



FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

TRABAJO FIN DE GRADO

TÍTULO:

**LÍQUENES Y MUSGOS COMO BIOMONITORES DE
METALES PESADOS**

Autor: Rodrigo Mares Rueda

Fecha: Julio 2020

Tutor: Dra. Ana Pintado Valverde

ÍNDICE

RESUMEN	1
1. INTRODUCCIÓN	2
1.1. Generalidades de líquenes y musgos	2
1.2. Metales pesados: contaminación y relevancia para la salud	3
1.3. Conceptos de biomonitor y biomonitorización	4
2. OBJETIVOS	5
3. METODOLOGÍA	5
4. RESULTADOS	5
4.1. Mecanismos de bioacumulación	6
4.2. Parámetros de acumulación	8
4.3. Tolerancia a metales	9
4.4. Procedimiento general de biomonitorización	11
4.4.1. Selección de especies	
4.4.2. Preparación de muestras	
4.4.3. Análisis instrumental	
4.5. Biomonitorización activa	12
4.6. Aplicaciones de los estudios de biomonitorización	13
4.6.1. Uso de líquenes y musgos para biomonitorizar metales pesados en el mundo	14
4.6.2. Uso de líquenes y musgos para biomonitorizar metales pesados en España	16
5. DISCUSIÓN	17
6. CONCLUSIÓN	17
7. BIBLIOGRAFÍA	18

RESUMEN

Los metales pesados son elementos contaminantes que suponen una problemática actual y relevante por su efecto tóxico sobre la salud del organismo humano. Esto es debido a que actúan como xenobióticos en el mismo, de forma que su acumulación desencadena alteraciones significativas que comprometen la integridad y la calidad de vida de la población afectada. Dicha población adquiere este riesgo en el momento en que se encuentra expuesta a estos contaminantes, que proceden normalmente de fuentes antropogénicas como son la industria o el tráfico. El aire es el principal encargado de transportar los metales en forma de partículas desde las fuentes de emisión. En este sentido, la monitorización de la deposición aérea de los metales resulta una buena aproximación para controlar su incidencia en una zona. Esta técnica ha sido ampliamente utilizada en todo el mundo a lo largo de los últimos años, por su accesibilidad y bajo coste.

Para ello, se ha recurrido a organismos vivos con aptitud natural para acumular y tolerar estos elementos, entre los que destacan los líquenes y musgos. La condición morfológica y fisiológica de estas especies las hace estar en constante equilibrio con la atmósfera para obtener agua y nutrientes, lo que también las hace capaces de incorporar y acumular metales de forma eficiente y en cantidades significativas. Además, estos organismos son igualmente conocidos por su longevidad, amplia distribución y resistencia a todo tipo de ambientes y condiciones climáticas. De esta forma, el uso de los líquenes y musgos como biomonitores de metales pesados constituye un buen método para poder controlar el impacto y efecto contaminante de estos elementos y para asegurar, finalmente, la salud ambiental de las poblaciones afectadas por ellos.

ABSTRACT

Heavy metals are polluting elements which have become a current and prevailing problem due to their toxic effect on the health of the human body. This happens because they act as xenobiotics on it, so their accumulation carries with significant alterations that compromise the integrity and quality of life of the affected population. This population acquires the risk when it has been exposed in some way to these pollutants, which normally come from anthropogenic sources such as industry or traffic. The air is the main responsible of transporting metals in form of particles from emission sources. In this way, the monitoring of the aerial deposition of metals is a good approach to control its incidence in an area. This technique has been widely used throughout the world in recent years, due to its accessibility and low cost.

Some living organisms with natural aptitude to accumulate and tolerate these elements have been used as biomonitors and among them lichens and mosses stand out. The morphological and physiological condition of these species makes them stay in constant equilibrium with the atmosphere to obtain water and nutrients, which also makes them capable of incorporating and accumulating metals efficiently and with significant quantities. Furthermore, these organisms are also known for their longevity, wide distribution and resilience to all kinds of environments and climatic conditions. The application of lichens and mosses as biomonitors for heavy metals is a good method to control the impact and contaminating effect of these pollutants and finally, to ensure the environmental health of the affected populations.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Generalidades de líquenes y musgos

Los líquenes son organismos compuestos, formados por un hongo (micobionte, normalmente de la división Ascomycota) y una o más algas (fotobionte, normalmente Clorophyta o con menos frecuencia Cyanobacteria), viviendo juntos en una asociación simbiótica en la cual el alga produce nutrientes esenciales para el hongo por fotosíntesis, mientras que el hongo dota de un soporte mecánico vital al alga [1]. Los micobiontes pueden reproducirse sexualmente, de forma que en cada ciclo reproductivo se restablece esta simbiosis cuando encuentran una o más algas compatibles. Las esporas del hongo son capaces de diseminarse y germinar englobando al alga y formando el talo del liquen definitivo. Sin embargo, los líquenes se reproducen en su mayoría por propagación asexual de fragmentos del talo o de estructuras vegetativas conocidas como isidios y soredios, propagándose conjuntamente el alga y el hongo [2].

Como resultado de esta simbiosis, los líquenes son capaces de colonizar una amplia variedad de sustratos, destacando por la resistencia y longevidad que llegan a alcanzar. Pueden crecer bajo todo tipo de condiciones climáticas, resultando de interés la diversidad de líquenes en un área concreta a estudiar, con las características microclimáticas propias de la misma [2]. Los líquenes dependen en gran medida del ambiente en el que se encuentran y están en constante equilibrio con él. Esto es debido a la poiquilohidria, término que hace referencia a la condición por la que este tipo de organismos no son capaces de regular su contenido hídrico celular, lo que los hace directamente dependientes del agua ambiental. Así, en caso de no disponer de agua en el medio, estos organismos poseen mecanismos que los protegen en condiciones de estrés hídrico pudiendo mantenerse en esas condiciones durante tiempos prolongados, dependiendo de su hábitat [3]. Al no poseer raíces como las plantas, estos organismos también obtienen la mayor parte de sus nutrientes de la atmósfera. Esto les ha llevado a lo largo de la evolución a desarrollar mecanismos para concentrar y acumular dichas sustancias (bioacumuladores), dado que el aire es una fuente relativamente más pobre en macro y micronutrientes con respecto al agua o los suelos. De igual forma, han desarrollado mecanismos muy efectivos de absorción en superficie, favorecidos también por la humedad ambiental [1].

Todo esto confiere a los líquenes potencial e interés como receptores de depósitos atmosféricos, entre ellos partículas contaminantes, a las que también son sensibles (algunas especies más que otras). El gran éxito de la supervivencia de líquenes en ambientes y climas extremos, atribuido, además de a la asociación simbiótica y a su condición poiquilohídrica, a la producción de metabolitos secundarios por parte del micobionte para proteger al fotobionte, ha atraído desde hace años la atención de investigadores y científicos. Por todo lo expuesto, los líquenes se consideran organismos ideales para la monitorización de ecosistemas [2].

Los musgos son un tipo de plantas de la división Bryophyta, caracterizadas por un ciclo de vida que alterna generaciones haploides y diploides con un gametofito dominante. El cuerpo vegetativo siempre está formado por filidios (hojitas) típicamente dispuestos en hileras en espiral alrededor del caulidio (tallito). Suelen poseer hilos axiales conductores de agua pero no tienen raíces verdaderas, como las de la mayoría de plantas. Debido a esto, y en comparación con las plantas vasculares, los briófitos crecen menos en altura y tienen una mayor superficie para procesos de intercambio de agua.

También son más resistentes a las corrientes de aire y otras condiciones atmosféricas ya que son capaces de formar grandes extensiones a nivel del suelo (“moss bags”), lo que favorece dicha resistencia [4, 5].

Al carecer de raíces y ser poiquilohídricos, como en el caso de los líquenes, han desarrollado sistemas para absorber nutrientes, contaminantes y vapor de agua directamente del ambiente y retenerlos [6]. Los briófitos también son capaces de habitar todo tipo de ecosistemas terrestres, a excepción de los sistemas de agua salada y los congelados permanentemente [5]. De hecho, en comparación con los líquenes, los musgos presentan una distribución geográfica más amplia, incluyendo áreas urbanas [6]. Por todo esto, han sido igualmente valorados y estudiados como biomonitores en diferentes tipos de ecosistemas terrestres, a lo largo de los últimos años.

1.2. Metales pesados: contaminación y relevancia para la salud

Los metales pesados se definen como aquellos metales cuya densidad es mayor de $4,5 \text{ g cm}^{-3}$, aunque este valor puede variar en función de la bibliografía desde 4 g cm^{-3} hasta los 7 g cm^{-3} [7]. Para definirlos también se utilizan criterios como el peso atómico, aunque el término siempre suele estar más relacionado con la toxicidad que presentan. La mayoría de los metales tóxicos son xenobióticos. Esto es, no presentes de forma natural en el organismo humano o sin papel fisiológico en el mismo [8].

La exposición a estos contaminantes puede darse de forma puntual a nivel ocupacional y/o ambiental o, en algunos casos, como resultado final de la distribución y transporte de contaminantes atmosféricos entre distintos ambientes [8]. Esto es debido a que pueden formar parte de las partículas en suspensión que están normalmente presentes en el aire. La forma química y física en la que estos se encuentren depende principalmente del tipo de emisión y la temperatura a la que se generen. Pueden proceder tanto de fuentes naturales (como erupciones volcánicas), como de actividades humanas (procesos industriales, quema de combustibles fósiles), siendo estas últimas las que tienen más relevancia en cuanto a contribución y efectos tóxicos [7].

Los efectos tóxicos pueden darse tanto por acumulación a partir de niveles de exposición bajos pero continuos, como por intoxicación por niveles altos de exposición puntual. Considerando como principal vía de incorporación la vía inhalatoria, encontraremos manifestaciones tóxicas a nivel pulmonar: 1) agudas; la inhalación de metales pesados se ha asociado con procesos de inflamación en vías respiratorias y pulmones; 2) crónicas; se ha llegado a relacionar con enfermedades pulmonares como cuadros de hipersensibilidad por cobalto (Co), enfisema por cadmio (Cd), o cáncer de pulmón por arsénico (As) [8]. Pero además, y lo que es más relevante, al constituir el pulmón una de las principales vías de absorción sistémica, con su absorción encontraremos manifestaciones tóxicas en otros órganos corporales, entre las que destaca la neurotoxicidad. Así, pueden darse desde encefalopatías severas, a neuropatías periféricas o diferentes tipos de alteraciones cognitivas. Esto se ha podido comprobar, desde hace décadas, en el desarrollo de niños expuestos a algunos metales como son el plomo (Pb), el mercurio y metilmercurio (Hg) o el manganeso (Mn) [8].

Cabe mencionar igualmente, que estos metales pueden contaminar también (por deposición atmosférica u otros tipos de vertidos) otros sistemas, como son los suelos o el agua.

De esta forma, pueden llegar a incorporarse a alimentos hasta penetrar en el organismo a través de la ingesta, absorbiéndose por el intestino y desencadenando otros procesos tóxicos a nivel digestivo o renal [8].

Por todo esto, el control de los niveles que estos contaminantes llegan a alcanzar en el ambiente resulta importante para la salud pública general desde diferentes perspectivas, como son: el control de emisiones, su posible eliminación y su monitorización.

1.3. Conceptos de biomonitor y biomonitorización

Un biomonitor se define como un organismo (o una parte de un organismo o una comunidad de organismos) que contiene información sobre aspectos cuantitativos de la calidad de un ambiente. Debe diferenciarse de un concepto parecido como es el de bioindicador, el cual se define como un organismo (o una parte de un organismo o comunidad de organismos) que contiene información sobre la calidad de un ambiente, en un plano más cualitativo. Un biomonitor siempre es un bioindicador al mismo tiempo, pero un bioindicador no tiene por qué cumplir con los requisitos de un biomonitor [9].

Algunas de las características principales que debe poseer un organismo para poder ser considerado biomonitor fueron definidas por Martin y Coughtrey en 1982 [10]. Debe ser capaz de acumular metales en cantidades significativas, fácilmente disponible, su análisis repetible y con un coste de recolección y análisis aceptable. Además Sloof (1988) añadió otros criterios para el caso de metales, en concreto: distribución abundante en el área de interés, posibilidad de muestreo en todas las estaciones del año, tolerancia a altos niveles de contaminantes y respuesta conocida a monitorización cuantificada [11]. Con todo esto, Markert (1997) define el término biomonitor como: “organismo o comunidad de organismos cuyo contenido en determinados elementos o compuestos y/o cuya morfología, estructura histológica o celular, procesos bioquímico-metabólicos, comportamiento o estructura poblacional, incluyendo cambios en estos parámetros, proporcionan información sobre aspectos cuantitativos de la calidad del ambiente o cambios en el ambiente” [12].

Se entiende por biomonitorización activa el proceso por el cual se expone a un biomonitor de forma estandarizada y durante un periodo de tiempo determinado a un ambiente concreto de estudio. Esto se realiza con el último fin de analizar cuantitativamente los xenobióticos ambientales que haya podido incorporar el biomonitor o de comprobar las reacciones u otras alteraciones que haya podido sufrir durante la exposición. Para ello, el organismo biomonitor seleccionado debe proceder de un área con la menor contaminación ambiental posible para poder observar este cambio de una forma efectiva. Pueden utilizarse inclusive organismos cultivados en laboratorio [9].

Por otra parte, se entiende por biomonitorización pasiva el análisis *in situ* de especies seleccionadas que ya se encuentran en los propios ecosistemas, para obtener datos como los mencionados anteriormente [13]. Es más errática y presenta algunas desventajas en comparación con la activa, como son la exposición previa a contaminantes con respecto al momento de inicio del estudio o las limitaciones propias del ecosistema, ya que solo se podrá trabajar con especies que hayan crecido de forma natural en el mismo. Por el contrario y al mismo tiempo tiene otras ventajas o aplicaciones interesantes, como pueden ser una primera aproximación al estudio activo, o la simple caracterización y análisis de contaminantes en un momento determinado o a lo largo de los años en el ecosistema en cuestión.

Para ello se miden los parámetros de interés en las especies seleccionadas y se determinan sus años de vida en el mismo. Además, estas especies se encuentran perfectamente adaptadas a los ambientes en los que viven, por lo que no se ven influenciadas por otros factores como podrían ser variaciones entre microhábitats a la hora de ser transplantadas de uno a otro.

Ambas aproximaciones de biomonitorización resultan interesantes para caracterizar ecosistemas y medir sus niveles de contaminación, y se pueden realizar gracias a especies como las que nos ocupan: los líquenes y los musgos.

2. OBJETIVOS

El objetivo del presente trabajo es el estudio, mediante una amplia y actualizada revisión bibliográfica, de los fundamentos, procedimientos y resultados científicos que caracterizan a los líquenes y musgos como buenos biomonitores para medir y controlar el impacto de los metales pesados como contaminantes ambientales, así como su utilidad y aplicación en salud pública ambiental.

3. METODOLOGÍA

Se ha realizado una extensa búsqueda bibliográfica de publicaciones científicas relacionadas con el uso y características de los líquenes y musgos como biomonitores de metales pesados, desde sus primeras evidencias hasta la actualidad. Para ello, se han utilizado diferentes bases de datos y plataformas de búsqueda on-line, entre las que destacan Google Académico, Research Gate y el buscador de la Biblioteca Complutense - Catálogo Cisne. También se visitaron varios sitios web de revistas científicas como Elviesier o de organismos relacionados como el ICP Vegetation Center. Con el fin de obtener dicha información, se introdujeron en los buscadores palabras clave como: “lichens”, “mosses”, “cryptogams”, “heavy metals”, “air pollution” o “biomonitoring”, profundizando en aquellas publicaciones que recogían con mayor evidencia y claridad los resultados que caracterizan a estas especies como biomonitores para el caso concreto de metales pesados y permiten su uso como tales.

Finalmente, se seleccionaron más de 25 artículos, publicaciones y capítulos de libros de entre todas las fuentes mencionadas, los cuales se han utilizado como referencias bibliográficas para el presente trabajo y aparecen indicadas al final del mismo.

4. RESULTADOS

Diversos estudios a lo largo de los últimos años han puesto en evidencia que algunos líquenes son tolerantes a concentraciones altas de metales pesados [1]. Los más destacados, por su contribución a la contaminación atmosférica, su acumulación en estos organismos y su efecto tóxico, son: cadmio (Cd), cobalto (Co), cromo (Cr), hierro (Fe), mercurio (Hg), manganeso (Mn), molibdeno (Mo), níquel (Ni), plomo (Pb), vanadio (V) y cinc (Zn) [11].

Cabe mencionar igualmente, que se ha propuesto un posible papel importante de los líquenes en los ciclos ambientales de algunos minerales, permitiendo por ejemplo la captación de algunos que tienen función como nutrientes y que de otra forma no serían incorporados al ecosistema [1].

4.1. Mecanismos de bioacumulación

Tanto líquenes como musgos, han desarrollado sistemas muy eficientes de atrapamiento iónico y particular a partir de soluciones diluidas, como la nieve derretida. El intercambio de elementos ocurre a través de toda su superficie y los principales mecanismos que permiten la captación y acumulación de estas sustancias, son:

1) Intercambio iónico (captación extracelular)

Los elementos metálicos se encuentran en la naturaleza principalmente en forma de cationes solubles. Su captación inicial es un proceso rápido, pasivo y de tipo fisicoquímico que ocurre extracelularmente en líquenes, de forma que se alcanzan niveles de saturación en cuestión de minutos [1].

La superficie del talo contiene grupos iónicos que la dotan de una red de carga negativa, de forma que se favorece dicho atrapamiento catiónico. Este proceso es también reversible, sigue las cinéticas clásicas de Langmuir y depende del pH. La cantidad máxima de metal que se llega a absorber a partir de soluciones en pocos minutos es de un 100% para Pb, Zn, Cd y Cr y de un 80% para Cu, pero la duración de estos procesos al final depende de la concentración de dichos metales, siendo mayor para soluciones más diluidas. Los líquenes actúan así como resinas de intercambio iónico, absorbiendo por ejemplo los iones metálicos del agua de lluvia y liberando iones H^+ o iones metálicos con uniones de baja afinidad [11].

Estos cationes se retienen en la pared celular de forma externa al citoplasma tanto del micobionte como del fotobionte, en sitios de intercambio catiónico en los que se alcanzan niveles de entre 6 y 77 $\mu\text{mol g}^{-1}$, que varían en función de las especies [1]. Así, encontramos valores entre 6 y 25 $\mu\text{mol g}^{-1}$ en *Umbilicaria*, de 36 a 58 $\mu\text{mol g}^{-1}$ en *Cladonia* spp. y de 71 a 77 $\mu\text{mol g}^{-1}$ en *Peltigera* [11].

Por otro lado, la captación de aniones es más limitada y por tanto ha sido menos estudiada. Por lo general resulta un proceso más lento y que da lugar a una menor acumulación que en el caso de los cationes. Así mismo, se asume la existencia de sitios de intercambio aniónico en la pared celular donde quedarían retenidos los aniones, si bien su identidad es desconocida hasta el momento [1].

Este mecanismo ha sido igualmente observado en musgos, en los que también se han localizado sitios de intercambio iónico en las paredes celulares, así como grupos funcionales cargados en sus superficies que permitirían la captación y retención de metales. Este proceso adquiere relevancia para algunos elementos que de otra forma no serían fácilmente detectables por su escasa abundancia, como Ni y Cr, y se ha podido comprobar principalmente en especies del género *Sphagnum* [14].

2) Captación intracelular

En contraposición con el anterior mecanismo, la captación intracelular de iones metálicos supone un proceso mucho más lento e inefectivo. Por ejemplo, la captación intracelular de Cd tras una exposición de 2,5 horas a una solución de dicho metal, supone menos del 10% de la captación total. Así, este proceso se incrementa con el tiempo de exposición (horas), siguiendo frecuentemente los patrones cinéticos de Michaelis-Menten [1].

Se ha podido observar también que este proceso está estimulado por la luz, lo que indicaría una estrecha relación entre la captación de metales y el metabolismo de los líquenes, implicando probablemente transporte activo y gasto de ATP. De esta forma, al situar en la oscuridad determinados líquenes se ha observado una disminución relativamente rápida en la captación intracelular de Cd, con respecto a los niveles alcanzados previamente expuestos a la luz. Este fenómeno sugeriría la entrada activa del metal en las células del fotobionte o alga al ser captado, así como una relación con su metabolismo, si bien no está claro hasta el momento esta asociación, ni si se da un requerimiento energético especial que permita diferenciar un caso del otro (luz vs oscuridad) [11].

En el caso de los musgos, se han observado procesos parecidos que sugieren una relación con su metabolismo, como procesos de redistribución elemental interna, si bien constituyen una vía minoritaria y poco relevante de incorporación de metales en estos organismos [14].

3) Captación de partículas

Para el caso de los líquenes, se conoce la existencia de espacios intercelulares en los que también quedan atrapadas partículas ambientales que pueden contener metales. Este fenómeno se ha podido observar y comprobar gracias a técnicas de microscopía (SEM: Scanning Electron Microscopy) [1].

A diferencia de los dos mecanismos de acumulación anteriores, la incorporación de contaminantes en este caso se produce mayormente durante el desarrollo temprano del organismo biomonitor, más que a lo largo de su vida. Esto es debido a que en un primer estadio de crecimiento del líquen aún no se ha formado el córtex, y el talo en desarrollo está expuesto y desprotegido en su superficie. De esta forma, durante este periodo pueden incorporarse partículas contaminantes, mientras que una vez se haya desarrollado la capa cortical, esta protegería al interior del líquen de las mismas y demás agentes externos [11]. En cualquier caso, este proceso no es específico para metales, si no que puede darse con todo tipo de partículas de diferentes formas y tamaños que sean arrastradas por el aire y depositadas durante el crecimiento del líquen. Por lo tanto, contribuye a la acumulación final de metales pesados en menor medida con respecto a los anteriores sistemas.

Este mecanismo adquiere mayor importancia en el caso de los musgos, debido a su morfología y superficie más extensa, irregular y flexible, así como a la carencia de estructuras compactas y protectoras como el córtex. Los tallitos dispuestos en superficie dejan espacios libres entre ellos, que junto con las hojitas permiten atrapar más partículas depositadas sobre ellos y retenerlas. De esta forma, los musgos son capaces de incorporar mejor solutos de mayor tamaño procedentes de la nieve o la lluvia, o partículas sólidas arrastradas y depositadas por el viento. De hecho, este proceso adquiere especial relevancia en periodos en los que la superficie del musgo está en contacto durante mucho tiempo y de forma continuada con los sustratos, como ocurre durante la fusión de la nieve [14]. Se ha observado también que tejidos viejos acumulan más sustancias que tejidos más jóvenes, probablemente debido a un desgaste en sus estructuras por la previa exposición más prolongada a agentes externos [14].

Todos estos aspectos permiten que los musgos atrapen una amplia variedad y cantidad de partículas ambientales, contribuyendo en gran medida a la incorporación en sus estructuras de metales pesados. Finalmente, esto resulta potencialmente útil a la hora de determinar los niveles de dichos elementos para su monitorización ambiental.

4) Contribución del sustrato

A pesar de que la mayor parte de los metales pesados acumulados en líquenes y musgos proceden de la atmósfera y se incorporan por los mecanismos descritos anteriormente, se debe considerar un aporte menos significativo por parte del suelo o sustrato en el que crecen los organismos.

Este fenómeno se ha podido comprobar en algunos estudios realizados sobre líquenes epífitos o que crecen sobre suelos y rocas ricas en metales (Fe, Cu, Pb, Zn, Cr y Ni). Para ello, se analizaba el contenido en elementos en especies morfológicamente similares pero situadas en diferentes sustratos del mismo hábitat, y se comparaban los resultados. Así, se ha observado este efecto en algunos sustratos contaminados, tales como turberas y cortezas de árboles, aunque el origen de esta contaminación no deja de ser atmosférico igualmente y los mecanismos que podrían explicar esta acumulación tampoco han podido demostrarse hasta el momento con la misma evidencia que los anteriores [11].

4.2. Parámetros de acumulación

A la hora de medir y/o considerar la cantidad de metales pesados acumulada en líquenes y briófitos, se utilizan varios parámetros de medida y valoración, como son:

1) Coeficientes de variación (CVs)

Se obtienen del cociente entre los valores de desviación estándar (SD) y los valores medios del contenido en metales pesados en el organismo. Estos parámetros se relacionan con el modo de dispersión y deposición aérea de partículas con contenido en metales pesados, de tal forma que valores bajos de CVs indicarían una baja variación debido a una suspensión y deposición constantes de partículas metálicas. Por el contrario, valores altos de CVs indicarían una deposición puntual y limitada de partículas en mayor proporción y de forma discontinua [13]. De esta forma, líquenes y musgos situados en entornos urbanos muestran valores más altos de CV que aquellos situados en entornos rurales, ya que se asocian también con cantidades y tiempos de exposición más grandes e incidentes. Este es el caso por ejemplo de los líquenes próximos a industrias, ya que están más expuestos a emisiones puntuales y abundantes de partículas (CVs altos) [11].

2) Ratio Fe/Ti

Se da una relación directa y lineal entre el contenido en partículas atrapadas y el ratio Fe/Ti del organismo y del material rocoso próximo. Siguiendo con el ejemplo anterior, en líquenes cercanos a industrias y otros ambientes contaminados por partículas metálicas, se dan ratios Fe/Ti diferentes a los esperados en comparación con el ratio estandarizado de la litosfera (6.5), dándose desviaciones de hasta 7 puntos. Así, en algunas zonas próximas a industrias se han llegado a detectar ratios en torno a 19, mientras que en áreas sin contaminación se dan valores hasta 8 [11].

3) Factor de enriquecimiento (EF)

Este parámetro resulta útil para valorar un contenido elemental en el líquen o musgo discriminando otros factores contribuyentes y normalizando los niveles con los del sustrato, a fin de estimar de forma correcta y concreta la parte procedente de contaminación atmosférica [13].

Para ello se tienen en cuenta los niveles medios del elemento en cuestión (X) presentes de forma natural en la corteza terrestre o en suelos libres de contaminación y se normalizan con los de un elemento terrestre de referencia (Al, Si), según la siguiente fórmula [1]:

$$EF = \frac{(X/\text{elemento referencia}) \text{ en líquen o musgo}}{(X/\text{elemento referencia}) \text{ en corteza terrestre o suelo}}$$

4) Índice de Pureza Atmosférica (IPA)

Se trata de un valor numérico que estima la calidad del aire en una determinada zona en relación con la presencia de especies de líquenes en la misma, ya que esto depende de la exposición y niveles de acumulación de contaminantes atmosféricos, entre ellos metales pesados (Cd, Pb, Zn) o partículas [15]. Hay distintas formas de calcularlo, siendo la aproximación más utilizada:

$$IPA = \sum Fi$$

Donde F es la frecuencia (del 1 al 10) de la especie de líquen (i) presente en una red de muestreo que comprende 10 áreas (se determina el número de subcuadros de la cuadrícula utilizada en los que aparece la especie seleccionada). Así, se ha comprobado que este método puede predecir niveles de contaminación con una certeza del 97% [15].

Este dato permite valorar los niveles de contaminación para clasificar la zona estudiada en un nivel de calidad de aire según unos límites concretos de IPA [14] (Tabla 1).

Tabla 1. Niveles de calidad del Índice de Pureza Atmosférica (IPA):

Nivel de calidad de aire	Valores de IPA	Nivel de contaminación
A	$0 \leq IAP \leq 12,5$	Muy alto
B	$12,5 < IAP \leq 25$	Alto
C	$25 < IAP \leq 37,5$	Medio
D	$37,5 < IAP \leq 50$	Bajo
E	$IAP > 50$	Muy bajo

4.3. Tolerancia a metales

Los anteriores factores de acumulación, que permiten caracterizar a los líquenes y musgos como buenos biomonitores de metales pesados, solo pueden darse porque estos organismos presentan propiedades que los hacen tolerantes a altas concentraciones de estos contaminantes y a sus potenciales efectos tóxicos.

Algunos mecanismos que se han propuesto y asociado con una potencial tolerancia a estos elementos, son: tolerancia citoplasmática inherente, inmovilización y detoxificación citoplasmáticas de iones por combinación química, o transporte y retención de iones en regiones externas al plasmalema o la pared celular. Si bien este último es el que cuenta con mayor evidencia, aún no están suficientemente demostrados. Por último, también se ha propuesto que la competición entre iones podría favorecer una disminución en la captación de iones tóxicos por el citoplasma [1].

En el caso de los musgos, se conocen algunos mecanismos adicionales de detoxificación iónica que contribuirían a la tolerancia, como la excreción de metales en forma de exudados. Entre los géneros que incluyen algunas de las especies más valoradas por su tolerancia a metales pesados, se encuentran: *Pleurozium*, *Hylocomium* e *Hypnum* [14].

Por su parte, algunas especies de líquenes en las que se ha podido observar una mayor tolerancia a metales pesados, se incluyen en los géneros: *Acarospora*, *Aspicilia*, *Cladonia*, *Lecanora*, *Lecidea*, *Porpidia*, *Rhizocarpon*, *Stereocaulon* y *Tremolecia* [1].

Por otro lado, se dan procesos tóxicos que comprometen la integridad y supervivencia de estas especies al superar los límites de la tolerancia, derivados de los mecanismos de acumulación mencionados y del efecto tóxico inherente de los elementos metálicos incorporados. Así, concentraciones elevadas de metales pesados pueden dañar o deteriorar la estructura de las membranas celulares, alterar el contenido e integridad de la clorofila, o interferir en los procesos fotosintéticos y respiratorios. Además, se han reportado algunos otros cambios que permiten detectar o sospechar de la ocurrencia de procesos que afectan a la vitalidad de las especies, como son cambios en el rendimiento del Fotosistema II (PSII), en la respuesta a reflectancia espectral, producción de etileno inducida por estrés o algunas formas de cambio ultraestructural [11].

Del mismo modo, se ha podido comprobar el empobrecimiento o deterioro en las poblaciones de líquenes y musgos que habitan zonas muy contaminadas por metales pesados. Así, se da una relación lineal entre la proximidad a las fuentes de contaminación, la concentraciones de metales alcanzadas en las especies y el número de las mismas que habitan y sobreviven las consiguientes zonas [16] (Figura 1).

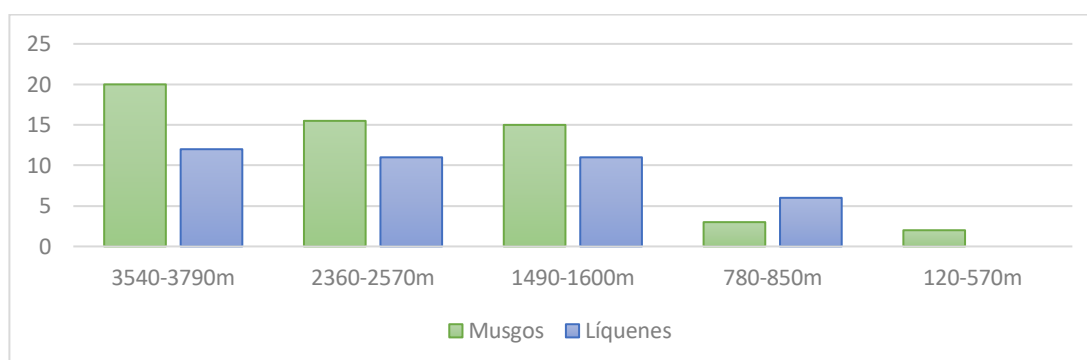


Figura 1. Relación entre número medio de taxones de líquenes y musgos presentes en un bosque y su distancia a una industria contaminante de metales pesados.

Fuente: Adaptado de Folkenson (1984) [16].

Por todo ello, a pesar de su elevada tolerancia, resistencia y longevidad, una gran presencia de líquenes y musgos en una determinada zona se relaciona en parte con una buena calidad de aire y bajos niveles de contaminación en la misma. Cabe mencionar igualmente, que algunas de las especies más tolerantes y resistentes como las mencionadas en este mismo punto, sobreviven en mayor proporción y de hecho son pioneras en las conocidas como sucesiones vegetales o ecológicas en zonas en vías de recuperación. Esto se relaciona con su potencial en biorremediación y recuperación de hábitats deteriorados [16].

4.4. Procedimiento general de biomonitorización

4.4.1. Selección de especies

El primer punto que ha de contemplarse a la hora de plantear un estudio de biomonitorización, es la selección de las especies sobre las que se va a realizar dicho estudio. Algunos de los criterios que se siguen y utilizan para ello, son [2]:

- El organismo debe ser capaz de acumular metales en cantidades significativas y apreciables.
- Tener una amplia distribución geográfica, ser abundante, sedentario o de escasa movilidad y representativo del área de recolección.
- Estar disponible a lo largo de varios años que puedan abarcar la duración del estudio, con una recolección relativamente sencilla.
- Ser capaz de mostrar una absorción o acumulación diferenciales y relacionadas con su exposición a las sustancias a medir, de forma que permita determinar niveles de contaminación y/o tasas de deposición y concentraciones en el aire.
- Ser capaz de absorber metales sustancialmente de otras fuentes, como el sustrato, para poder evaluar la contaminación aérea por separado.
- El coste de recolección y análisis debe ser aceptable.

Como ya se ha comentado anteriormente, los líquenes y musgos agrupan algunas de las especies que mejor responden a estos criterios para analizar metales pesados. En el caso de los líquenes, se prefieren aquellos con un talo de tipo fruticuloso o foliáceo antes que crustáceo, ya que resultan más fáciles a la hora de realizar el muestreo por desprenderse fácilmente del sustrato.

Basándose en estos requisitos, algunos de los líquenes más utilizados a lo largo de diversos estudios recientes por su sensibilidad, amplia distribución, longevidad y fácil recolección, han sido: *Hypogymnia physodes*, *Xanthoria parietina*, *Parmelia sulcata*, *Parmelia caperata*, *Ramalina lacera*, *Ramalina menziesii*, *Ramalina stenospora*, *Ramalina maciformis*, *Pseudevernia furfuracea*, *Cladina* spp., *Cladonia* spp., *Usnea* spp., *Lecanora muralis*, *Lecanora conizaeoides*, *Caloplaca aurantia* y *Caloplaca ehrenbergii* [13].

Si bien los musgos cumplen prácticamente con los mismos criterios que los líquenes, presentan algunas variaciones en su aplicación y potencial como biomonitores, lo que determinará la elección de unos u otros a la hora de realizar un estudio de este tipo. Algunas de estas diferencias recaen sobre la distinta relación con los sustratos sobre los que crecen, de forma que a pesar de no poseer raíces en ambos casos y ser poiquilohidros, los musgos presentan variaciones en algunos procesos debido a su mayor proximidad y mayor relación con los suelos.

Esto afecta a su balance elemental general (mayor presencia por ejemplo de Al o Sc) y los diferencia del de los líquenes (mayor interferencia con elementos propios de cortezas de árboles como Cd o Mn, ya que muchas especies son epífitas), por lo que en función del elemento o elementos concretos que se quieran estudiar, resultará más apropiado un grupo o el otro [14]. Por otro lado, el proceso de identificación y recolección en musgos resulta en general más sencillo. También es más fácil distinguir incrementos en su crecimiento anual. Esto hace más favorable la aplicación de la técnica en musgos para una estimación prolongada en tiempo y espacio de cambios en la deposición de metales [14].

Finalmente, la aplicación de unos u otros organismos a efectos prácticos se relaciona muchas veces con su amplia distribución en la zona, por su proximidad al punto de emisión contaminante o sensibilidad al elemento a analizar en cada caso. No se puede asegurar en ningún caso, que ambos grupos sean totalmente intercambiables como biomonitores en una misma situación.

Siguiendo estos criterios, algunos de los musgos más utilizados en estudios de biomonitorización de metales pesados han sido: *Hypnum cupressiforme*, *Hylocomium splendens*, *Sphagnum* spp. y *Pleurozium schreberi* [17].

4.4.2. Preparación de muestras

Para los métodos de análisis elemental más frecuentemente utilizados, las muestras recolectadas de las especies seleccionadas deben prepararse previamente siguiendo una secuencia de pasos: (1) lavado las muestras rápidamente con agua bidestilada, (2) secado con aire, (3) pulverización con nitrógeno líquido y (4) secado y digestión en HNO₃ aplicando una fuente de calor [13].

4.4.3. Análisis instrumental del contenido elemental

Los métodos más utilizados son ICPAES (espectrometría de emisión atómica de plasma acoplado inductivamente) y AAS (espectrometría de absorción atómica). Otras técnicas igualmente aplicables son: INAA (análisis instrumental de activación de neutrones), XRFA (análisis de fluorescencia de rayos-X), EDXRF (espectrometría de fluorescencia de rayos-X de dispersión de energía), ICP/MS (espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente) o PIXE (técnica de emisión de rayos-X inducida por protones) [13]. Los valores obtenidos se expresarán en base a peso seco de las muestras.

4.5. Biomonitorización activa

El procedimiento en el caso de la biomonitorización activa suma algunos pasos a los del punto anterior y requiere de mayor planificación previa. Así, es necesario tener en cuenta los siguientes aspectos [13]:

- La especie seleccionada para el estudio debe proceder de un área con poca contaminación o de un cultivo de laboratorio.
- El sitio al que se trasplante para realizar la biomonitorización debe encontrarse en la misma región climática que el de partida, que serviría como control.
- No deben darse igualmente diferencias significativas en las condiciones microclimáticas entre ambos sitios.

- Si se transfieren especies con su sustrato, es recomendable no situarlos en lugares de pasto de animales locales.
- En todos los casos, las especies trasplantadas deben encontrarse totalmente expuestas al ambiente en el sitio de biomonitorización elegido, asegurando que no estén cubiertas por techos ni próximas a fuentes de calefacción domésticas o lugares de estacionamiento de vehículos.

Estas condiciones deben asegurarse a fin de minimizar las diferencias de exposición entre el biomonitor y el control, de forma que el primero refleje realmente los resultados atribuibles a la deposición y concentración alcanzadas de metales, discriminando otros factores contribuyentes menores que no interesan en este caso [13]. Existe también la posibilidad de realizar autotrasplantes (en el mismo sitio), a fin de discriminar el posible efecto del propio trasplante.

Una vez delimitados estos aspectos, se puede proceder a la biomonitorización. El tiempo óptimo de duración de la exposición es de 6 a 9 meses. Un periodo de menos de 4 meses no es suficiente para acumular cantidades significativas de metales pesados, mientras que periodos de más de 13 meses podrían ocasionar una pérdida o deterioro de tejidos del organismo biomonitor por agentes atmosféricos, de forma que se comprometa la integridad del mismo y pueda afectar a los resultados. Teniendo esto en cuenta, la duración del tiempo de exposición de los trasplantes al ambiente debe adaptarse en lo posible a la intensidad de la actividad humana en cada caso y en cada área concreta de estudio [13].

4.6. Aplicaciones de los estudios de biomonitorización

Finalmente y como ya se ha visto, estos estudios permiten obtener conocimientos útiles sobre la fuente, naturaleza y niveles de contaminantes en un área concreta a estudiar. Los datos obtenidos tienen múltiples aplicaciones desde el punto de vista de la salud pública ambiental, a la hora de prevenir o tomar medidas que eviten y mitiguen los efectos tóxicos de los metales pesados en una población o sus alrededores.

Por ejemplo, estos datos resultan útiles en la planificación de urbanización de zonas rurales para obtener o estimar la calidad de aire en dichas zonas, lo que se relaciona forzosamente con la potencial calidad de vida de la población que vaya a habitarlas. También pueden poner de manifiesto la necesidad de cambiar determinados combustibles en uso por otros menos contaminantes o pueden medir el impacto ambiental y sanitario de plantas industriales, lo que podría llevar a tomar medidas de control de emisiones como la instalación de filtros. En esta misma línea, también sirven para estimar el impacto o el simple incremento del tráfico en determinadas vías [13].

La utilización de los líquenes y musgos para biomonitorización presenta algunas ventajas frente a técnicas y dispositivos más complejos para monitorizar y medir el impacto contaminante ambiental y sanitario de los metales pesados. La principal ventaja de utilizar estos organismos es que resulta más barato o asequible, ya que aprovecha los mecanismos acumulativos naturales ya descritos de los líquenes y musgos, que son bastante eficaces como también se ha expuesto y demostrado. Además, se aprovecha también su amplia distribución, adaptabilidad y supervivencia en distintos ambientes, lo que permite comparar resultados entre numerosas y distintas zonas sin suponer un incremento elevado en el coste y el esfuerzo del estudio [14].

Estos aspectos son los que han llevado a emplear este tipo de biomonitorización en países principalmente en desarrollo desde el siglo pasado. La economía y extensión de estos países no permite costear mecanismos más caros y óptimos de monitorización, por lo que esta pasa a ser una buena opción para el control de emisiones y metales contaminantes.

4.6.1. Uso de líquenes y musgos para biomonitorizar metales pesados en el mundo

Países asiáticos como China tienen un largo historial de uso y desarrollo de esta técnica, pero también ha sido ampliamente utilizada en países europeos como Albania, Polonia e Italia, o en la propia España. Con el fin de ejemplificar los aspectos y procedimientos expuestos en anteriores puntos y de poner en valor la relevancia de la técnica, en este punto se revisan algunos estudios recientes que la han aplicado en diferentes regiones del mundo, detallando los objetivos, metodología y resultados de cada uno de los estudios.

En China, por ejemplo, un estudio de Zhang et al. en 2002 recogía datos de concentración de 32 elementos (entre ellos Co, Cr, Fe, Mo, Ni y Zn) analizados con la técnica INAA en muestras seleccionadas de un líquen epífito (*Parmotrema reticulatum*) del área suroeste del país, desde la década de 1960s a 1990s. El objetivo del mismo era la evaluación de los antecedentes de deposición atmosférica y del impacto de emisiones antropogénicas a largo plazo en esta área [18]. Así, se pudo determinar una bajada en los niveles de la mayoría de estos elementos con el paso de las décadas, lo que indicaría igualmente un declive en el grado de deposición atmosférica de metales pesados en las zonas de muestreo. Este fenómeno se atribuyó a un cambio en actividades productivas e industriales realizadas en estas zonas [18].

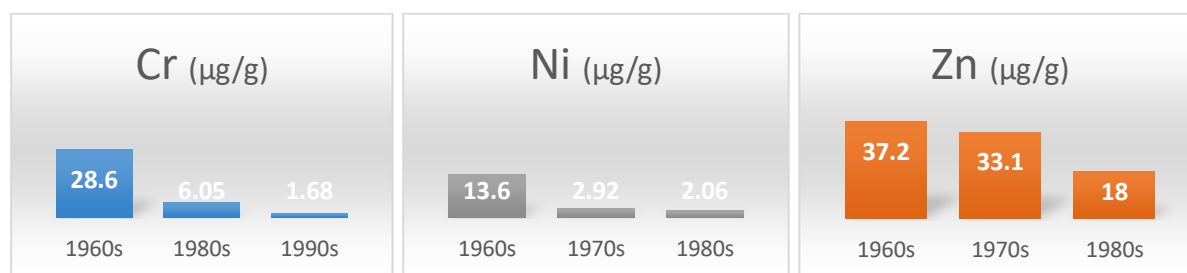


Figura 2. Relación entre concentraciones de algunos metales (µg/g) obtenidas en muestras de *Parmotrema reticulatum* frente al paso del tiempo en una zona de China.

Fuente: Adaptado de Zhang et al. (2002) [18].

En África, un estudio de 2014 realizado en Nigeria utilizó líquenes y musgos para el biomonitorio de metales pesados en dos comunidades concretas (Eket e Ibeno) dedicadas a la extracción de petróleo. Su objetivo era evaluar la tendencia de deposición de los metales en el tiempo y la posible contaminación atmosférica y ambiental asociada en estas dos zonas, por comparación de los resultados con un estudio previo de características similares realizado en 2004 [19]. Se seleccionaron una especie de líquen epífito (*Parmelia caperata*) y tres de musgos (*Polytrichum juniperinum*, *Calymperes erosum*, *Racopilum africanum*) ampliamente distribuidos en las dos zonas de estudio, y se muestrearon un total de 25 puntos durante septiembre de 2014. Se analizó su contenido elemental mediante la técnica AAS, obteniéndose concentraciones relativamente altas de metales pesados, siendo la más alta la de Manganeseo (25.980-193.260 µg g⁻¹) seguido en orden decreciente por el Zn, Cu, Ni, Cr, Pb, Co y por último Cd. Algunos de estos elementos se encontraron significativamente en mayor concentración en los musgos que en el líquen para el mismo punto de muestreo [19].

Comparando estos resultados con los del estudio de 2004, se concluyó que la calidad del aire no se había visto mayormente perjudicada en los 10 años transcurridos entre un estudio y otro en torno a las dos comunidades productoras de petróleo [19].

La región del mundo donde este tipo de biomonitorización tiene más larga tradición de uso es sin duda Europa. Son de especial relevancia los recientes estudios en los países nórdicos y del este. La mayoría de procedimientos o protocolos utilizados en biomonitorización con criptógamas en el resto del mundo se han importado o influenciado de alguna forma por los europeos.

Ejemplo de esta trayectoria fue la creación de la European Moss Survey (EMS). Se trata de una iniciativa que surgió en 1980 como una colaboración entre Suecia y Dinamarca y que agrupaba datos de ambos países referentes a niveles ambientales de metales pesados, obtenidos por biomonitorización con musgos autóctonos. Desde 1990 este estudio se ha repetido cada 5 años, al tiempo que se unían más países del resto de Europa. Así, en el año 2000, el número de países europeos participantes fue de 28 con alrededor de 7000 localidades de muestreo, y su coordinación pasó a manos del ICP Vegetation Centre (International Cooperative Programme on Effects of Air Pollution on Natural Vegetation and Crops), con sede en Reino Unido [20].

En concreto, las primeras EMS agrupaban datos de concentración de 10 metales pesados (As, Cd, Cr, Cu, Fe, Hg, Ni, Pb, V y Zn) obtenidas en los musgos, con los objetivos de: 1) proporcionar, en forma de mapas, información sobre la distribución espacial de metales pesados en musgos en Europa; 2) identificar las principales zonas de contaminación por estos elementos; 3) desarrollar conocimientos acerca de contaminación transfronteriza de largo alcance [20].

A pesar de ser complicado establecer un procedimiento común para todas las recolecciones y análisis de musgos en cada sitio, se intentó aplicar en lo posible métodos estándar y seguir los mismos criterios de calidad. Así, las especies de musgos preferentemente seleccionadas fueron *Pleurozium schreberi* e *Hylocomium splendens*, y de entre las técnicas de análisis destacaron AAS, ICPAES e INAA [20].

Finalmente, estos primeros estudios junto con sus posteriores (cada 5 años) permiten obtener algunas conclusiones interesantes en la actualidad. La principal es que, en general, se da un descenso significativo en toda Europa en los niveles de metales pesados (As, Cd, Cu, Fe, Ni, Pb, V y Zn; no significativo para Cr y Hg) depositados en musgos desde 1990. Este hecho es un indicativo del éxito de las estrategias de reducción de la contaminación de aire, adoptadas por los países europeos durante estos últimos años [21]. Cabe destacar el caso del Pb, en el que se ha alcanzado una reducción de hasta el 77%, la cual se atribuye principalmente a la introducción de la gasolina sin plomo [22].

Los países con menores niveles de metales pesados hasta la fecha son los nórdicos (Escandinavia, países bálticos y norte de Reino Unido), mientras que los que mostraron mayores valores fueron Bélgica y países del sudeste europeo (Bulgaria, Polonia). Esto se relaciona con que los procesos y emisiones industriales de los últimos aún no se han controlado lo suficiente y a que se sigue usando el carbón como combustible en gran medida [20]. Además, se ha comprobado también la incidencia de la contaminación transfronteriza o de largo alcance entre los países, lo que resulta preocupante en el caso de metales como el Hg y requiere la aprobación de medidas conjuntas para seguir reduciendo las emisiones [22].

Por todo ello, la EMS cuenta con continuidad y proyección futura, previniendo deterioros y asegurando mejoras en la calidad del aire y, por lo tanto, en la calidad de vida de la población europea [21]. En la última prospección de 2015 participaron un total de 34 países, incluyendo países asiáticos, y se aportaron datos de otros contaminantes también monitorizados con musgos como Nitrógeno o POPs (contaminantes orgánicos persistentes). La próxima está prevista para el 2020/2021 [22].

Estos estudios a nivel global se apoyan también en estudios a nivel regional y local como, por ejemplo, un estudio publicado en 2018 y llevado a cabo en zonas forestales del sur y nordeste de Polonia, en el que se analizaron en torno a 500 muestras del musgo *Pleurozium schreberi* y el líquen *Hypogymnia physodes* [23]. Este es solo un ejemplo que demuestra una vez más la relevancia y utilidad que sigue teniendo la técnica a día de hoy, así como la patente proyección futura de la misma.

4.6.2. Uso de líquenes y musgos para biomonitorizar metales pesados en España

En España los estudios de biomonitorización de metales pesados con criptógamas se han venido llevando a cabo a lo largo de las últimas décadas.

Uno de los primeros estudios fue llevado a cabo en el norte del país por Fernández et al. [25]. Los autores utilizaron algunas especies de musgos como *Hypnum cupressiforme* y *Scleropodium purum*, recolectadas de 134 localidades distribuidas por Galicia, Asturias, Cantabria, País Vasco, La Rioja, Navarra y Castilla y León entre 1995 y 1996. Se analizaron sus niveles en Al, As, Cr, Cu, Fe, Hg, Ni, Pb y Zn por la técnica AAS y procedieron al mapeo de las zonas más afectadas por la deposición de estos metales, a fin de determinar sus fuentes de emisión. Así, se pudieron relacionar por ejemplo los niveles de Hg o Ni con centrales térmicas u otras industrias, los de Al o Cr con contaminación del suelo, o los de Pb con el tráfico en carreteras [25]. Este estudio fue pionero en aplicar los procedimientos que se empezaban a desarrollar en toda Europa con la anteriormente mencionada EMS y sentó un precedente en esta línea de investigación en nuestro país.

En 2013, un estudio de Bosch-Roig et al. utilizó tres especies de líquenes crustáceos de los géneros *Candelariella*, *Lecanora* y *Caloplaca* para biomonitorizar elementos traza (As, Ba, Bi, Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni, Pb, Rb, Sb, Sr, U, V y Zn), utilizando ICP/MS como técnica de análisis. El muestreo se llevó a cabo en dos zonas diferentes, pero de características ambientales similares (la fachada de la Iglesia de los Santos Juanes, situada en el área urbana de Valencia, y del área rural de la sierra de Albarracín en Teruel), a fin de comparar la incidencia de la contaminación [24]. El estudio demostró que los niveles de algunos contaminantes como Pb y Cu eran significativamente mayores en la ciudad de Valencia y corroboró la idoneidad de estas especies de líquenes como biomonitores de estos elementos. El estudio hace incapié en la importancia de este sistema en la prevención y control de la calidad del aire para el beneficio de la población, ya que los metales pesados como el Pb y el Cu tienen efectos nocivos y probados contra la salud humana y sus fuentes son mayormente antropogénicas [24].

Un ejemplo muy reciente y aplicado a un solo elemento como es el Antimonio (Sb), es el trabajo de Parviainen et al. de este mismo año (2020) [26]. Se desarrolló en Granada, con un total de 97 muestras del líquen *Xanthoria parietina* recolectadas de zonas urbanas, metropolitanas y más remotas de la ciudad.

El análisis elemental por ICP/MS y su posterior interpretación con el parámetro EF (factor de enriquecimiento) y otros factores de acumulación, demostraron un alto aporte antropogénico del metal Sb en la zona urbana, lo que se ha relacionado con la alta densidad de tráfico y otros factores relacionados como el desgaste de frenos, ya que se dan sobre todo en las zonas de acceso de tráfico rodado a la ciudad [26]. Los resultados sugirieron la adopción de medidas regulatorias de tráfico, a fin de garantizar una mejor calidad de aire en estas zonas y otras áreas urbanas españolas de características similares a las que se pudiera exportar.

5. DISCUSIÓN

Tras la revisión bibliográfica, parece clara la idoneidad de los líquenes y musgos como biomonitores de metales pesados, debido a la facilidad de identificación, recolección y análisis junto con su morfología y metabolismo, que los dota de una efectividad intrínseca para la bioacumulación de estos elementos.

Este método de monitorización es un buen recurso para medir el impacto de los metales pesados, como contaminantes ambientales de origen principalmente antropogénico. De esta forma, una de las principales aplicaciones de estos estudios es la determinación de las zonas más perjudicadas por los contaminantes, para poder establecer posteriormente medidas de control que deriven en un efecto protector o beneficioso sobre la salud de las poblaciones cercanas a las fuentes de emisión. La amplia distribución, adaptabilidad ambiental, resistencia y longevidad de estas criptógamas han permitido su uso a lo largo de todo el mundo. Resultan una buena alternativa a otras técnicas analíticas de la deposición ambiental de metales pesados más costosas y complejas, principalmente en países en desarrollo.

La presencia de metales pesados en el ambiente supone una problemática a tener en cuenta en cualquier zona habitada por el ser humano. Su condición de elementos traza, no tolerables en altas cantidades por el organismo desencadena procesos tóxicos al ser incorporados al mismo, llegando a tener graves consecuencias en la salud de la población expuesta, comprometiendo su calidad de vida. Teniendo en cuenta además, que en todos los casos los metales pesados proceden de emisiones industriales o del tráfico, resulta evidente la preocupación y necesidad por tanto de monitorizarlos. Este es a día de hoy todavía un problema importante en la mayoría del mundo desarrollado, especialmente en lugares en los que no se han modernizado las industrias ni se han aplicado medidas actualizadas de control de emisiones. Por lo tanto, se debe seguir trabajando en esta línea a fin de asegurar la calidad de vida de la población mundial, haciendo esfuerzos a nivel internacional en la adopción de medidas conjuntas y la colaboración a la hora de compartir conocimientos y procedimientos al respecto, como puede ser la biomonitorización con líquenes y musgos.

6. CONCLUSIÓN

Los líquenes y los musgos han probado hasta el momento, ser organismos perfectamente adecuados y aplicables como biomonitores para medir y controlar el impacto de los metales pesados. Su uso reciente en países desarrollados ha permitido estudiar y adoptar medidas asociadas, con el fin de asegurar una mejor calidad del aire y una mejor calidad de vida de las distintas poblaciones expuestas a estos contaminantes ambientales. La accesibilidad y bajo coste de esta técnica permite igualmente su aplicación en países en vías de desarrollo, adquiriendo especial relevancia por encima de técnicas más complejas y costosas en ellos.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Nash TH III. Lichen Biology. 2ª ed. Cambridge: Cambridge University Press. 2008.
2. Shukla V, Upreti DK, Bajpai R. Lichens to Biomonitor the Environment. 1ª ed. India: Springer India. 2014.
3. Rams Sánchez S. ¿Para qué sirven los musgos después de la Navidad? Primera parte: El papel ecologico de los briófitos. Eubacteria. 2008; 20:15-18.
4. Vanderpoorten A, Goffinet B. Introduction to bryophytes. 1ª ed. Cambridge: Cambridge University Press. 2009.
5. Goffinet B. Bryophyte biology. 2ª ed. Cambridge: Cambridge University Press. 2008.
6. Jiang Y, Fan M, Hu R, Zhao J, Wu Y. Mosses are better than leaves of vascular plants in monitoring atmospheric heavy metal pollution in urban areas. International Journal of Environmental Research and Public Health. 2018; 15:1105
7. Desamparados M. Contaminantes atmosféricos particulados. 1ª ed. Castellón: Universitat Jaume I. 2012.
8. Spaeth KR, Tsismenakis AJ, Kales SN. Heavy metals : a rapid clinical guide to neurotoxicity and other common concerns. 1ª ed. New York: Nova Science Publishers Inc. 2010.
9. Markert BA, Breure AM, Zechmeister HG. Bioindicators and biomonitors. 1ª ed. Oxford: Elvesier Science Ltd. 2003.
10. Martin MH, Coughtrey PJ. The use of terrestrial animals as monitors and indicators of enviromental contamination. Biological Monitoring of Heavy Metal Pollution. 1982; 221-310.
11. Garty J. Biomonitoring atmospheric heavy metals with lichens: theory and application. Critical Reviews in Plant Sciences. 2001; 20:309-371.
12. Markert B, Oehlmann J, Roth M. General aspects of heavy metal monitoring by plants and animals. Environmental Biomonitoring. 1997; 2:19-29.
13. Garty J. Biomonitoring heavy metal pollution with lichens. En: Kranner IC et al. Protocols in Lichenology. 1ª ed. Berlin: Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 2002. pp 458-475.
14. Szczepaniak K, Biziuk M. Aspects of the biomonitoring studies using mosses and lichens as indicators of metal pollution. Environmental research. 2003; 93:221-230.
15. Conti ME, Cecchetti G. Biological monitoring: lichens as bioindicators of air pollution assessment—a review. Enviromental pollution. 2001; 114:471-492.

16. Folkenson L. Deterioration of the moss and lichen vegetation in a forest polluted by heavy metals. *Ambio*. 1984; 13:37-39.
17. Zechmeister HG, Grodzińska K. Bryophytes. En: Markert BA et al. *Bioindicators and biomonitors*. 1ª ed. Oxford: Elviesier Science Ltd. 2003. pp 329-334.
18. Zhang ZH, Chai ZF, Mao XY, Chen JB. Biomonitoring trace element atmospheric deposition using lichens in China. *Enviromental Pollution*. 2002; 120:157-161.
19. Ite AE, Ubong UU, Etesin UM, et al. Heavy metals in epiphytic lichens and mosses of Oil-Producing communities of Eket and Ibeno, Akwa Ibom State-Nigeria. *American Journal of Environmental Protection*. 2016; 4:38-47.
20. Harmens H, Buse A, Bükér P, et al. Heavy metal concentrations in European mosses: 2000/2001 survey. *Journal of Atmospheric Chemistry*. 2004; 49:425-436.
21. Harmens H, Norris DA, Steinnes E, et al. Mosses as biomonitors of atmospheric heavy metal deposition: spatial patterns and temporal trends in Europe. *Environmental Pollution*. 2010; 158:3144-3156.
22. ICP Vegetation. European surveys of heavy metal accumulation in mosses. 2017. Disponible en: <https://icpvegetation.ceh.ac.uk/our-science/heavy-metals>
23. Kłos A, Ziembik Z, Rajfur M, et al. Using moss and lichens in biomonitoring of heavy-metal contamination of forest areas in southern and north-eastern Poland. *Science of the Total Environment*. 2018; 627:438-449.
24. Bosch-Roig P, Barca D, Crisci GM, Lalli C. Lichens as bioindicators of atmospheric heavy metal deposition in Valencia, Spain. *Journal of Atmospheric Chemistry*. 2013; 70:373-388.
25. Fernández JA, Ederra A, Núñez E, et al. Biomonitoring of metal deposition in northern Spain by moss analysis. *Science of the Total Environment*. 2002; 300:115-127.
26. Parviainen A, Papaslioti EM, Casares-Porcel M, Garrido CJ. Antimony as a tracer of non-exhaust traffic emissions in air pollution in Granada (S Spain) using lichen bioindicators. *Environmental Pollution*. 2020; 263:114482.