaminada, en la que no aparecían líquenes y la zona 10 la “pura”, y diferenciando entre las comunidades que crecen sobre cortezas denominadas no-eutrofizadas (caracterizadas por un pH bajo y difícil crecimiento para líquenes nitrófilos, como árboles de los géneros *Quercus* y *Fraxinus*) y las que crecen sobre cortezas eutrofizadas (como las de los árboles del género *Ulmus*). En ambos tipos de corteza se encuentra que la especie más resistente es el alga unicelular *Pleurococcus viridis*, presente en la zona 1 (concentración de $\text{SO}_2 > 170 \mu\text{g}/\text{m}^3$) y en la zona 2 (aproximadamente $150 \mu\text{g}/\text{m}^3$ de SO_2) aparecen ya líquenes, en concreto la especie *Lecanora conizaeoides*, considerada indicadora de contaminación. En la zona 4 (aproximadamente $70 \mu\text{g}/\text{m}^3$) se encuentran los líquenes foliáceos *Hypogymnia physodes* y *Parmelia saxatilis*, que se pueden considerar tolerantes al SO_2 . Entre las especies más sensibles se encuentra *Lobaria pulmonaria*, que puede aparecer en la zona 9 (niveles de SO_2 por debajo de $30 \mu\text{g}/\text{m}^3$). Para interpretar los resultados es importante tener en cuenta que las especies que aparecen en una zona no tienen por qué estar en zonas superiores, por ejemplo, *Lecanora conizeoides* es típica de la zona 6 pero es raro que aparezca en la 9. También es importante tener en cuenta que la sensibilidad de las especies puede variar con la zona por diferentes factores, debido a esto la escala debe adaptarse para cada territorio.

En 1997 Cislighi y Nimis (24) utilizaron los líquenes como bioindicadores para establecer una relación entre la contaminación de la región del Veneto en Italia y la mortalidad de cáncer de pulmón en dicha área. Para ello se utilizaron datos obtenidos de 2425 mediciones de biodiversidad de liquénica en 1991 y datos de mortalidad en las mismas zonas de los años 1981 a 1988. Se observó que, en el caso de los hombres jóvenes nativos de las áreas estudiadas, la correlación entre ambos datos era muy alta, siendo el índice de biodiversidad liquénica inversamente proporcional a la mortalidad por cáncer de pulmón. La disminución del índice de biodiversidad está relacionada con el aumento de niveles de SO_2 , pero este contaminante no tiene efectos carcinogénicos, la relación entre ambos eventos por tanto se explican por la emisión de otros contaminantes, si carcinogénicos, junto con el SO_2 .

5.2 Líquenes y compuestos nitrogenados

La contaminación atmosférica trae consigo el incremento de especies nitrogenadas. Hay líquenes sensibles a concentraciones altas de nitrógeno, pero también especies tolerantes a la eutrofización o que incluso necesitan nitrógeno, esto va a provocar que en zonas contaminadas por compuestos nitrogenados predominen las últimas, mientras que las sensibles van a desaparecer. Las especies de la familia *Parmeliaceae* son más sensibles a la eutrofización, mientras que las familias *Physciaceae* y *Teloschistaceae*, son tolerantes (25).

En un estudio realizado por Van Dobben y Ter Baark (1998) (26) se vio que los líquenes nitrofiticos no responden directamente a las concentraciones de nitrógeno, pero sí al pH asociado a estas. El crecimiento de estas especies se va a ver favorecido con la presencia de NH_3 atmosférico (alcaliniza la corteza de los árboles donde crecen) y por la disminución de las concentraciones de SO_2 (disminuye el pH).

En el anterior apartado se ha visto que el dióxido de azufre es el principal factor limitante en el crecimiento de los líquenes, pero los óxidos de nitrógeno (NO_2 , NO) tienen una gran importancia en áreas urbanas, ya que están estrechamente relacionados con el tráfico rodado. Fuentes y Rowe (1998) (27) evaluaron el papel del dióxido de nitrógeno en los líquenes en Sevilla, donde hay niveles más altos de NO_2 , emitidos por el tráfico, que de SO_2 , más asociado a la industria. De los óxidos de nitrógeno el dióxido de nitrógeno era el que tenía una mayor correlación con el índice de pureza atmosférica y no se encontró correlación entre el IPA y los niveles de SO_2 . Se establecieron cuatro zonas de isocontaminación; en la zona A hay altas emisiones de NO_2 con una baja estabilidad, por lo que solo encuentran líquenes tolerantes como *Lepraria aeuroginosa*. En la zona B los niveles de NO_2 disminuyen y son más estables, existiendo más especies. Las zonas C y D son las más puras y estables y albergan especies más sensibles como *Parmelia tiliacea*.

En varios estudios se ha propuesto a *Cladonia portentosa* como bioindicador de la contaminación de compuestos nitrogenados, encontrando una correlación positiva entre la concentración de nitrógeno acumulado en el líquen y la concentración de NO_2 presente en el aire. La acumulación de nitrógeno en *C. portentosa* y la deposición de nitrógeno también están relacionados (28).

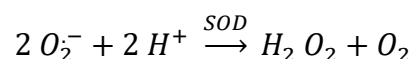
El dióxido de nitrógeno presente en la atmósfera es muy reactivo y da lugar a otros compuestos como el ozono y el ácido nítrico (HNO₃). También hay diferentes estudios sobre el efecto de estos compuestos, como el de Riddell, et al. (2012) (29) en el que se estudiaba el efecto del ácido nítrico y el ozono en seis especies diferentes de líquenes, mediante su fumigación. Los mayores efectos se encontraron en el caso del HNO₃, atribuyéndole por tanto los efectos tóxicos. Cada especie tuvo una sensibilidad distinta a las fumigaciones, siendo *Ramalina menziesii* la más sensible y *Physconia enteroxantha* la más tolerante.

Estos contaminantes también afectan a los musgos, en Bignal, et al. (2008) (30) se trasplantaron seis especies de briofitos a zonas cercanas a la carretera. En un inicio se observa el aumento del crecimiento de algunas especies, probablemente debido al efecto fertilizante de la deposición del nitrógeno emitido por el tráfico, además aumentaron las concentraciones de clorofila y carotenoides en cinco de las seis especies estudiadas. Posteriormente el crecimiento y la formación de nuevos brotes se redujo. Los niveles elevados de nitrógeno en los tejidos no son beneficiosos, en el caso de *Sphagnum recurvum* se ha visto que a concentraciones mayores del 1,5% la fotosíntesis se ve perjudicada, el contenido de agua se reduce e incluso puede producirse necrosis.

5.3 Líquenes y ozono (O₃)

La fitotoxicidad del ozono se basa su poder oxidante. El ozono va a producir especies reactivas de oxígeno que van a alterar la permeabilidad de la membrana celular a través de la peroxidación lipídica. Como resultado de la peroxidación lipídica se produce malondialdehído (MDA), cuya concentración está directamente relacionada con la exposición a O₃, siendo un indicador de daño oxidativo (18,31)

El ozono puede descomponerse dando lugar al anión superóxido (O₂⁻), altamente reactivo, y como respuesta se va a sintetizar superóxido dismutasa que va a catalizar la dismutación del anión superóxido mediante la siguiente reacción, siendo la producción de SOD útil como indicador de la presencia de ozono.



En Egger, et al (1994) (31) se demostró, mediante la fumigación del liquen *Hypogymia physodes*, que el ozono estaba relacionado de manera significativa con la actividad de

superóxido dismutasa y el contenido de malondialdehído. También había relación entre la actividad de SOD y el contenido en MDA, indicando una relación entre la presencia de aniones superóxido y la formación de MDA mediante la peroxidación lipídica.

Sin embargo, hay autores que opinan que los líquenes no son buenos bioindicadores del ozono debido a su alta capacidad para tolerarlo. Esto tiene que ver con su condición de poiquilohidria, al sufrir frecuentemente ciclos de deshidratación – rehidratación, tienen una gran capacidad de tolerar las especies reactivas de oxígeno y por lo tanto son capaces de soportar el estrés oxidativo derivado del ozono (32,33)

6 Conclusiones

- Los líquenes y musgos son excelentes bioindicadores de la calidad del aire gracias a sus características biológicas, aportando la ventaja de ser más económicos que otros métodos analíticos.
- La creación de mapas basados en biodiversidad liquénica es muy útil para realizar estudios medioambientales.
- El SO₂ es el contaminante que más afecta a los líquenes, debido a esto van a tener gran importancia en su biomonitorización.
- Los óxidos de nitrógeno adquieren una alta relevancia en zonas con una densidad de tráfico alta, donde van a ser especialmente útiles los líquenes para su biomonitorización. Estos contaminantes además son especialmente peligrosos porque son muy reactivos, dando lugar a otras moléculas, como el ozono, que también pueden afectar a los ecosistemas y a la salud humana.
- El uso de líquenes para la biomonitorización del ozono tiene limitaciones debido a la alta tolerancia de estos seres poiquilohídricos a las especies reactivas de oxígeno, desarrollada gracias a los frecuentes ciclos de deshidratación-hidratación que sufren.

7 Bibliografía

1. Nylander MW. Les Lichens Du Jardin Du Luxembourg. Bulletin de la Société Botanique de France. 1866; 13(7).
2. Hawksworth DL, Rose F. Qualitative scale for estimating sulfur dioxide air pollution in England and Wales using epiphytic lichens. Nature. 1970 Julio; 227(5254).
3. Crespo A, Manrique E, Barreno E, Seriná E. Valoración de la contaminación atmosférica del área urbana de Madrid mediante bioindicadores (líquenes epífitos). Anales del Instituto Botánico Cavanilles. 1977; 31(1).
4. Hawksworth D, Iturriaga T, Crespo A. Líquenes como bioindicadores inmediatos de contaminación y cambios-medioambientales en los trópicos. Revista Iberoamericana de Micología. 2005; 22.
5. Capó M. En Principios de ecotoxicología. Madrid: Tebar; 2007. p. 139-144.
6. González-Zuarth C, Vallarino A. Los bioindicadores ¿una alternativa real para la protección del medio ambiente? In González Zuarth CA, editor. Bioindicadores: guardianes de nuestro futuro ambiental. San Cristobal de Las Casas: Insituto Nacional de Ecología y Cambio Climático; 2014. p. 21-37.
7. Calatayud-Lorente V, Sanz-Sanchez MJ. Guía de líquenes epífitos Madrid: Organismo autónomo Parques Nacionales; 2000.
8. Barreno E, Pérez-Ortega S. Biología de los líquenes. In Barreno E, Pérez-Ortega S. Líquenes de la Reserva Natural Integral de Munielos, Asturias.; 2003. p. 65-82.
9. Gúzman-Dávalos L, Álvarez-Barajas I. Hongos y líquenes como bioindicadores y microremediación. In González Zuarth CA, editor. Bioindicadores: guardianes de nuestro futuro ambiental. San Cristobal de Las Casas: Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático; 2014. p. 579-603.
10. Granados-Sanchez D, López-Ríos GF, Hernández-García M, Sanchez-González A. Ecología de las plantas epífitas. Revista Champingo. 2003; 9(2).
11. Ayuntamiento de Madrid. Portal Web de Calidad del Aire del Ayuntamiento de Madrid. [Online].; 2015 [cited 2020 05 10]. Available from: "http://www.mambiente.madrid.es/opencms/opencms/calair/ContAtmosferica/Concepto.htm 1"

12. Ley 8/2002, de 18 de diciembre, de protección del ambiente atmosférico de Galicia. Boletín Oficial del Estado, 21 de enero de 2003, núm. 18, pp. 2636 a 2650..
13. Martínez-Ataz E, Díaz de Mera-Morales Y. Contaminación atmosférica. In Contaminación atmosférica. Castilla la Mancha: Servicio de Publicaciones de la Universidad de Castilla-La Mancha; 2004. p. 13-38.
14. Organización Mundial de la Salud. Organización Mundial de la Salud. [Online].; 2018 [cited 2020 05 14]. Available from: "[https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/ambient-\(outdoor\)-air-quality-and-health](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/ambient-(outdoor)-air-quality-and-health)"
15. Madruga D, Patier R. Implicación de los NO_x en la Química Atmosférica. Revista Electrónica de Medioambiente. 2006;(2).
16. Bermejo V, Alonso R, Elvira S, Rábago I, García-Vivanco M. El ozono troposférico y sus efectos; 2009.
17. Sett R, Kundu M. Epiphytic Lichens: Their Usefulness as Bio-indicators of Air. Donnish Journal of Research in Environmental Studies. 2016; 3(3).
18. Conti ME, Cecchetti G. Biological monitoring: lichens as bioindicators of air pollution assessment - a review. Environmental Pollution. 2001 Octubre; 114(3).
19. Gonzales-Vargas N, Luján-Pérez M, Navarro-Sanzhez G, Flores-Mercado R. Aplicabilidad de líquenes bioindicadores como herramienta de monitoreo de la calidad del aire en la ciudad de Cochabamba. Revista Acta Nova. 2016; 7(4).
20. Pla L. Biodiversidad: inferencia basada en el índice de Shannon y la riqueza. Revista Intercencia. 2006 Agosto; 31(8).
21. Lijteroff R, Lima L, Prieri B. Uso de líquenes como bioindicadores de contaminación atmosférica en la ciudad de San Luis, Argentina. Revista internacional de contaminación ambiental. 2009 mayo; 25(2).
22. Deltoro VI, Gimeno C, Calatayud A, Barreno E. Effects of SO₂ fumigations on photosynthetic CO₂ gas exchange, chlorophyll a fluorescence emission and antioxidant enzymes in the lichens Evernia prunastri and Ramalina farinace. Physiologia Plantarum. 2002 Enero; 105(4).
23. Thomas H, Nash I. Sensitivity of Lichens to Sulfur Dioxide. The Bryologist. 1973; 76(3).
24. Cislighi C, Nimis P. Lichens, air pollution and lung cancer. Nature. 1997 mayo;(387).
25. Hauck M. Eutrophication threatens the biochemical diversity in lichens. The Lichenologist. ; 43(2).

26. Van Dobben HF, Ter Braak CJF. Effects of atmospheric NH₃ on epiphytic lichens in the Netherlands: the pitfalls of biological monitoring. *Atmospheric Environment*. 1998 Febrero; 32(3).
27. Fuentes JMC, Rowe JG. The effect of air pollution from nitrogen dioxide (NO₂) on epiphytic lichens in Seville, Spain. *Aerobiologia*. 1998; 14.
28. Hyavarinen M, Crittenden PD. Relationships between atmospheric nitrogen inputs and the vertical nitrogen and phosphorus concentration gradients in the lichen *Cladonia portentosa*. *New Phytologist*. 1998; 140(3).
29. Riddell J, Padgett PE, Nash III TH. Physiological responses of lichens to factorial fumigations with nitric acid and ozone. *Environmental Pollution*. 2012 noviembre; 170.
30. Bignal KL, Ashmore MR, Headley AD. Effects of air pollution from road transport on growth and physiology of six transplanted bryophyte species. *Environmental Pollution*. 2008 Noviembre; 156(2).
31. Egger R, Schlee R, Turk R. Changes of Physiological and Biochemical Parameters in. *Phyton*. 1994; 35.
32. Bertuzzi S, Davies L, Power S, Tretiach M. Why lichens are bad biomonitors of ozone pollution? *Ecological Indicators*. 2013 Noviembre; 34.
33. Pellegrini E, Bertuzzi S, CandottoCarniel F, et al.. Ozone tolerance in lichens: A possible explanation from biochemical to physiological level using *Flavoparmelia caperata* as test organism. *Journal of Plant Physiology*. 2014 Octubre; 171(16).