

1

**Biomonitorización
de la calidad del aire**

Alejo Carballeira Ocaña
Rubén Retuerto Franco
J. Ángel Fernández Escribano
Jesús Aboal Viñas

UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

1. INTRODUCCIÓN: CONCEPTOS ECOTOXICOLÓGICOS BÁSICOS

El desarrollo tecnológico, la industrialización, la agricultura tecnificada, etc., contribuyen a que entren en el medio ambiente un número creciente de sustancias químicas -sintéticas o naturales-, cuyas interacciones sobre el medio y los organismos no se conocen habitualmente, o se conocen insuficientemente.

Según datos de la EPA y la OMS en 1980 (Albert, 1990) el uso cotidiano de sustancias químicas en el mundo era de aproximadamente 63000 con un incremento anual entre 1000-2000 sustancias nuevas. En 1982 se estimaba que se habían sintetizado ya cinco millones de sustancias y que de las 65725 de uso común en EE.UU. el 30% eran tóxicas.

El estudio integral de las sustancias que se van sintetizando es muy lento, sólo se han estudiado a fondo, aproximadamente, unas 2000, por ser extremadamente difícil, costoso y complicado. Una idea de la complejidad que esto supone nos la da el número de datos que son necesarios conocer sobre cada sustancia: información general, transporte y distribución en el ambiente, modificaciones ambientales, biotransformaciones, efectos biológicos, etc. Además, estas sustancias tienen contaminantes de producción y pueden generar efectos combinados desconocidos, lo que multiplica el número de compuestos y situaciones a investigar. De esta forma, la distancia entre la producción de nuevos compuestos (crecimiento neomaltusiano), por un lado, y el grado de conocimiento sobre los mismos por otro, aumenta más rápidamente cada día.

En función de la información obtenida, diversos organismos nacionales e internacionales han tratado de seleccionar los parámetros que permiten definir el perfil de riesgo ecotoxicológico potencial que presenta cada sustancia en particular. El tipo de datos requeridos varía de un país a otro pero, en general, los más aceptados son:

- Tendencias de producción y uso
- Persistencia y bioacumulación
- Tendencia a la dispersión
- Transformaciones ambientales
- Efectos biológicos conocidos o estimados
- Población expuesta

A medida que avanza el conocimiento ecotoxicológico, se perfeccionan los métodos de análisis y los bioensayos, y las legislaciones de los países se hacen más exigentes. Aumentan las listas negras y grises de compuestos, los umbrales se estrechan y se exige, cada día más, una información más ecológica.

1.1. TIPOS Y FUENTES DE CONTAMINACIÓN ATMOSFÉRICA

La perturbación de un ecosistema se puede producir de tres formas: por introducción de materia o energía; por extracción de materia o energía; y por alteración mecánica *in situ*.

Desde esta perspectiva una contaminación es una perturbación por introducción de energía o materia, y esta puede ser inorgánica u orgánica, y viva o no viva. Precisamente según la naturaleza del agente contaminante se suele distinguir entre: contaminación física (calor, radiación, ruido); contaminación química (metales, plaguicidas, hidrocarburos, etc.); y contaminación biológica (virus, bacterias, hongos, parásitos, etc.).

La *contaminación física*, por sus características, suele tener efectos a largo plazo, por lo cual son más sutiles y más difíciles de establecer los factores causales. Los efectos biológicos pueden ser de tipo neurológico, alteraciones genéticas, cáncer, etc.

La *contaminación química* se inicia con la revolución industrial pero empieza a tener peso a partir del desarrollo tecnológico posterior a la Segunda Guerra Mundial. A partir de ahí, aumenta el grado de industrialización en muchas zonas del mundo y aumenta exponencialmente el tipo de contaminantes derivados de actividades antrópicas, sobre todo de tipo sintético (extraños o xenobióticos) frente a los naturales (homobióticos). Las medidas de prevención necesarias implican eliminar, controlar o disminuir la producción y el uso de muchos de estos compuestos.

La *contaminación biológica* suele causar alta morbilidad y mortalidad, desequilibrios competitivos interespecíficos, etc. Sin embargo, es relativamente controlable por medio de higiene e ingeniería sanitaria. Debido a la facilidad de asociar causa-efecto está bien estudiada a nivel humano y de animales domésticos, pero las consecuencias a nivel de ecosistema pueden ser totalmente impredecibles (destrucción de la estructura por eliminación de especies clave, efectos cascada, monopolización de nichos, etc.). En este sentido, hemos de señalar que a nivel ecológico toman cada día más importancia los efectos secundarios de los contaminantes químicos y físicos. Es decir, frente a la toxicidad aguda, que provoca a corto plazo daños evidentes acompañados de porcentajes de mortalidad significativos, interesa controlar aquellos efectos subletales a más largo plazo (toxicidad crónica), que son más difíciles de percibir, pues en principio solamente alteran alguna característica poblacional, que no hace más que reducir su probabilidad de supervivencia (p.e. disminución de la tasa reproductora por reducción en la frecuencia

de la cópula o por la disminución de la viabilidad de juveniles; pérdida de eficiencia en la búsqueda del alimento o en la huída, etc.) pero que al final puede desembocar en: desequilibrio de las interacciones poblacionales; extinción de la población; desintegración de la estructura o del funcionamiento del ecosistema; etc.

Las principales fuentes de contaminación atmosférica son:

- La producción de energía, tanto la derivada de los combustibles fósiles (carbón y petróleo) como la nuclear (residuos, accidentes, fugas, etc.).
- La industria química y la minería, que liberan todo tipo de agentes contaminantes (aldehídos, fenoles, fluoruros, aniones, metales pesados, etc.).
- Las actividades agrícolas, que con el uso creciente de abonos y pesticidas, está aumentando la contaminación difusa, de difícil control y erradicación.

Los contaminantes químicos, los que nos ocupan en este caso, los podemos clasificar de gran número de formas: por la actividad humana que los generó (agrícola, urbana, etc.); por el compartimento ambiental en que se encuentra (agua, sedimento o biota); por su estado físico (líquido, gas, etc.); por su estructura química (éster, ácido, base, óxido); por su uso (plaguicida, anticongelante, disolvente, etc.); y por el tipo de efecto tóxico (neurotóxico, teratógeno,...). En general, se utiliza la clasificación química, al ser esta invariable, y a continuación se agregan otras clasificaciones para especificar el tipo de sustancia de que se trata (p.e. plaguicida organofosforado neurotóxico usado en cultivos de frutales contra la mosca de la fruta).

1.2. CONTAMINACIÓN *VERSUS* POLUCIÓN

El principio de Lavoisier dice que la materia y la energía no se crean ni se destruyen, solamente se transforman. A nivel ecotoxicológico este principio se puede traducir como: *una sustancia o energía que entra en un ecosistema - en un organismo vivo o en el medio- debe acumularse, transformarse o salir de él.*

Si el sistema, biótico o abiótico, es capaz de asimilar, transformar o eliminar continuamente un contaminante, se puede decir que está en una situación de equilibrio estable. Si se rebasa la capacidad del sistema, se altera el equilibrio y se puede desestabilizar por acumulación de materia o energía. Esta acumulación se conoce como CONTAMINACIÓN y si va acompañada de daño o degradación se conoce como contaminación tóxica o POLUCIÓN.

Frente a los compuestos *homobióticos* los organismos han podido desarrollar, a lo largo de su evolución, mecanismos de defensa o de detoxificación,

por debajo de un nivel de exposición, superado el cual pueden observarse daños. Esto no ocurre con las sustancias *xenobióticas* a los procesos biológicos, pues son contaminantes tóxicos potenciales debido a que su concentración natural es cero y los organismos no han tenido tiempo de adaptarse a su presencia. Las características diferenciales de estos dos tipos básicos de contaminantes químicos son:

- Los homobióticos son fácilmente biodegradables, no tienden a acumularse en las cadenas tróficas, tienden a descender inmediatamente después del cese de la emisión y tienden a elevar la mortalidad.
- Los xenobióticos son difícilmente o no biodegradables; presionan el ecosistema a todos los niveles; tienden a concentrarse en los niveles tróficos superiores; su degradación es lenta lo que aumenta su persistencia y la posibilidad de que se alcancen concentraciones corporales críticas; tienden a deprimir la natalidad, y son inductores de respuestas que crean nuevas desviaciones.

Toda actividad humana que provoque una entrada de sustancias en el medio inferior a la capacidad de este de transformarlas, provocará efectos que serán adversos o estarán restringidos en el tiempo y en el espacio; se puede hablar entonces de una *contaminación temporal* o parcial, que aunque requiere atención puede evitarse o eliminarse.

Los problemas graves aparecen cuando la contaminación se extiende en el tiempo y en el espacio (*contaminación crónica*), es decir, cuando la superficie contaminada aumenta o permanece así por períodos prolongados. Entonces se puede romper el equilibrio ecológico y aparecen efectos adversos que pueden ser de tipo acumulativo, de umbral o de interacción.

1.3. ESCALA ESPACIO-TEMPORAL Y NIVELES DE ORGANIZACIÓN ECOLÓGICA

Los biólogos organizan el mundo en términos de niveles de organización jerárquicos, desde el gen a la biosfera. Desde el punto de vista ecotoxicológico, también es necesario considerar dichos niveles:

- Porque las medidas del impacto de un contaminante pueden realizarse a los diferentes niveles pero no es igualmente importante cada nivel.
- Por necesidades prácticas, ya que algunos niveles son más representativos que otros según la situación analizada.
- Porque según el tipo de impacto ambiental varía la escala espacio-temporal que se debe considerar.

Por ejemplo, las escalas en los tests de toxicidad pueden ser muy variables desde las condiciones de laboratorio a las de campo o de ensayar un organismo a una comunidad (Tabla 1.1).

Tipo de test	Escala		Grado de organización biológica	
	Espacial	Temporal	Estructural	Funcional
Test de laboratorio a nivel de organismos	cm ² -m ³	horas-días	Organismo	reproducción crecimiento
Test microcosmos	cm ² -m ³	días-meses	Organismo Población Comunidad	producción ciclo nutrientes
Test de campo	m ² -Km ²	días-años	Organismo Población Comunidad	producción ciclo nutrientes
Monitorización Ambiental	m ² -Km ²	años	Organismo Población	producción ciclo nutrientes

Tabla 1.1.- Escalas de observación en los tests de toxicidad

1.4. TOXINA Y TOXICIDAD

Tóxico o toxina es toda sustancia perjudicial para los organismos (alteración fisiológica, genética, del comportamiento, de las interacciones ecológicas, etc.) y el proceso por el cual se produce el daño le denominamos *contaminación tóxica* o *polución*. La propiedad tóxica o toxicidad no es una propiedad fija e inherente¹ como son las propiedades físico-químicas (peso molecular, densidad, refracción...) pues depende de los factores biológicos implicados:

- Biodisponibilidad (propiedades fisicoquímicas del tóxico, concentración y condiciones ambientales, posibilidades y dosis ingerida, metabolización, etc.)
- Bioacumulación (depende de la especie, sexo, edad, estado nutricional, equilibrio hormonal, grado de actividad, etc.)
- Afinidad por el órgano receptor (depende de las características del tóxico y de las características bioquímicas del receptor)

Como vemos, el riesgo ofrecido por una sustancia dada no sólo depende de su naturaleza química, sino también de la posibilidad que tiene un orga-

¹ *Dosis sola facit venenum* (Paracelsus).

nismo de quedar expuesto a ella y de la cantidad que puede ser absorbida durante esa exposición. Por ello, se debe hacer distinción clara entre:

exposición (situación que hace posible la penetración o absorción de una sustancia tóxica en un organismo), *peligro* (posibilidad de una sustancia de provocar un efecto adverso una vez que ha penetrado en el organismo), y *riesgo* (probabilidad o frecuencia que cabe esperar que se presenten efectos indeseables).

Se entiende por *dosis* la cantidad de una sustancia que se absorbe por unidad de tiempo y de peso corporal ($\text{mg kg}^{-1} \text{ día}^{-1}$) y que puede estar fraccionada en diferentes tomas o ser un proceso continuo (i.e. inhalación). Mientras que *concentración* es la cantidad de tóxico por unidad de peso de alimento, presa, medio, etc. (mg kg^{-1} , g m^{-3}); y *toma* es la cantidad de tóxico ingerido en una sola vez.

Como las poblaciones presentan variabilidad de respuestas individuales las dosis (D) pueden clasificarse por sus efectos en: *Dosis letal absoluta* (DL_{100}) si afecta al 100% de los individuos; *Dosis letal mediana* (DL_{50}) si afecta al 50% de los individuos; *Dosis letal mínima* (DL_{01}); *Dosis umbral* (D_u) o nivel por debajo del cual no se espera que aparezcan efectos nocivos, aunque sean de carácter leve. Hablamos de *Dosis subletal o eficaz* (DE) la que sin provocar la muerte afecta o altera algún proceso biológico de toda o parte de la población (DE_{100} , DE_{50} , DE_{01}).

Como muchas veces la dosis es difícil de determinar, se utilizan expresiones similares cambiando el término dosis por concentración (C) del tóxico en el medio (aire, agua) o en el alimento (CL_{50} , CE_{50}). De esta forma, el *potencial tóxico* de una sustancia puede ser caracterizado de manera subjetiva (*leve, medio, alto...*) o, de manera objetiva, utilizando una escala de valores (<1 a >5000) basada en el concepto de *unidad tóxica o ratio*: concentración del tóxico/ CL_{50} .

1.5. FACTORES QUE PUEDEN INFLUIR EN LA TOXICIDAD DE UNA SUSTANCIA

Los factores que pueden influir en la toxicidad de una sustancia podemos clasificarlos en tres grupos:

- Factores dependientes de la estructura molecular del tóxico, es decir, nos informan de su potencialidad.
- Factores externos que condicionan su biodisponibilidad.
- Factores bióticos.

Entre los factores dependientes de la estructura molecular que mejor informan del potencial tóxico de una sustancia están: el coeficiente de re-

parto lípido/agua, la constante y el grado de ionización, la acción caótropa, la afinidad por compuestos tisulares, la acción quelante, y otras particularidades estructurales.

Para poder cuantificar el nivel de exposición de un organismo a una sustancia tóxica, cuando tratamos de procesos de bioconcentración, es necesario conocer su procedencia y cinética ambiental. Así, a escala atmosférica, tendríamos:

Emisión (esporádica/crónica) → Dispersión → Transformación → Deposition (seca/ húmeda/latente) → Interacciones → Inmisión (exposición externa) → Exposición Interna (cantidad de tóxico en el organismo, en su totalidad, en fluidos, en excretas y, mejor, en el órgano diana afectado por la toxina).

La entrada corporal del tóxico puede realizarse de varias formas: por difusión pasiva, difusión facilitada, transporte activo y pinocitosis; además, la acción tóxica de una sustancia puede depender de la interacción con otras, dando lugar a: combinaciones peligrosas, reducciones de toxicidad, inactivaciones, efectos diferentes, aumentar o reducir el tiempo de exposición, etc. De tal forma que la fase ecotoxicocinética considera el conjunto de procesos que dentro del organismo vivo determina la cantidad de tóxico que será capaz de tomar contacto con el sistema biológico específico con el que reacciona. Los procesos implicados en esta fase (entrada, distribución, biotransformación, fijación, secuestación y excreción) determinan lo que se conoce como *biodisponibilidad* del tóxico.

Una vez que el tóxico está en el interior del cuerpo, puede ser eliminado directamente o ser biotransformado, es decir, sufre una transformación estructural, que aumente su polaridad y le haga más hidrosoluble, facilitando de este modo su excreción, o que se produzca algún cambio estructural que provoque una modificación de su capacidad tóxica, reduciéndola (*detoxificación*) o incrementándola (*bioactivación o biotoxificación*).

1.6. RESPUESTAS DE LOS ORGANISMOS A LOS CONTAMINANTES

Los organismos individualmente responden de muy diferentes formas a la acción tóxica de los contaminantes. Se pueden producir: respuestas genotóxicas (carcinogénesis, teratogénesis, etc.), respuestas bioquímicas (proteínas del estrés, competencia e inhibición enzimática, etc.), alteraciones fisiológicas (respiración, fotosíntesis, etc.) y alteraciones del comportamiento.

Pero se pueden observar respuestas a otros niveles de organización como poblaciones, comunidades y ecosistemas. Es cierto también que las respuestas a estos niveles son mucho más difíciles de estudiar y de determinar, en comparación con el nivel de suborganismo u organismo por diferentes razones:

- El grado de complejidad y variabilidad de las respuestas se incrementa con el nivel de organización (molecular→ ecosistema). La elevada variabilidad de los niveles de referencia o fondo comparada con la relación señal-efecto reduce la precisión, robustez y reproducibilidad de las medidas, aumentando el grado de incertidumbre de la predicción.
- Los efectos tóxicos solamente son expresados a alto nivel cuando los mecanismos homeostáticos o de compensación de los niveles bajos fallan.
- Porque la existencia de mecanismos de compensación y homeostáticos de los diferentes niveles puede ralentizar las respuestas expresándose estas en los niveles superiores a largo plazo.
- Las interacciones ecológicas a estos niveles son muy complejas y variables y los mecanismos de compensación y rehabilitación son menos conocidos.
- Las respuestas a los tóxicos en estos niveles de organización son mucho menos específicas, dificultando la obtención de relaciones causales, necesarias para la evaluación y la predicción de riesgos.

A nivel de población interesa conocer la influencia de los contaminantes sobre las diferentes *fases del ciclo de vida* (de embrión a embrión). Es bien conocido que la susceptibilidad, el valor reproductivo, la tasa de supervivencia, etc., varían drásticamente con el estado de desarrollo del individuo, siendo los estados larvarios y juveniles, generalmente, más sensibles a los tóxicos.

Los tóxicos pueden provocar cambios en la *frecuencia genotípica* y el *pool génico* de una población por eliminación de ciertos genes susceptibles o potenciación de genes resistentes.

La alteración de una población por un tóxico puede afectar *indirectamente* a otras poblaciones que mantengan con la primera algún tipo de interacción (depredador-presa, explotación-competencia, trofodinámica, mutualismo, etc.).

A nivel de comunidad y ecosistema los cambios en los parámetros estructurales y funcionales (riqueza y diversidad específica; P/B; tasa de descomposición, etc.), son utilizados como variables respuesta a los contaminantes.

BIBLIOGRAFÍA

ALBERT, L. 1990. Toxicología Ambiental. Editorial Limusa-Noriega, México.

2. FUENTES, TRANSPORTE Y DISPERSIÓN DE CONTAMINANTES ATMOSFÉRICOS

2.1. FUENTES DE EMISIÓN DE CONTAMINANTES ATMOSFÉRICOS

Se habla de dos tipos de fuentes de contaminantes atmosféricos, *puntuales* y *zonales*, según la localización de la emisión consista en un foco, como la chimenea de una fábrica, o una superficie de emisión, como una ciudad. También pueden ser fuentes fijas (calefacción) o móviles (transporte). Sea cual sea el tipo, las fuentes de emisión de contaminantes se pueden agrupar en cinco categorías:

- Fuentes de transporte (automóviles, trenes, aviones, etc.).
- Combustión en fuentes estacionales (residencial, comercial, industrial y generación eléctrica).
- Emisiones procedentes de pérdidas en procesos industriales (industria química, metalúrgica, de productos minerales, refinerías, etc.).
- Eliminación de residuos sólidos (incineradoras municipales y vertederos a cielo abierto).
- Varias (incendios forestales, quema de residuos agrícolas, etc.).

2.2. CAPACIDAD DISPERSANTE DE LA ATMÓSFERA

La cantidad emitida y la capacidad de dispersión de un contaminante, dependerán de su naturaleza, de las condiciones atmosféricas y del tipo de fuente (puntual, zonal, fija o móvil). Así, las carreteras sin pavimentar son una fuente zonal de contaminación muy común, de tal forma que la cantidad de polvo que se genera dependerá del volumen de tráfico, velocidad media, textura y humedad del pavimento. Para una contaminación de este tipo, la zona impactada se limitará a una franja estrecha a los bordes del camino durante el período de tránsito de vehículos.

Los factores de emisión de otras fuentes están controlados por ley (estándares de emisión según el tipo de industria y la tecnología empleada, el contaminante considerado y la capacidad de transformación autorizada) y la capacidad de dispersión de los contaminantes emitidos dependerá de las características generales de la zona, topográficas y atmosféricas, tales como:

- La altura de mezcla o distancia vertical que puede alcanzar la mezcla contaminante por encima de la superficie, en un momento o período dado. Con variación diaria, estacional y topográfica.

- La intensidad, duración y momento (noche y primeras horas de la mañana; más frecuentes en invierno y otoño) de las inversiones térmicas limitan la dispersión horizontal. Las inversiones sólo ocurren en condiciones de calma general (situación anticiclónica), y favorecen la acumulación de contaminantes si se forman nieblas.
- El viento condiciona la dispersión de los contaminantes siendo esta mayor cuanto mayor sea la intensidad y persistencia de los vientos.
- La radiación solar que controla el calentamiento del aire, su capacidad convectiva y estabilidad.
- La precipitación que puede producir un lavado de la atmósfera diluyendo los contaminantes, pero también puede favorecer su concentración en caso de lloviznas.

2.2.1. Modelos de emisión de contaminantes

Con el objeto de poder predecir impactos ambientales de una futura actividad antrópica, asociada a una contaminación atmosférica, muchos físicos y matemáticos han realizado numerosos esfuerzos para la construcción de modelos de dispersión de contaminantes. Para aplicar estos *modelos cuantitativos* de dispersión de contaminantes, es necesario disponer de información horaria, diaria y mensual, sobre una serie de variables, tales como: radiación solar, estructura térmica, temperatura, humedad, velocidad y dirección del viento, presión atmosférica, etc.

Los modelos creados son de varios tipos: balances de masas, modelos matemáticos simples, modelos matemáticos detallados y otros. Los modelos de *balances de masas* se basan en el inventario de emisiones. Los *modelos matemáticos simples* (modelos de cajas) consideran un régimen permanente de emisión y de las condiciones atmosféricas y que la mezcla sea instantánea. Los *modelos matemáticos detallados* pueden ser según las circunstancias consideradas: modelos de fuentes puntuales a nivel de suelo o elevadas, modelos de fuentes zonales lineales a nivel de suelo, modelos según tipos de contaminantes (gases o partículas) o de tiempos medios, y modelos sobre reacciones atmosféricas (deposición, smog, etc.).

2.2.2. Modelos de inmisión

El objetivo de estos modelos es caracterizar cómo se distribuye realmente el contaminante en el entorno del foco de emisión una vez liberado, para poder

describir la dependencia *concentración-posición espacial* y poder analizar la estructura espacial (efecto de factores ambientales; diferencias estacionales; diferencias de comportamiento entre contaminantes; etc.).

La estructura espacial puede realizarse directamente (*de visu*) a través de la abundancia del contaminante y su localización geográfica, pero la interpretación es difícil si no hay un patrón claro; además no permite clasificar o comparar comportamientos de manera objetiva.

El trazado de isolíneas se puede realizar mediante técnicas de interpolación espacial, aunque estas técnicas -incluido el kriging- por definición, fuerzan a que los valores estimados y los observados coincidan, incluyendo el ruido que estos contienen (errores analíticos, del microhábitat, variabilidad del material, etc.). Se puede producir un resultado excesivamente complejo, que oculte o dificulte la observación de las características de interés del proceso.

Los modelos matemáticos se basan generalmente en una función matemática, dependiente de variables geotopográficas, que fijan la posición geográfica de las muestras, que explique los valores de concentración observados. La función, óptima, debe recoger la información relevante contenida en los datos pero no el ruido superpuesto. Entre las ventajas de los modelos matemáticos están: que su propia gráfica es un mapa de la distribución en el espacio del contaminante, sin el ruido; las características del proceso, representadas por la función, pueden ser sometidas a técnicas de análisis matemático, en lugar de interpretaciones a ojo (localización del máximo de la función; analizar la derivada (gradiente) de la función; velocidades y direcciones; etc.

El patrón espacial esperado de los modelos de inmisión se basa en que con la distancia al foco, por un lado, los procesos de difusión y dispersión del contaminante en el seno la atmósfera (aumento de volumen) provocan una disminución de la concentración y que, por otro lado, la deposición del material contaminante -con tendencia a sedimentar saliendo del medio transportador- también disminuye la concentración con el tiempo y la distancia.

Los modelos se pueden construir con datos procedentes de medidas químicas convencionales o con medidas de contaminantes en la biota (*bioacumulación*). En el segundo caso, lo que medimos es la concentración de contaminante que está en contacto con el medio transportador, pero también con las partículas que le están cayendo encima y que transportan (o son)

el contaminante. De esta forma, la información sobre el grado de exposición de los organismos al contaminante es más real, pues no viene sólo determinada por la concentración media en el ambiente. Además, el dato nos informa sobre la fracción biodisponible (concentración absorbida) que depende de numerosos parámetros, como son: características del contaminante (especiación y competencia química, régimen de explotación en fábrica, etc.), condiciones ambientales (estabilidad atmosférica, velocidad y dirección del viento, régimen de precipitación, topografía, etc.) y condiciones de la biota (especie; edad; sexo; época del año). Por todo ello, los modelos así contruidos de bio-inmisión de contaminantes son mucho más útiles en las evaluaciones de riesgos ecológicos que los basados en análisis químicos del medio (aire o suelo).

Estructura espacial de los datos. - los datos pueden presentar una dependencia espacial, en el sentido de que la concentración medida en una muestra se parece más a la de las vecinas que a las muestras alejadas de ella (autocorrelación) o bien presentarse en forma de gradiente ambiental, de tal forma que el parecido entre puntos próximos se debe a un proceso exterior al sistema y que opera a una escala grande (técnicas de estadística espacial). En contaminación atmosférica estos suelen ser los modelos más utilizados.

Para la obtención de las superficies de respuesta se usan básicamente dos tipos de métodos:

Regresión múltiple: consiste en aplicar una regresión de la variable de interés (independiente) sobre dos o más variables explicativas (variables geotopográficas)

Polinomios: son contruidos con el valor de las variables independientes elevadas a diversas potencias. En el caso de utilizar dos o más variables independientes también se utilizan los productos entre ellas (x^2 , y^3 , x^2y ...) y el ajuste se hace utilizando regresión lineal múltiple.

Los modelos polinómicos toman formas como las siguientes:
donde,

$$z = \beta_{00} + \beta_{10}x + \beta_{01}y \quad \text{Primer grado}$$

$$z = \beta_{00} + \beta_{10}x + \beta_{01}y + \beta_{20}x^2 + \beta_{02}y^2 + \beta_{11}xy \quad \text{Segundo grado}$$

$$z = \beta_{00} + \beta_{10}x + \beta_{01}y + \beta_{20}x^2 + \beta_{02}y^2 + \beta_{11}xy + \beta_{30}x^3 + \beta_{03}y^3 + \beta_{21}x^2y + \beta_{12}xy^2 \quad \text{Tercer grado}$$

x = coordenada del punto en dirección E-O (longitud)

y = coordenada en dirección N-S (latitud)

Con el objeto de simplificar la forma de la ecuación resultante y mejorar las propiedades estadísticas de los datos (normalización de su distribución, estabilización de las varianzas...), se suelen transformar los datos, siendo la transformación logarítmica la más adecuada. Por otro lado, se procura que los modelos sean lo más sencillos posibles -sin términos superfluos- esto es, con todos sus coeficientes significativamente distintos de cero, con el coeficiente de determinación más alto posible y que deje todo el ruido aleatorio que contienen los datos en los residuos. Al ir aumentando el grado del polinomio, su flexibilidad aumenta, pero aumenta también la cantidad de términos que lo forman. Cuanto mayor sea el orden del modelo, más compleja será su forma y será más difícil de analizar matemáticamente.

Una vez que se ha seleccionado el modelo, se procede a su explotación, es decir, lo que se pretende es resumir cuantitativamente las características principales de la superficie, localizar las zonas de interés, tales como: máximos, mínimos, zonas estacionarias, lugares de inflexión, etc. Estos datos serán de interés para comparar superficies ajustadas para conjuntos de datos diferentes (diferencias estacionales, diferente comportamiento de contaminantes, etc).

Ejemplo:

MODELO DE BIO-INMISIÓN: *DISTRIBUCIÓN DE FLÚOR BIOCONCENTRADO EN MUSGOS TERRESTRES EN EL ENTORNO DE UNA FÁBRICA DE ALUMINIO.*

Se realizaron dos campañas de muestreo, en mayo y noviembre, recolectando dos especies de musgos terrestres (*Scleropodium purum* e *Hypnum cupressiforme*) en 40 localidades situadas en el entorno de una industria de alúmina-aluminio (Real et al., 2001). Se homogenizó la exposición temporal para la bioconcentración analizando los 4 cm apicales. Se transformaron los datos ($\ln$) y se seleccionaron los mejores modelos polinómicos de cada campaña (Tabla 2.1.), siendo los ajustes en los dos casos altamente significativos ($P < 0.0001$).

Con los modelos seleccionados se realizaron los mapas de curvas de nivel para representar la superficie obtenida (Fig. 2.1.), donde se recogen los valores de $\ln[F]$ que se han utilizado directamente para realizar las regresiones.

Los niveles de flúor fueron más elevados en el segundo muestreo, el valor máximo en la 1ª campaña fue $133 \mu\text{g g}^{-1}$ (4.9 en el gráfico) y en la segunda $152 \mu\text{g g}^{-1}$ (5.3 en el gráfico).

Mayo (modelo cuadrático con $r^2= 74.9$)				
Parámetros	B	Error estándar	t	p
Constante	4.71646	0.167002	28.24190	0.0000
X (A)	-0.30190	0.129458	-2.33203	0.0274
X ² (B)	-0.18551	0.038794	-4.78190	0.0001
Xy (E)	0.65537	0.171768	3.81543	0.0007
Y (G)	-1.35052	0.209613	-6.44289	0.0000

Noviembre (modelo cúbico con $r^2= 82.8$)				
Parámetros	B	Error estándar	t	p
Constante	5.1498	0.163696	31.4596	<0.0001
X (A)	-0.716073	0.11082	-6.46158	<0.0001
Xy (E)	1.15799	0.211039	5.48707	<0.0001
Xy ² (F)	-0.421463	0.0864795	-4.87355	<0.0001
Y (G)	-2.9157	0.305349	-9.54874	<0.0001
Y ² (H)	0.829291	0.119942	6.94109	<0.0001

Tabla 2.1. Parámetros estimados de las campañas de mayo y noviembre (t de Student; Y= ln[F]).(Real et al. 2001)

Parámetros característicos:	Campaña	
	Mayo	Noviembre
Máxima bioinmisión (mg/g p.s.)	133	152
Tasa de cambio (ln F/km)	-1.9 a 0.1	-2.3 a -0.5
Dirección preferente:		
Pendiente con el eje de las x	52°	22°
Gradiente (mg/g p.s.)	106-27	131-24

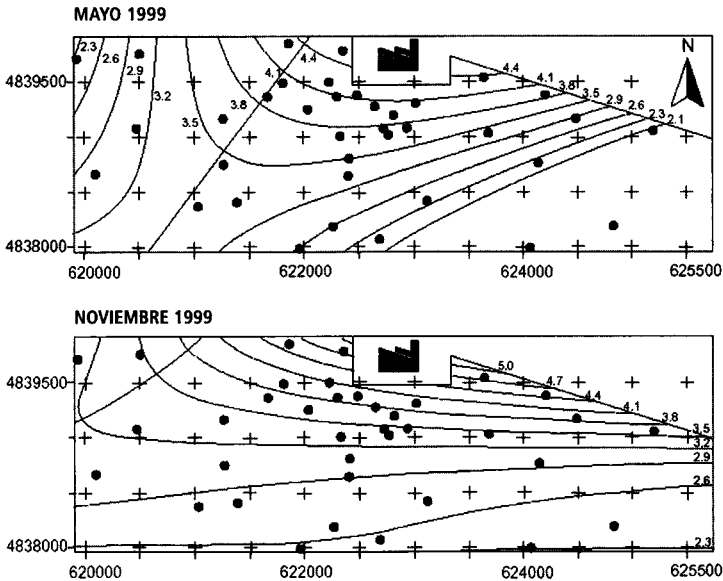


Fig. 2.1. Distribución espacial de flúor en el entorno de una fábrica de alumina-aluminio (San Ciprián, Lugo). Los valores se expresan en ln[F]. (Real et al. 2001)

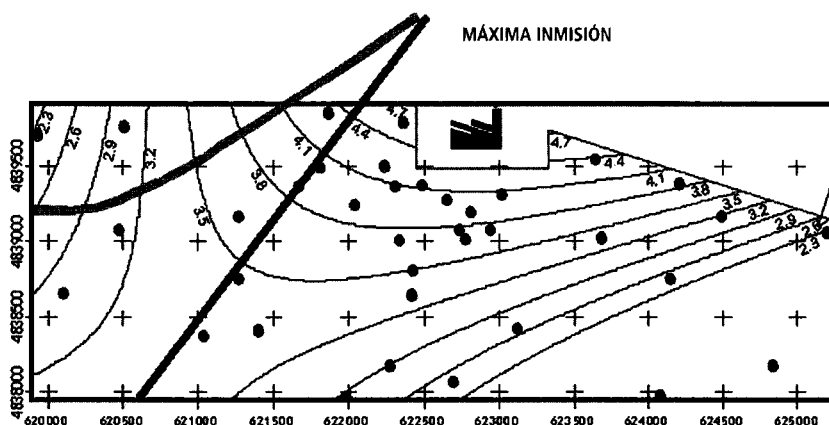


Fig. 2.2. Direcciones preferentes de dispersión del flúor y determinación de la zona de máxima bioinmisión. Relación entre direcciones preferentes y resultantes de los vientos del mes anterior a las campañas de muestreo (mayo y noviembre de 1999) procedentes del 1º y 4º cuadrantes. (Real et al. 2001)

La dirección en la que el gradiente de concentraciones es más suave puede interpretarse como la *dirección preferente* en la que se mueve el flúor, seguramente movido por los vientos dominantes (Fig 2.2.). Esa dirección ha cambiado de un muestreo a otro; en el primer muestreo cruza el eje de las x con un ángulo de 53° y en el segundo muestreo, una parábola, forma un ángulo de 22° . La localización del punto de *máxima inmisión*, equivalente al foco en un modelo de emisión, se puede determinar mediante la intersección de las dos trayectorias.

La variación del contaminante bioconcentrado no es isótropa, ya que, existen direcciones preferentes de desplazamiento y en ambos muestreos la velocidad de caída de las concentraciones no es constante, sino que se va decelerando progresivamente. En el primer muestreo, los valores de la superficie van desde $z = 3.3$ a 4.7 (27.4 a $105.6 \mu\text{g g}^{-1}$) y la pendiente cambia de -1.99 a $0.19 \ln(F) \text{ km}^{-1}$; mientras que en el segundo muestreo, la concentración muestra una caída que es muy rápida al principio y disminuye a medida que nos alejamos del foco; el logaritmo de la concentración varía de $z = 4.9$ a 3.2 (24.4 a $131.2 \mu\text{g g}^{-1}$) y la pendiente de la curva lo hace de -2.328 a $-0.492 \ln(F) \text{ km}^{-1}$.

Por los niveles generales de bioconcentración observados, parece que la intensidad de emisión se mantiene más o menos constante a lo largo del tiempo y que lo que cambia es la dispersión que realiza el viento. En épocas de vientos débiles las partículas se mueven poco en la horizontal y sedimentan en las proxi-

midades del foco. Es de esperar entonces que se observen concentraciones elevadas en el musgo y, al mismo tiempo, fuertes gradientes de concentración. En épocas de mayor capacidad dispersiva del viento, el contaminante liberado se reparte por un área mayor, esto implicaría menores concentraciones en todo el área y gradientes más suaves. Si observamos la frecuencia de la dirección de los vientos en el mes anterior a la toma de muestras y calculamos la resultante del 1º y 4º cuadrante —son los vientos procedentes del mar que conducen los contaminantes hacia tierra— vemos que coinciden en rasgos generales (ángulo de incidencia sobre el eje de las x, 60º frente a 53º y 15º frente a 22º, en el 1º y 2º muestreo respectivamente) con las direcciones preferentes de dispersión de los contaminantes.

BIBLIOGRAFÍA

- REAL, C., FERNÁNDEZ, J.A., ABOAL, J.R. & CARBALLEIRA, A. 2001. *Análisis de la concentración de flúor en musgos del entorno de una planta de producción de alúmina-aluminio*. Conferencia Ibérica de Protección Ambiental, Viseu (Portugal), 12-14 de julio.

3. APROXIMACIONES A LA EVALUACIÓN Y CONTROL DE LA CALIDAD DEL AIRE

3.1. ANÁLISIS ABIÓTICOS *VERSUS* ANÁLISIS BIÓTICOS

Antes hemos señalado cómo la expansión continua de la producción industrial, de la producción agrícola, y del consumo en general, provocan el aumento del volumen de desechos y el número de productos sintéticos de baja biodegradabilidad. También aumenta el desconocimiento relativo de los efectos tóxicos de los nuevos productos. Por ello es necesario, por un lado, estudiar los efectos de los productos residuales –solos o conjugados, sobre cada receptor (hombre, organismos y ecosistemas), según las condiciones ambientales propias de cada región y su persistencia y efectos a corto y largo plazo- y, por otro lado, es necesario desarrollar mecanismos de evaluación, predicción y control de la calidad del medio, genéricos y/o específicos.

Para el estudio de la calidad del aire tenemos dos aproximaciones complementarias: el análisis físico-químico del medio (aire, suelo o humus) o el de organismos (biomonitorización).

Las dos aproximaciones informan de manera complementaria y permiten establecer relaciones muy interesantes para la construcción de modelos predictivos (concentración del contaminante- efectos biológicos). En la Fig. 3.1. se pone en evidencia que a cada situación ambiental le corresponde una comunidad de organismos y, por tanto, cada situación puede caracterizarse simultáneamente a través del análisis del medio y de la salud de los organismos, así como de la composición y funcionamiento de los ecosistemas. El esquema es asimilable a un gradiente de cambio ecológico espacial (distancia frente al foco emisor) pero también a una dimensión temporal, es decir, evolución con el tiempo de una estación ecológica después del cese de un episodio contaminante.

Ventajas e inconvenientes de cada aproximación. – Los análisis fisicoquímicos del aire (gases y meteoros) presentan dos ventajas claras: una, la interpretación directa de los resultados frente a determinados usos, fundamentalmente para el hombre, y la rapidez y coste de los resultados, siempre que nos contentemos con un análisis convencional (temperatura, SO₂, NO_x, HN, COVs, etc.).

Pero los análisis del aire presentan limitaciones ecológicas derivadas de problemas metodológicos, representatividad, interpretación e integración de la información. Las altas fluctuaciones espacio-temporales de las masas de

aire reducen la representatividad de las muestras. Las bajas concentraciones de muchos contaminantes y su complejidad, hoy muy habitualmente presentes en atmósferas contaminadas (i.e. pesticidas, PAHs, dioxinas, furanos, etc.), plantean dificultades metodológicas y económicas. La falta de respuestas lineales concentración-toxicidad, el desconocimiento de límites de tolerancia, las interacciones entre tóxicos y medio, etc., plantean dificultades graves en la elaboración de modelos, de respuesta o riesgo, fiables. Todo ello se complica en la predicción de efectos subletales o de la alteración de interacciones ecológicas a largo plazo.

La utilización de muestras de suelo superficial para la evaluación y control de contaminaciones vía atmosférica presentan la ventaja de integrar las variaciones temporales de inmisión de contaminantes y concentrar determinadas toxinas, aunque pueden darse determinadas transformaciones que cambien el producto y consecuentemente la actividad tóxica de los compuestos inicialmente depositados. Otros inconvenientes en el uso del suelo para estos fines son: que la heterogeneidad espacial de las características edáficas y de las cubiertas vegetales reducen la representatividad muestral exigiendo esfuerzos de muestreo muy grandes; que la capacidad de fijación de los compuestos es muy variable; el desconocimiento de las tasas de inmisión para evaluar las concentraciones efectivas; el desconocimiento de la biodisponibilidad real de las toxinas dificulta la interpretación de los datos obtenidos; etc.

Muchos estudios de contaminación atmosférica utilizan el humus superficial del suelo por su alta capacidad de retención y por integrar la interceptación de la cubierta vegetal, pero se siguen manteniendo todos los inconvenientes mencionados con las muestras de suelo.

Dentro de los métodos de biocontrol de la calidad del aire, actualmente se usan todo tipo de organismos, como protozoos, plantas –líquenes, briófitos, plantas vasculares- y animales invertebrados y vertebrados. Como propiedades se utilizan biomarcadores, deformidades morfológicas y asimetrías corporales; tests toxicológicos *in vivo* e *in vitro*, en los que se mide todo tipo de respuestas fisiológicas, bioquímicas o etológicas; la estructura de poblaciones y la composición de comunidades a través de índices bióticos y sistemas cenológicos; y la bioacumulación de toxinas en muchas especies. La mayoría de los métodos son de aplicación temporal discreta, pero también han sido desarrollados, y cada día más por su interés, métodos de biocontrol activos en semi-continuo (transplantes) y en continuo (*on line*) con organismos centinelas.

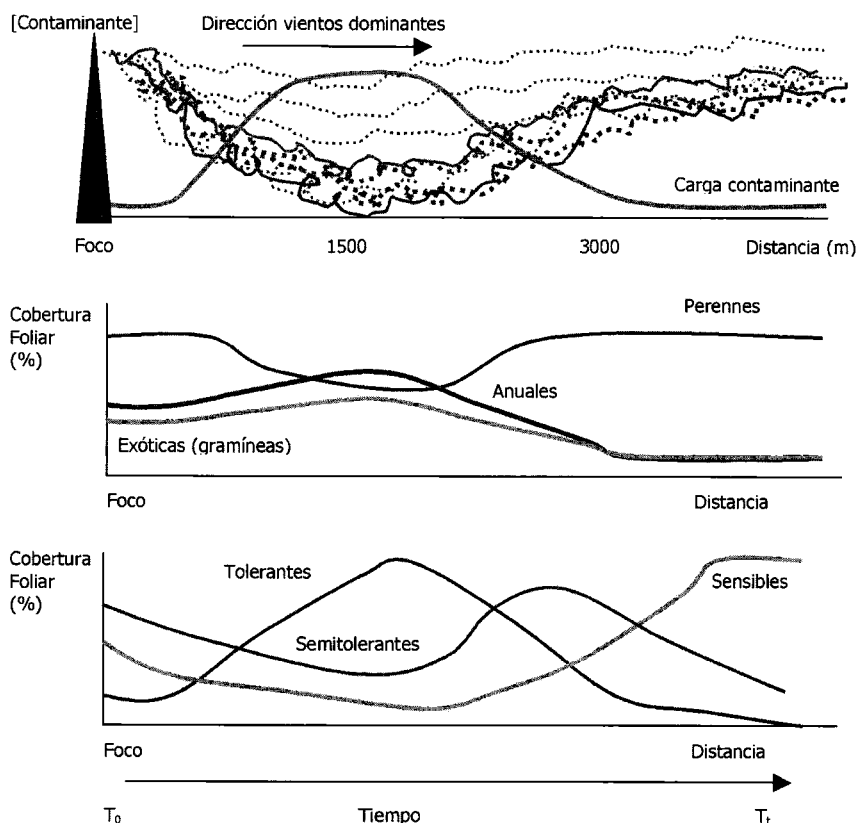


Fig. 3.1. Hipotética respuesta de los ecosistemas situados en el entorno de un foco de contaminación atmosférica por SO_2 .

Cada método tiene sus ventajas e inconvenientes, debiendo de aplicarse los más adecuados (en batería) a cada circunstancia según los objetivos predefinidos. Desde una perspectiva ecotoxicológica, en general, siempre la formula mejor consiste en: la combinación de varios métodos, preferentemente sistemas multiespecíficos y ensayos o estudios en condiciones de campo, con el objeto de aumentar el realismo de los resultados. Pero el esfuerzo disponible en cuanto a costes y tiempo, la especificidad requerida, etc., puede limitar los ideales planteados.

Así, un sistema uniespecífico presentará como ventajas la rapidez y la precisión pero con bajo realismo, frente a uno multiespecífico con más realismo, alto coste económico y restricciones temporales en su aplicación. De igual forma, un método basado en medidas fisiológicas, frente a uno basado en la

bioindicación óptica, presentará como ventajas la buena precisión, la fácil interpretación respecto a la identificación de factores causales y su forma de acción, y posibilidades de monitorización en continuo, pero todo ello con moderado realismo y dificultades de extrapolación a largo plazo.

3.2. BIOINDICACIÓN Y BIOMONITORIZACIÓN

Tanto la bioindicación como la biomonitorización consiste en el uso de variables biológicas para el control ambiental, que se complementa con la monitorización química. La vida es el mejor monitor de calidad ambiental o ecológica de un medio. Los organismos integran la influencia de los parámetros bióticos y abióticos en su hábitat, proveyendo de un continuo registro de la calidad ambiental. Las variables biológicas incluyen: *bioacumulación* (medida de la concentración corporal de un contaminante), *toxicidad* (respuestas de los diferentes niveles de organización biológica a los compuestos químicos por medio de bioensayos de laboratorio y campo) y *respuestas del ecosistema* (evaluación de la integridad ecológica). En función de los diferentes criterios y estrategias utilizados (control, alarma, predicción), se pueden distinguir diferentes tipos de biomonitorización. Algunos usan parámetros autoecológicos, otros usan ensayos ecotoxicológicos en laboratorio, *in situ* o en tiempo real (*on line*) y también se usan parámetros biocenóticos para biomonitorizaciones en condiciones de campo y a largo plazo.

Una serie de conceptos y términos son muy comunes cuando se habla de biomonitorización. Se entiende por *estresor* cualquier proceso o entidad física, química o biológica, que puede inducir efectos adversos sobre individuos, poblaciones, comunidades y ecosistemas. Este término incluye todo tipo de perturbaciones físicas, químicas o biológicas de origen natural o inducidas por el hombre. Mientras que un *bioindicador* puede ser *cualquier entidad o proceso biológico capaz de reflejar una cualidad ambiental*. Puede ser desde un parámetro a nivel de suborganismo (biomarcador), un organismo (bioindicador, centinela, biomonitor, especie test) o una comunidad (indicador ecológico), capaz de reaccionar frente a la polución con un cambio de estructura o de una función vital.

En muchos casos el sentido del término *bioindicación* se refiere a una indicación de tipo cualitativo, mientras que la *biomonitorización* se asocia a una valoración cuantitativa y continuada en el tiempo. En los dos casos, según la naturaleza del proceso biológico involucrado o medido, podemos hablar de tres tipos de indicación:

- Sensible de tipo óptico: como la presencia/ausencia, frecuencia, abundancia, etc., de un organismo o de una comunidad.
- Sensible de tipo físico-químico: cuando se basa en la alteración de una propiedad funcional (fotosíntesis, respiración, crecimiento, etc.).
- De tipo acumulativo: cuando la indicación se basa en el análisis corporal de residuos de contaminantes (Fig. 3.2.).

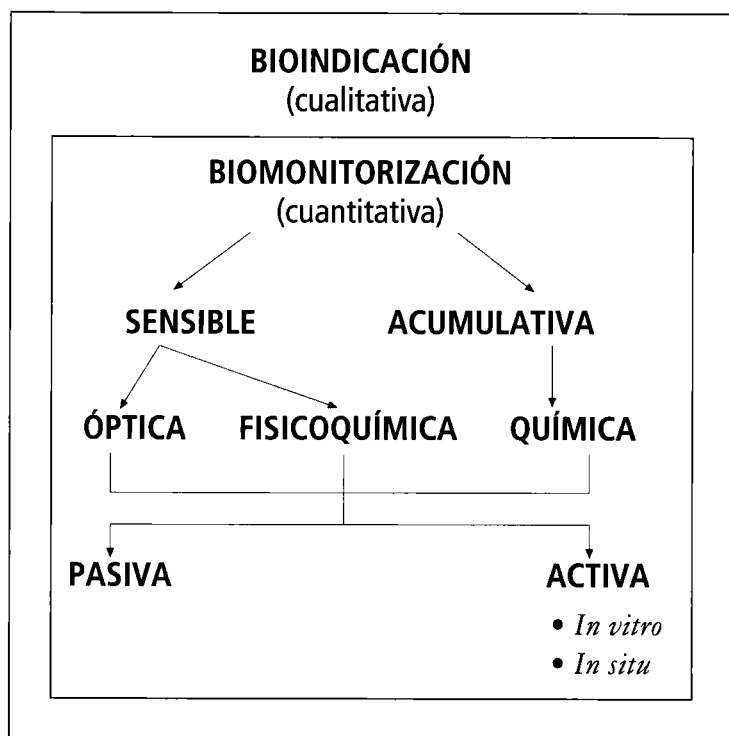


Fig. 3.2. Tipos de biomonitorización.

También se habla de *indicación pasiva* cuando se basa en el uso de especies o comunidades indígenas, e *indicación activa* cuando se realiza con especies o comunidades, exóticas o indígenas, pero no en estado natural sino mediante bioensayos *in vitro* (es el clásico ensayo de toxicidad en donde se prueba una muestra del medio en el laboratorio), o *in situ* (mediante transplantes que se exponen a la acción de las toxinas en el propio medio donde se liberan). La ventaja de los transplantes es que si se realizan con especies

nativas, se conocen los estados de partida (niveles de referencia de bioacumulación y estrés), se controla exactamente el tiempo de exposición (desconocidos en muchos casos en condiciones naturales), y son más realistas al soportar las concentraciones y condiciones ambientales imperantes.

En cuanto a los bioindicadores hablamos de:

- *Centinelas*: organismos sensibles introducidos en el ambiente, como sistema de alarma (es el caso de los canarios en las minas de carbón) o para delimitar efectos de un emisario.
- *Detectores*: especies que aparecen de manera natural en el área de interés y que muestran una respuesta medible (cambios de abundancia, comportamiento o fisiológicos, fecundidad o mortalidad, cambios de la estructura de la población, etc.) a los cambios ambientales.
- *Explotadores*: especies que con su presencia indican la probabilidad de perturbación o polución. Son especies resistentes oportunistas que abundan en áreas contaminadas al provocarse un vacío competitivo por eliminación de las sensibles.
- *Acumuladores*: organismos que toman y almacenan compuestos químicos en cantidades medibles.
- *Especie test*: son especies seleccionadas que sirven de manera estandarizada para ser usadas en bioensayos capaces de detectar la presencia o la concentración de los contaminantes o la toxicidad de los contaminantes.
- *Indicador ecológico*: es una variable que describe patrones o procesos de los ecosistemas, por ejemplo, la diversidad específica.
- *Biomarcador*: es toda respuesta a nivel de suborganismo (bioquímica, histológica, morfológica) indicadora de un tóxico. Como un tóxico puede provocar daños sin dejar residuos analizables o, viceversa, dejar residuos sin que aparezcan daños detectables, se distingue entre biomarcador-respuesta que indica efectos de los contaminantes y biomonitor-acumulación que indica exposición, esto no excluye el que puedan darse las dos condiciones simultáneamente.

Por el *grado de sensibilidad* frente a un tóxico los biomonitores se pueden clasificar en: muy sensibles, sensibles, intermedios, resistentes y muy resistentes. Mientras que en un organismo detector se valora su buena sensibilidad, un centinela demasiado sensible puede producir, con una frecuencia mayor de lo deseable, falsas alarmas.

3.2.1. Objetos de biomonitorización

Los objetos de biomonitorización abarcan desde problemas planetarios, como la pérdida de biodiversidad global por la extinción de las especies debida a la destrucción de hábitats o el efecto del calentamiento terrestre sobre los ecosistemas, hasta la resistencia inmunológica o inducida en una población por la utilización de compuestos químicos en el ambiente. Dicho de otra forma, desde el mecanismo de entrada de un contaminante en el sistema, pasando por todo tipo de efectos que puede desencadenar hasta los impactos a nivel de todo el ecosistema (Fig. 3.3.).

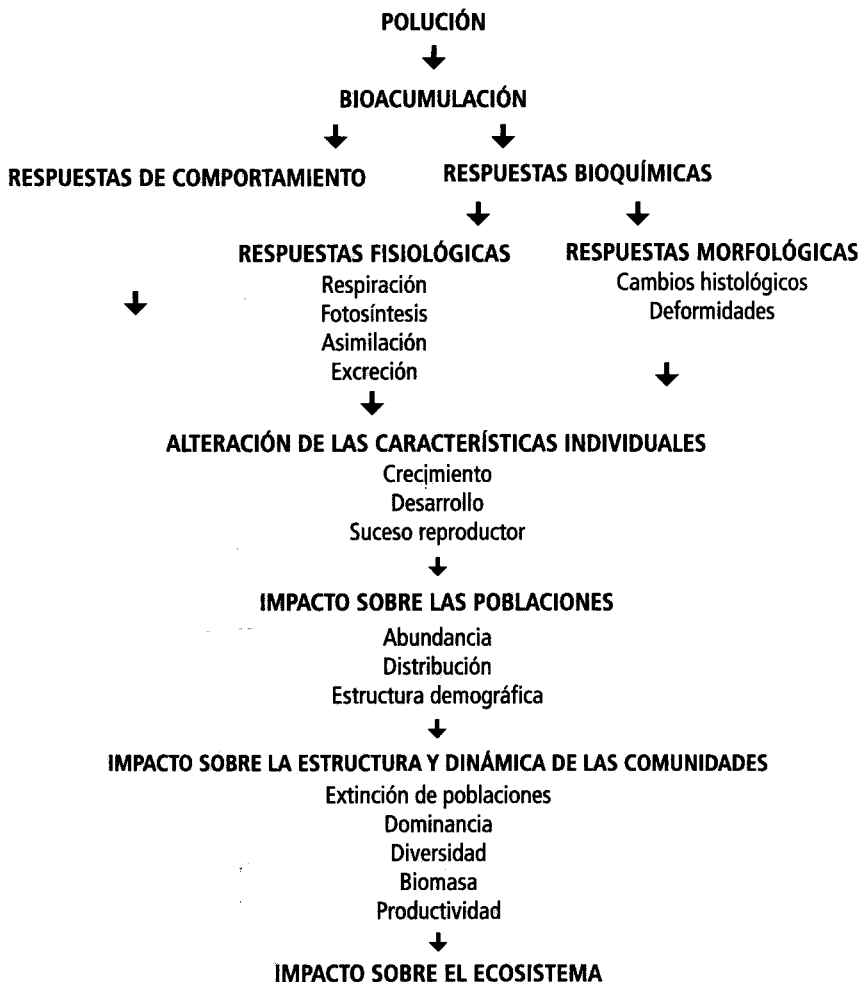


Fig. 3.3 ¿Qué se puede monitorizar

La biomonitorización provee información sobre dos funciones primarias:

- Para el control, evaluación y predicción de calamidades y accidentes que pueden dañar los ecosistemas naturales.
- Documentar a largo plazo sobre las tendencias hacia la preservación o la degradación de los ecosistemas. Por otro lado, sirve de gran ayuda en la integración de aspectos ecológicos, económicos y sociales importantes para la adecuada protección y explotación de los recursos naturales.

El interés de la biomonitorización biológica puede resumirse en los siguientes objetivos:

- Biomonitorización como base para el manejo de recursos biológicos para el desarrollo sostenible y la evaluación de recursos.
- Biomonitorización para el manejo y conservación efectiva de poblaciones y ecosistemas.
- Biomonitorización de usos de la tierra y paisajes para que se puedan combinar con objetivos de conservación.
- Biomonitorización de la calidad ambiental
- Biomonitorización como vía de avance en el conocimiento sobre la dinámica de poblaciones y de los ecosistemas.
- Biomonitorización de plagas, agrícolas y forestales, para poder establecer los más adecuados sistemas de control.

3.2.2. Principales características de un sistema de biomonitorización

Las principales características de un sistema biológico para la evaluación o el control ambiental son:

- Clara relación entre la característica biológica analizada (presencia, ausencia, abundancia, etc.) de la/s especie/s con la calidad del medio.
- Veracidad en la evaluación, expresada de manera simplificada y cuantificable.
- Que suministre una evaluación robusta y estable, relativa a la calidad ambiental
- Procedimiento operativo sencillo, es decir, toma de muestras, clasificación, identificación y procesamiento de datos sencilla y rápida.

Desde la perspectiva de la biomonitorización, y a nivel de especie, a partir de Phillis (1980) elaboramos cuales deben ser las principales características de un biomonitor:

- Amplia distribución geográfica.
- Razonablemente abundante, accesible y sedentario o de baja movilidad.
- Disponible todo el año y que aporte biomasa suficiente para análisis.
- Tolerante a las variaciones ambientales naturales y relativamente tolerante a la contaminación.
- Buena capacidad de bioacumulación neta.
- Correlaciones simples entre, por una parte, contenidos corporales o respuestas biológicas y, por otra, el grado de polución.
- Nula o baja y lenta capacidad de regulación corporal.
- Fácil muestreo e identificación.
- Fácil almacenamiento y conservación.
- Fácil manejo en laboratorio y campo.
- Vivaz varios años.
- Importante desde una perspectiva ecológica (sp clave) o económica (sp comercial).

BIBLIOGRAFÍA

PHILLIS, D.J.H. 1980. *Quantitative aquatic biological indicators*. Applied Science Publishers, London.

4. BIOINDICACIÓN DE LA CALIDAD DEL AIRE

4.1. TÉCNICAS DE BÚSQUEDA DE BIOINDICADORES ÓPTICOS

4.1.1. Utilidad y limitaciones en el empleo de bioindicadores

El hombre siempre ha empleado signos o indicios que permiten suponer algo con fundamento o poner de manifiesto algo que no es inmediatamente perceptible. Estos signos o indicios es lo que se conoce como indicadores. Un indicador sería algo que hace visible, audible o perceptible de alguna forma lo que en si mismo no es audible, visible o perceptible (Schroevers, 1983).

Como señala González Bernáldez (1981), el término indicador, en este sentido, sería equivalente al de síndrome empleado en medicina y nos permitiría suponer o conocer el estado y evolución de un sistema poco accesible a la observación (*criptosistema*) a partir de la presencia de rasgos del sistema (*fenosistema*) de percepción más directa, rápida o barata. El inducir la presencia de determinados componentes de un sistema una vez conocida la presencia de otros (signos o fenómenos objetivables) es posible gracias a la trama de relaciones y concatenaciones presentes en el sistema.

Los bioindicadores son organismos que mediante su presencia, ausencia, abundancia, o a través de alguna de sus características morfológicas, fisiológicas o de comportamiento, denotan ciertas características del medio en que se desarrollan. La monitorización biológica de tipo óptico consiste en el uso regular y sistemático de organismos para determinar la calidad del ambiente.

La indicación biológica es posible cuando la presencia o abundancia de organismos, el comportamiento, la forma, o la existencia de aspectos biológicos de varias clases están conectados causalmente, directa o indirectamente, con determinadas circunstancias ecológicas con la suficiente regularidad y claridad como para que esas circunstancias puedan conocerse a partir de las manifestaciones vitales usadas como indicadoras. Las circunstancias ecológicas pueden ser de naturaleza abiótica (calor, frío, humedad, toxicidad iónica, sequedad, etc.), pero también de naturaleza biótica (pastoreo, pisoteo, estercolado, etc.).

Utilidad de la bioindicación

Cuando la intensidad del factor o factores que se pretende apreciar se mide directamente con facilidad y fiabilidad, carece de interés práctico el empleo de indicadores. Así, no tendría mucho sentido estudiar la repartición de la salinidad de un estuario basándose en la distribución de los orga-

nismos, porque resultaría más sencillo averiguarla directamente por colorimetría o conductividad. Sin embargo, el empleo de indicadores puede ser necesario, recomendado o útil en distintas situaciones (Zonneveld, 1983):

1. Cuando se pretende poner de relieve procesos acumulativos originados por factores de fuerte fluctuación que no pueden ser medidos por una simple observación usando métodos físicos o químicos. En estas circunstancias el indicador puede representar una integración o archivo de las influencias discontinuas difíciles de captar (p.e. vertidos ocasionales de sustancias, propiedades climáticas, etc.).
2. Cuando los métodos físicos o químicos pueden consumir demasiado tiempo o ser demasiado costosos para repetirlos a menudo en el espacio y en el tiempo. Por ejemplo: gradientes y procesos en la vegetación y la fauna pueden ayudar a extrapolar un limitado número de medidas físico-químicas medidas en el espacio y tiempo. Como ejemplos podrían citarse determinadas propiedades del suelo o zonas climáticas.
3. Cuando la cantidad e intensidad del agente actuante puede ser tan baja que las valoraciones químicas y físicas son muy complejas y no lo suficientemente precisas.
4. Cuando la combinación de los efectos es más importante que la de los factores por separado. Esto es, el efecto total puede ser más intenso que la mera suma de todas las acciones por separado (sinergismo). Por ejemplo, la fertilidad del suelo es, en la mayoría de los casos, una reacción combinada de distintas propiedades del suelo (K, Mn, N, pH, textura, etc.), o el efecto de un cóctel de contaminantes puede ser significativo, aunque la concentración de cada uno de ellos no supere los niveles tolerables. Midiendo el efecto se consigue una imagen más real que midiendo algún pretendido agente en si mismo.
5. Cuando no se conoce con seguridad el factor responsable (operacional) de un determinado efecto y solo se tiene conocimiento de la existencia de una serie de circunstancias complejas o factores (factores condicionales) que no son los agentes reales o responsables del efecto, pero que están relacionados directa o indirectamente con el factor operacional real. En estas circunstancias, mediante la medida del efecto se consigue una imagen más realista que midiendo algún posible agente. Un ejemplo es la relación entre textura, estructura, fertilidad y la humedad del suelo tal y como es indicada por la vegetación.

6. Finalmente, una ultima razón por la que es aconsejable el empleo de la bioindicación se formula de la siguiente manera: "pregunta al propio paciente sobre cómo se siente".

Dos situaciones adicionales podrían añadirse a las señaladas por Zonneveld. La primera, cuando la observación o cuantificación del indicador es más sencilla que la del objeto indicado. En ocasiones la observación del objeto indicado puede ser imposible cuando, por ejemplo, se trata de un proceso del pasado (organismos o trazas de su actividad en sedimentos); la segunda, cuando interesa conocer cuales son los efectos, especialmente a largo plazo, sobre los ecosistemas. La monitorización química nos informa de lo que hay en el ambiente pero no nos dice cuales son sus efectos sobre los organismos y menos aún sobre los efectos a largo plazo en los ecosistemas.

Características de utilidad en la bioindicación

No sólo los organismos, con su presencia, abundancia, comportamiento, o con los procesos fisiológicos que manifiestan, son usados como indicadores. Cualquier soporte de vida, en orden de sucesivos niveles de integración: macro-moléculas, organelas, células, tejidos, órganos, organismos, poblaciones, comunidades, ecosistemas y biomas, pueden ser empleados como indicadores de determinadas circunstancias ambientales. Desde biomarcadores bioquímicos a complejas comunidades. Sin embargo, los niveles de integración más frecuentemente usados como bioindicadores son los organismos (taxones vegetales y animales) y las comunidades.

El organismo tiene la ventaja de reaccionar como un todo frente al factor ambiental objeto de la indicación. Además, una misma especie puede indicar diferentes condiciones ambientales por su abundancia y por su forma de crecimiento (fenotipos morfológicos; anillos de crecimiento, etc.).

Las comunidades, asociaciones de plantas y/o animales, presentan diversas ventajas: al usar más especies, la posible desviación local del comportamiento de una de las especies será menos relevante; la indicación será más precisa, incluso si la competencia y los fenómenos de sinergia no tuvieran influencia. Los grupos ecológicos, compuestos de especies con similar amplitud ecológica para ciertos factores ambientales, son un medio, razonablemente seguro para la indicación, porque aunque sobre cada sitio en concreto ciertas especies puedan estar ausentes debido a razones desconocidas, todavía las otras pueden emplearse en la indicación.

Las formas de vida, su distribución y frecuencia relativa, también son muy útiles en bioindicación (Fig. 4.1.). Las formas de vida son propiedades hereditarias que pueden interpretarse como adaptaciones genéticamente fijadas al ambiente. Existen sistemas de clasificación de formas de vida acuática y terrestre. El sistema de Raunkiaer, aplicado a la vegetación terrestre es el más conocido. Existen claves de clasificación de las formas biológicas muy elaboradas (incluyen características morfológicas, anatómicas, estructurales, fenológicas, etc.) que permiten realizar una buena tipificación del estado ambiental. Aunque muchas veces una simple relación de formas de vida, puede ser suficiente para caracterizar una determinada perturbación ambiental.

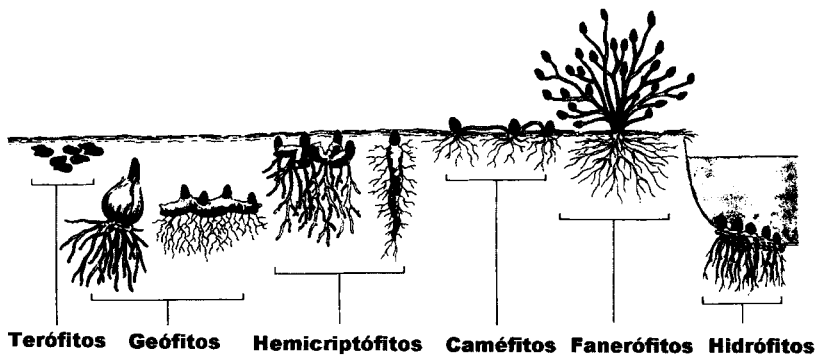


Fig. 4.1. Clasificación de las plantas según las formas de vida propuestas por Raunkiaer. Este sistema clasifica las plantas según cual sea la porción de sus tejidos que persisten y originan el crecimiento en la siguiente estación de crecimiento. Las proporciones de la flora que se incluyen en las distintas categorías varían de un clima a otro. Este sistema relaciona la morfología y ciclo vital de los vegetales con características climáticas (Modificado de Brewer, 1994).

Limitaciones al empleo de la bioindicación

El uso de los organismos como indicadores presenta ciertas restricciones que han sido sistematizadas (Zonneveld, 1983) y que se derivan de las siguientes leyes:

- Ley de Baas Becking-Beyerinck: «Todas las diásporas están en todos las partes, pero el ambiente las selecciona». Esta ley confirma el valor indicador de las presencias-ausencias de organismos, pero deja de lado las restricciones que impone la accesibilidad. Esta ley se aplica a organismos con muy ligeras y numerosas diásporas. Incluso en estos casos los sistemas de vientos causan diferencias en la accesibilidad. Para muchos organismos, barreras como cadenas montañosas y océanos dificultan el

transporte. Esto quiere decir que un organismo no aparece en muchos lugares donde están disponibles nichos adecuados para su instalación.

- Ley de amplitud fisiológica (potencial) y ecológica (real): La competencia determina también la ocurrencia de las especies. La ausencia de una planta en un lugar puede ser debido a que éste está ya ocupado por otra planta más fuerte, porque se instaló antes otra planta (quizás menos adecuada al sitio pero con la ventaja de que su estado de desarrollo le permite resistir la invasión de otras especies), o porque después de instalarse se vio desplazada por otra más fuerte. Como resultado de la competencia, las amplitudes fisiológicas y las ecológicas difieren.
- Ley de la constancia relativa del sitio: Se postuló por Walter (1973) para el fenómeno observado de que muchas plantas originarias de climas húmedos pueden aparecer sobre climas secos pero ocupando topoclimas locales húmedos. Es el ejemplo de las galerías de bosques en las sabanas ocupando los márgenes de los ríos. Estos bosque constituyen lo que se denomina vegetación azonal.

Otras limitaciones al empleo de bioindicadores:

- El complicado carácter de los factores ambientales, con sus interrelaciones, hace muy difícil determinar relaciones precisas entre especies y los factores operacionales reales. Esto es debido a que la capacidad de los organismos para responder a un particular estrés se ve afectada por otros factores ambientales como pueden ser el estado nutritivo, estrés hídrico, temperatura, etc. Por ejemplo, *Sambucus nigra* y *Fraxinus excelsior* reaccionan a nutrientes liberados por una rápida descomposición de materia orgánica (N y P, principalmente). Esto ocurre en áreas con aguas eutróficas de fuerte fluctuación y también sobre suelos ricos en cal, alejados de toda influencia de agua. En consecuencia estas especies se han considerado indicadoras de áreas con fluctuaciones en su capa de agua y también de terrenos calizos, cuando en realidad reaccionan al factor operacional que es la liberación de P y N, consecuencia de la rápida descomposición de la materia orgánica.
- El problema de la histeresis (retardo de un efecto tras la causa de ese efecto) y de la persistencia de huellas del pasado en el presente pueden ser causas de serios problemas en la detección de relaciones en los componentes de un sistema. Algunas plantas perennes pueden persistir durante mucho tiempo una vez cesadas las causas ambientales que influyeron en su instala-

ción. Esta persistencia puede ser muy grande en el caso de especies arbóreas relictas.

- En condiciones naturales los organismos son capaces de desarrollar tolerancia por recombinaciones genéticas a través de generaciones o por mutaciones. Ciertas plantas creciendo en la vecindad de áreas industriales se muestran más tolerantes al SO_2 que las que crecen en áreas no industriales.
- Cuando se emplean síntomas de daño en órganos o tejidos como indicadores de algún factor o proceso, hay que considerar que diferentes factores pueden provocar un mismo efecto, limitando así el uso de indicadores. Por ejemplo, la clorosis en zonas entre nervios puede ser debido a contaminación por SO_2 , deficiencia de Mg, etc.

4.1.2. Métodos para la detección de bioindicadores

4.1.2.1. Observaciones de campo: los catálogos fitoclimáticos

La experiencia y observación de campo ha permitido acumular conocimientos sobre el valor indicador de muchos organismos, sin necesidad de recurrir a sofisticados tratamientos de datos. De forma intuitiva, cazadores, pescadores y agricultores acostumbrados a una observación atenta de la naturaleza, emplean especies indicadoras de determinadas condiciones del medio, o bien a la inversa, condiciones del medio como indicadoras de la presencia de determinadas especies de interés.

Muchos naturalistas experimentados son capaces de leer o interpretar factores a partir de la observación de componentes del paisaje. Ellenberg (1979) formalizó este tipo de observaciones y publicó un catálogo en el que, basándose en la experiencia de numerosos ecólogos durante más de 40 años, se establecen los valores indicadores de más de 2000 plantas frente a variables del medio como la luz, temperatura, humedad, nitrógeno y acidez, en una escala de 1 a 9. Los valores indicadores de Ellenberg se han utilizado para estimar el valor de cualquiera de estos factores ambientales en un sitio particular, simplemente promediando los valores indicadores para este factor de todas las especies presentes en el sitio. Es también representativo de este tipo de estudios el trabajo de Duke (1976) en el que se recogen las amplitudes de un número de especies, a escala mundial, con respecto a las precipitaciones y a las temperaturas medias anuales. Estos catálogos son razonablemente válidos dentro del ámbito local para el que han sido desarrollados.

4.2.1.2. Relaciones numéricas sencillas

El empleo de este método requiere múltiples observaciones simultáneas del factor, propiedad o proceso indicado (objeto indicado) y del objeto indicador (bioindicador). Estas observaciones se suelen disponer en forma de tabla, tal y como se indica:

		Bioindicador	
		Presencia (+)	Ausencia (-)
Objeto indicado	Presencia (+)	a	b
	Ausencia (-)	c	d

A partir de los datos de esta tabla pueden calcularse relaciones sencillas que expresan las relaciones entre el bioindicador y el objeto indicado:

1. **COEFICIENTE DE CERTEZA** ($CC = a/c$): es la relación que existe entre el número de muestras en las que coincide el objeto y el bioindicador (a) y el número de muestras en el que aparece el bioindicador pero no el objeto (c). Se ha propuesto la siguiente escala:

Escala de Certeza en la Indicación			
Coincidencias con el objeto indicado	No coincidentes con el objeto indicado	Índice de certeza	Grado de certeza
Porcentaje del total de muestras			
100	0	∞	Indicador absoluto
> 90	< 10	> 9	Indicador cierto
De 75 a 90	De 10 a 25	3 – 9	Indicador confiable
De 60 a 75	De 25 a 40	1.5 – 3	Indicador dudoso
Menos de 60	Mas de 40	< 1.5	Ausencia de indicación

Ejemplo: 100 parcelas con un tipo de césped determinado, 95 mostraron la capa de agua freática a una profundidad entre 1 y 5 metros. $CC = a / c = 95 / 5 = 19$, Indicador cierto

2. **COEFICIENTE DE IMPORTANCIA** ($CI = a/a + b$): llamado también constancia, representa la frecuencia de encuentros de un bioindicador dado con el objeto de indicación en los límites de una determinada zona. Esto es, la relación, expresada en porcentaje, entre el número de muestras en las que coincide el objeto indicado y el bioindicador (a) y el número total de muestras en las que aparece el objeto (a + b). Se ha propuesto la siguiente escala:

Frecuencia de coincidencias con el objeto indicado	Grado	Denominación
90 – 100	I	Muy grande
75 – 90	II	Grande
50 – 75	III	Normal
10 – 50	IV	Escaso
1 – 10	V	Muy escaso

3. FIDELIDAD ($a/a+c$): expresa en términos probabilísticos la probabilidad de encontrar el objeto indicado en el conjunto de estaciones o localidades que contienen a la especie.

4. COEFICIENTES DE ASOCIACIÓN: Concebidos originalmente para expresar la similitud de listados o inventarios de vegetación, pueden emplearse para valorar el grado de asociación entre un bioindicador y su objeto indicado. Estos índices varían entre 0 y 1 y valores mayores a 0.75 permiten suponer un buen grado de asociación entre el indicador y el objeto de indicación. Dos índices muy utilizados son los de Jaccard y el de Sørensen, que se expresan como:

$$S_j = \frac{a}{a+b+c} \quad S_s = \frac{2a}{2a+b+c}$$

Donde:

S_j = Coeficiente de Jaccard

S_s = Coeficiente de Sørensen

a = presencias comunes (objeto indicado y bioindicador)

b = presencias del objeto indicado en ausencia del bioindicador

c = presencias del bioindicador en ausencia del objeto indicado

Ninguna de las relaciones numéricas anteriores considera el término “d” de la primera tabla, que corresponde a muestras en las que no aparece ni el bioindicador ni el objeto indicado. Esto puede traer riesgo de errores, por lo que no son métodos muy recomendables. El término “d” se obtiene al realizar muestreos al azar sobre un territorio, en lugar de considerar sólo muestras donde está presente el bioindicador o el objeto indicado.

4.2.1.3. Métodos estadísticos tradicionales

En ocasiones, las relaciones de indicación son muy sutiles y es preciso utilizar métodos más refinados que los vistos hasta ahora para poner de

manifiesto la afinidad, indiferencia, o rechazo con respecto a la mayor cantidad de factores u objetos de indicación posibles.

EMPLEO DEL ESTADÍSTICO T DE STUDENT. Imaginemos que la especie *Erica australis* aparece en 15 de los 35 inventarios realizados en una determinada zona. Para conocer la preferencia eventual de esta especie por una clase o zona particular de temperaturas, se comparó la distribución de los valores de temperaturas de las muestras donde la especie estaba presente con la distribución de los valores de temperatura en donde la especie estaba ausente,

	Media (x)	Varianza (s ²)	N
a. parcelas con presencia de <i>E. australis</i> :	5.78	0.08	15
b. parcelas con ausencia de <i>E. australis</i> :	6.11	0.12	20

$$t = \frac{|\bar{X}_1 - \bar{X}_2|}{\sqrt{V(1/n_1 + 1/n_2)}}$$

Hipótesis nula (Ho): no hay diferencias en las medias de los dos grupos de parcelas.

V= Varianza total (para $n_1, n_2 < 30$) =

$$V = \frac{(n_1 - 1)s_1^2 + (n_2 - 1)s_2^2}{n_1 + n_2 - 2} = 0.1030$$

$$t = 3.010 > 2.035 (t_{0.05, 33})$$

Puesto que el valor del estadístico t calculado es mayor que el tabulado para un $\alpha = 0.05$ y 33 grados de libertad (15+20-2), rechazamos la hipótesis Ho. Las diferencias entre los dos grupos de parcelas son significativas al 95% y puede admitirse una cierta preferencia de *E. australis* por las temperaturas más bajas.

ESTADÍSTICO CHI-CUADRADO (χ^2). Este estadístico nos permite calcular el grado de asociación entre un bioindicador y un determinado factor u objeto indicado. Si el estadístico muestra una asociación positiva esto nos indica que la especie y el factor aparecen más veces juntos de lo que se esperaría por azar. En orden a su cálculo, los datos de presencia-ausencia de la especie en presencia-ausencia del factor a indicar deben disponerse en forma de una tabla de contingencia de 2 x 2.

Ejemplo: De un total de 100 parcelas localizadas al azar, en 60 se presentaba una determinada especie de planta cuyo valor indicador frente a un cierto factor se quiere determinar. De las 60 presencias, 48 coincidían con el factor a indicar. Este se presentaba en 55 muestras. Queremos saber si la distribución de la planta y el factor son o no independientes. Para ello calcularemos un χ^2 partiendo de la siguiente tabla de contingencia:

		Especie		
		Presencia (+)	Ausencia (-)	
Factor	Presencia (+)	48 / 33	7 / 22	55
	Ausencia (-)	12 / 27	33 / 18	45
		60	40	100

En negrita y cursiva las frecuencias esperadas

Las frecuencias esperadas se obtienen como se indica. Por ejemplo, para la primera celda (a), presencia de la especie indicadora y presencia del factor la frecuencia esperada se calcula como el producto de dos probabilidades, la probabilidad de que la especie esté presente en el conjunto de datos (60/100) y la probabilidad de que ocurra el factor en el conjunto de datos (55/100). Esto es, $(60 \cdot 55) / 100 = 33$. El proceso es similar para el cálculo de las frecuencias esperadas en las otras celdas.

El estadístico chi-cuadrado compara la magnitud de las diferencias entre las frecuencias observadas y las esperadas bajo la hipótesis de que no exista una asociación entre la especie y el factor.

Si frec. obs. / frec. esp. $>> 1 \Rightarrow$ ligazón positiva

Si frec. obs. / frec. esp. $<< 1 \Rightarrow$ ligazón negativa

Si frec. obs. / frec. esp. $= 1 \Rightarrow$ indiferente

$$\sum_{i=1}^n \frac{(|obs - esp| - 1/2)^2}{esp.} \quad \left| \begin{array}{l} \text{Corrección de Yates para pequeñas muestras} \end{array} \right. = 35.396$$

$\chi^2_{(0.05, 1)} = 3.841$, puesto que el valor encontrado de χ^2 es mayor que el tabulado, las diferencias entre las frecuencias observadas y esperadas son significativas, lo que significa que la distribución de la especie depende del factor.

ESTADÍSTICO RAZÓN DE VEROSIMILITUDES (G): Se ha empleado con similares propósitos que el chi-cuadrado de Pearson. La expresión para su cálculo es la siguiente:

$$G^2 = 2 \sum \sum n_{ij} \log \left[\frac{n_{ij}}{e_{ij}} \right]$$

Donde: n_{ij} son las frecuencias observadas y e_{ij} las frecuencias esperadas bajo la hipótesis de independencia. Para tamaño de muestra grandes, este estadístico sigue una distribución χ^2 , con $(I-1)(J-1)$ grados de libertad, siendo i , el número de filas y j , el número de columnas. Un ejemplo de la aplicación de este estadístico puede verse en Ezcurra y Montaña (1984).

4.2.1.4. Análisis directo de gradientes ambientales

Estas técnicas se desarrollaron fundamentalmente a partir de los trabajos de Whittaker (1956) y Ellenberg (1954), quienes propusieron los primeros modelos de respuestas de especies a gradientes ecológicos. Por gradiente ambiental entendemos el progresivo cambio en los valores de una

variable ambiental. Generalmente, la presencia, abundancia y muchas características morfológicas y fisiológicas de las especies varían a lo largo de estos gradientes ambientales. Esto hizo pensar en la existencia de estrechas relaciones entre las especies y algunos factores ambientales. La base de estas técnicas es que los factores ambientales, especialmente los físicos, son usualmente continuos (entre dos valores cualesquiera siempre es posible imaginar más valores) y a menudo los organismos se distribuyen a lo largo de los gradientes ambientales originados por los citados factores.

El empleo de estas técnicas exige la disponibilidad de dos series de datos: los de ocurrencia, abundancia o cualquier otra medida de la importancia de una especie en una serie de sitios ordenados a lo largo de un gradiente ambiental, y los de una serie de variables ambientales medidas en esos mismos sitios.

Uno de los aspectos más interesantes de estas técnicas es la medida de la intensidad o grado de asociación entre especies y factores ambientales. Este aspecto puede abordarse por diferentes métodos. En las técnicas de regresión, las relaciones entre dos variables se fundamentan en modelos de respuesta, es decir, en la forma en como una variable (y) denominada dependiente, responde a las variaciones que experimenta otra variable (x) denominada independiente. El método de análisis frecuencial de la ecología de las especies en las comunidades (Daget y Godron, 1982) se basa en el concepto de *perfil ecológico*, término que designa la serie ordenada de frecuencias absolutas o relativas de las presencias de una especie en la serie de clases de una variable o de un descriptor ambiental (altitud, distancia al mar, profundidad, índice de sitio, clima, grado de perturbación, etc.). Estos perfiles traducen cuantitativamente el tipo de relación existente entre una especie y una variable ambiental; por tanto, analizados por métodos adecuados, permitirán determinar la existencia de una ligazón estadística entre la especie y la variable.

Técnicas de ordenación multivariantes.

Los llamados *promedios ponderados* pueden utilizarse para estimar valores indicadores de las especies a lo largo de gradientes ambientales. El método consiste en hacer el promedio de los valores de la variable ambiental de interés en el conjunto de localidades en las que está presente la especie cuyo valor indicador se quiere conocer.

Este promedio puede ponderarse por la abundancia de la especie o bien considerar únicamente los datos de presencia-ausencia de la especie. Supongamos que se desea conocer el valor indicador de una especie k respecto a los valores de temperaturas mínimas en una serie de localidades. El promedio ponderado se calcularía como sigue:

$$u_k = \sum_{i=1}^n y_{ik} x_i / y_{+k}$$

Donde

u_k es el promedio ponderado de la especie k , x_i el valor de la temperatura mínima de la localidad i (de un conjunto de n localidades), y_{ik} es el valor de abundancia de la especie k en la localidad i , e y_{+k} es la abundancia total de la especie k .

Los promedios ponderados son la base de una técnica de ordenación multivariante muy utilizada (Hill, 1973) y se aplican también en la técnica actualmente más empleada, el Análisis de Correspondencias Canónicas (Ter Braak, 1986) para indicar la posición de la distribución de una especie a lo largo de un gradiente ambiental, lo que permite ordenar las especies por sus promedios ponderados respecto a una variable ambiental (Fig. 4.2.).

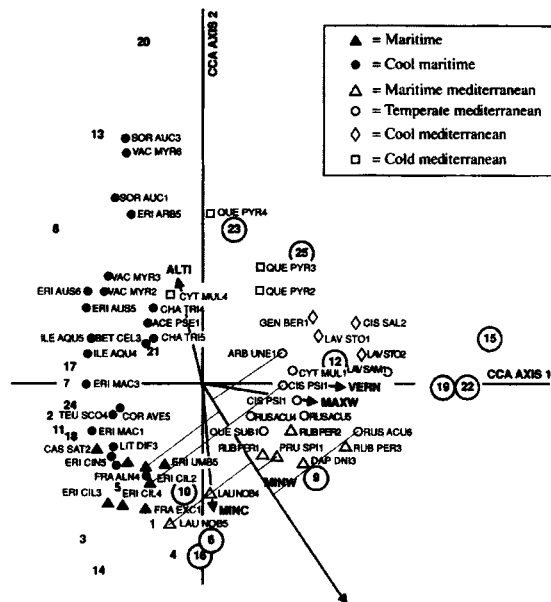


Fig. 4.2. Ordenación de plantas indicadoras del clima sobre un plano obtenido por análisis de correspondencias canónicas. Los ejes que definen el plano representan gradientes climáticos y las flechas variables climáticas. La proyección de las especies sobre las líneas que simbolizan las variables representan la preferencia de la especie por un determinado valor de la variable, estimada como un promedio ponderado (Modificado de Retuerto y Carballeira, 1991).

Las técnicas de regresión

En la terminología de la regresión, la presencia o abundancia de una especie es la variable respuesta mientras que la variable ambiental es la variable explicatoria. Muchas de las relaciones entre especies y variables cuantitativas ambientales son generalmente no lineales, siendo, a menudo, la abundancia de las especies o su probabilidad de ocurrencia una función unimodal de la variable ambiental. Al menos, desde la formulación de la ley de la tolerancia de Shelford se acepta que la ley de Gauss es la base de muchas curvas ecológicas y de ahí que la curva gaussiana se popularizara como un atractivo y sencillo modelo para describir las relaciones entre especies y variables ambientales. Los datos de presencia-abundancia de las especies pueden ajustarse a curvas gaussianas usando regresiones logísticas. Las curvas logradas para cada especie pueden ser convenientemente resumidas por dos parámetros, el valor indicador y la amplitud ecológica. Los valores indicadores pueden subsecuentemente usarse para predecir los valores de una variable ambiental a partir de la composición de las especies, simplemente promediando los valores indicadores de las especies presentes.

La curva de respuesta gaussiana (Fig. 4.3. y 4.4.) tiene la forma:

$$Z = c \exp \{-0.5 (x - u)^2 / t^2\}$$

Donde:

z = el valor original de la abundancia de una especie

c = la máxima abundancia de la especie

u = el óptimo (el valor de x que proporciona la máxima abundancia)

t = la tolerancia (una medida de la amplitud ecológica)

El ajustar los datos de abundancia a una curva gaussiana es lo mismo que ajustar una parábola a los datos de abundancia transformados logarítmicamente. Esto permite plantear la siguiente igualdad:

$$\ln z = \ln(c) - 0.5 (x - u)^2 / t^2 = b_0 + b_1 x + b_2 x^2$$

Los parámetros b_0 , b_1 , y b_2 pueden estimarse fácilmente utilizando regresiones logísticas disponibles en muchos programas estándar de análisis de datos y a partir de ellos obtener parámetros interpretables como:

$$\text{Óptimo: } u = -b_1 / 2b_2$$

$$\text{Tolerancia: } t = 1 / (-2b_2)^{0.5}$$

$$\text{Máximo: } c = 1 / \{1 + \exp(-b_0 - b_1 u - b_2 u^2)\}$$

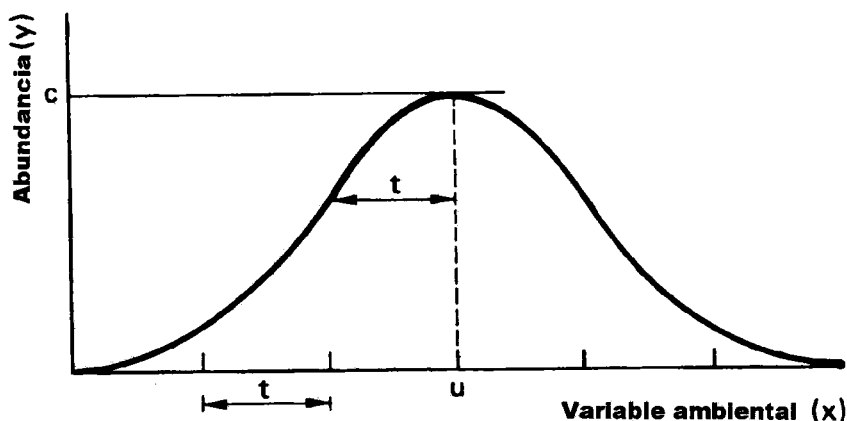


Fig. 4.3. Curva de respuesta gaussiana para el valor de abundancia de una especie (y) respecto a una variable ambiental (x). (u = óptimo o moda; t = tolerancia; c = máximo).

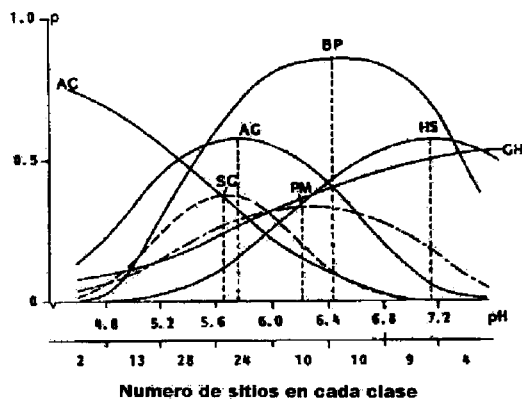


Fig. 4.4. Ajustes obtenidos por regresiones logísticas de la probabilidad de ocurrencia de siete especies en relación a la acidez del suelo (pH). El óptimo para cada especie está representado por la línea discontinua. (Modificado de Ter Braak, 1987).

El método de perfiles ecológicos

Existen varios tipos de perfiles:

- **PERFIL DE CONJUNTO:** expresa el número de inventarios realizados en cada una de las clases del factor.
- **PERFIL DE FRECUENCIAS ABSOLUTAS:** expresa el número de presencias o ausencias de una especie en las diferentes clases del factor.
- **PERFIL DE FRECUENCIAS RELATIVAS:** expresa, en porcentaje, el número de inventarios que contienen a la especie. Es una ponderación clase por clase del perfil de frecuencias absolutas por el perfil de conjunto.

- **PERFIL DE FRECUENCIAS CORREGIDAS:** Corrige las desviaciones entre los perfiles de especies raras y los de especies frecuentes, al considerar la frecuencia de cada especie en el conjunto de los inventarios. Se obtienen al dividir las frecuencias relativas en cada clase por la frecuencia relativa media de la especie en el conjunto de inventarios.

Ejemplo:

Gradiente ambiental									
Clases del Factor	1	2	3	4	5	6	7	8	Total
P. Conjunto	2	9	13	15	12	2	7	5	65
Frec. Abs.	0	0	1	0	4	1	6	2	14
Frec. Rel.	0	0	0.08	0	0.33	0.5	0.86	0.40	
Frec. Corr.	0	0	0.37	0	1.5	2.3	4	1.9	

Los valores de frecuencias corregidas inferiores a la unidad son indicativos de que la clase del factor perjudica o inhibe a la especie, mientras que los valores superiores son indicadores de lo contrario, puesto que nos dicen que la frecuencia relativa de la especie en una clase particular es mayor que la frecuencia relativa media de la especie en el conjunto del perfil.

La agrupación de la información en clases permite la utilización de variables multiestado y perfiles y también de test de significación estadística a la hora de medir la intensidad o grado de ligazón entre un factor y un objeto indicador.

Ejemplo:

Gradiente ambiental						
Clases	1	2	3	4	5	Total
P. Conjunto	5	7	8	6	8	34
Frec. Obs.	0	0	3	4	7	14
Frec. Esp.	2.06	2.88	3.3	2.47	3.3	

Las frecuencias esperadas, bajo la hipótesis de que la especie no tuviera preferencia por ninguna clase del factor, se obtendrían al multiplicar la frecuencia relativa media de la especie en el conjunto del perfil ($14/34$) por el número de inventarios realizados en cada una de las clases del factor. Así, para la clase 1 sería $(14/34) \times 5 = 2.06$.

La desviación de las frecuencias observadas respecto a las esperadas, bajo la hipótesis de la equidistribución o uniformidad, puede calcularse para toda la serie de datos, esto es, para el conjunto del perfil ecológico, o para cada clase del factor en particular, como se muestra en el ejemplo.

Para ver la magnitud de las diferencias entre frecuencias observadas y esperadas, clase a clase del factor, emplearemos un test de chi-cuadrado:

Para la clase 1:

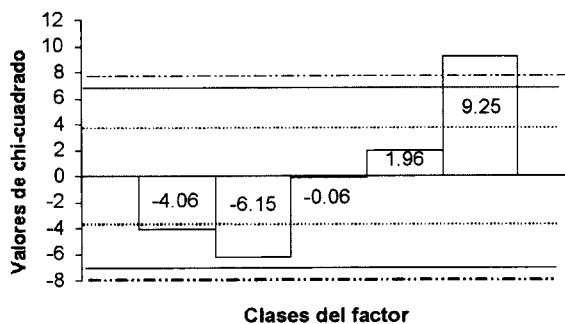
Factor		Especie		
		Presencia (+)	Ausencia (-)	
	Presencia (+)	0 / 2.05	5 / 2.95	5
	Ausencia (-)	14 / 11.95	15 / 17.05	29
		14	20	34

En negrita y cursiva las frecuencias esperadas

$$\chi^2 = \frac{(0 - 2.05)^2}{2.05} + \frac{(5 - 2.95)^2}{2.95} + \frac{(14 - 11.95)^2}{11.95} + \frac{(15 - 17.05)^2}{17.05} = 4.06$$

Para clase 2: $\chi^2=6.15$; clase 3: $\chi^2= 0.06$; clase 4: $\chi^2= 1.96$; clase5: $\chi^2= 9.24$.

Estos valores encontrados pueden representarse gráficamente junto con los valores de χ^2 tabulados para los distintos niveles de significación y un grado de libertad (n° filas - 1 x n° columnas - 1).



Las líneas horizontales muestran los valores de chi-cuadrado que deben ser excedidos para que las diferencias entre las frecuencias observadas y esperadas en cada clase resulten significativas a diferentes niveles de significación (3.84, 6.63 y 7.88 para valores de α de 0.05, 0.01 y 0.001, respectivamente).

La desviación de las frecuencias observadas respecto a las esperadas bajo la hipótesis de la equidistribución o uniformidad puede calcularse para toda la serie de datos, esto es, para el conjunto del perfil ecológico, o para cada clase del factor en particular, como se muestra en el ejemplo.

El estadístico chi-cuadrado tiene unas condiciones de empleo restrictivas. Por ejemplo, no se recomienda su empleo cuando las frecuencias esperadas son menores de cinco. Otros autores consideran, sin embargo, que esta prueba es suficientemente precisa siempre que las frecuencias esperadas sean al menos iguales a 1 y no más del 20% de las frecuencias esperadas sean menores que 5. En el caso de no cumplirse estas condiciones puede optarse

por agrupar algunas de las categorías en una única. Si aún así no se cumplen las condiciones requeridas, pueden reordenarse los datos en una tabla de 2 x 2 y analizarlos mediante el empleo del test de Fisher (Zar, 1984). En la Tabla 4.1. puede verse un ejemplo de la caracterización climática de plantas indicadoras para la temperatura media de las mínimas del mes más frío, empleando el test de Fisher.

Preferencia ecológica y valor indicador de un perfil.

Un factor multiestado puede considerarse como un conjunto de puntos (clases) a lo largo de un eje. A cada punto se le asocia una masa (índice de frecuencia). Tenemos así un perfil que puede resumirse por medio de un solo número, el baricentro o centro de gravedad del perfil. Este parámetro se calcula a partir de la fórmula:

$$g = \frac{\sum mi di}{\sum mi}$$

Donde mi = índice de frecuencia y di = el número de clase.

El parámetro g se considera una medida de la preferencia ecológica de una especie con respecto a un factor, concepto que se corresponde con el de óptimo ecológico.

Ejemplo: Consideremos los perfiles respecto a la precipitación anual de tres especies:

— → Gradiente de Precipitación → +

Clases	1	2	3	4	5	6
Especie A	56	108	156	208	169	0
Especie B	122	103	58	23	76	152
Especie C	92	111	0	0	0	999

El baricentro de la especie A se calcula según la fórmula como:

$$g(A) = \frac{(1 * 56) + (108 * 2) + (156 * 3) + (208 * 4) + (169 * 5) + (0 * 6)}{56 + 108 + 156 + 208 + 169 + 0} = 3.46$$

Para las especies B y C sus baricentros son 3.53 y 5.25, respectivamente.

Tabla 4.1. Resultados del test exacto de Fisher para las clases de la temperatura media de las mínimas del mes más frío en Galicia, así como los estadísticos de dispersión (radios de giro, R_g) y posición (baricentros, g) (Retuerto, 1989). El número que aparece junto al nombre específico indica el nivel de abundancia de la especie. Los signos para el test de Fisher indican una probabilidad de presencia de la especie superior (+) o inferior (-) a la esperada bajo la hipótesis nula de equidistribución (++++, ---- : $P \leq 0.001$; +++, --- : $P \leq 0.01$; ++, -- : $P \leq 0.05$; +, - : $P \leq 0.1$). Clases para la temperatura media de las mínimas del mes más frío son las que siguen: 1 (-3.9 - 0.5), 2 (0.6 - 2.0), 3 (2.1 - 3.7), 4 (3.8 - 5.3), 5 (5.4 - 7.7).

	P para el test exacto de Fisher					Estadísticos para los perfiles de frecuencia	
	Clases del factor						
	1	2	3	4	5	Rg	g
Cytisus multiflorus 4	++++					0.00	1.00
Sorbus aucuparia 3	+					0.47	1.33
Vaccinium myrtillus 6	+					0.47	1.33
Quercus pyrenaica 4	++					0.80	1.40
Sorbus aucuparia 1						0.50	1.50
Erica arborea 5	++					0.80	1.60
Quercus pyrenaica 2	++					1.04	1.90
Erica arborea 4	++					1.12	2.00
Ilex aquifolium 5						0.71	2.00
Lavandula stoechas 1						1.10	2.00
Quercus pyrenaica 1	++				---	1.10	2.15
Vaccinium myrtillus 2						0.94	2.14
Cistus salvifolius 2						1.09	2.25
Erica australis 5						0.83	2.25
Calluna vulgaris 5						1.03	2.29
Erica australis 1	+				---	1.12	2.27
Ilex aquifolium 4						0.96	2.43
Cistus salvifolius 4		+				0.94	2.67
Arbutus unedo 3		+				0.96	2.67
Castanea sativa 2			+			0.47	2.67
Erica scoparia (4-6)		+				0.94	2.67
Lavandula stoechas 5		+				0.94	2.67
Phyllirea angustifolia 4		+				0.94	2.67
Pistacia terebinthus 3		+				0.94	2.67
Quercus ilex 4		+				0.94	2.67
Castanea sativa 4						1.00	3.00
Corylus avellana 5						1.1	3.00
Frangula alnus 4				++		1.05	3.57
Ulex europaeus 7		--				1.04	3.58
Fraxinus excelsior 1				+		0.94	3.67
Laurus nobilis 1	---		++			0.97	3.77
Erica ciliaris 2		--			+++	4.04	4.00
Laurus nobilis 4						0.82	4.00
Ruscus aculeatus 6						0.82	4.00

Tabla 4.1

El primer perfil es unimodal y permite concluir una determinada precipitación anual. El segundo y tercero, son bimodales y no permiten extraer conclusiones, a partir de la presencia de la especie, sobre un determinado carácter del medio. Esto hace necesario un segundo valor que permita evaluar la dispersión de los índices de frecuencia alrededor del baricentro. Así, se define otro parámetro que caracteriza el valor indicador, el *radio de giro*. Se calcula como:

$$Rg = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n m_i (di - g)^2}{\sum_{i=1}^n m_i}}$$

Este segundo valor nos permitirá caracterizar el medio a partir de las especies y la caracterización del medio será tanto mejor cuanto más concentrado se encuentre el perfil alrededor de su baricentro. Los valores que se hallan para las especies A, B y C del ejemplo son 1.23, 2.00 y 1.68, respectivamente. La especie A es la que presenta un perfil más concentrado alrededor del baricentro (de ahí su menor radio de giro) por lo que puede considerarse mejor indicadora que B y C para el factor. Si las frecuencias estuvieran uniformemente distribuidas en las n clases del factor, la especie sería indiferente al factor y su baricentro y radio de giro se dirían uniformes:

$$g \text{ (uniforme)} = \frac{n+1}{2} \quad Rg \text{ (uniforme)} = \sqrt{\frac{n^2 - 1}{12}}$$

Las especies cuyo radio de giro sea mayor que el radio de giro uniforme son indiferentes al factor. En el ejemplo considerado el baricentro uniforme sería 3.5, mientras que el radio de giro uniforme sería 1.71. Según esto, la especie B sería claramente indiferente al factor, mientras que la A se consideraría indicadora del factor. La especie C se encuentra próxima a la indiferencia.

4.2. ESPECIES BIOINDICADORAS DE LA CALIDAD DEL AIRE

4.2.1. Hongos

Muchos trabajos demuestran la sensibilidad de los hongos a los contaminantes atmosféricos, en particular al anhídrido sulfuroso, al ozono y la lluvia ácida. Los principales efectos de los contaminantes son:

- Efectos sobre la germinación de propágulos reproductores. Los primeros estudios, años 60, acerca del efecto del SO_2 y el O_3 sobre la germinación de los propágulos fúngicos se relacionan con el tratamiento de la fruta, en particular de la uva, para prolongar su conservación. Se comprobó que, en general, el ozono es mucho más inhibidor de la germinación de propágulos que el SO_2 y de manera más específica.
- Efectos sobre las micocenosis del filoaplano. Un buen número de estudios ponen en evidencia que los hongos del filoaplano, especialmente las levaduras de la familia *Sporobolomycetaceae*, son sensibles a los contaminantes. Fumigaciones *in vitro* con SO_2 ponen en evidencia la diferente sensibilidad de los hongos, reduciendo la germinación del conidio y el alargamiento del túbulo germinativo de *Verticillum lecanii* y *Cladosporium herbarum*.
- Efectos sobre las micocenosis de la hojarasca y del suelo. Se ha observado, en suelos podsólicos sometidos a deposiciones ácidas simuladas, una reducción significativa de los componentes, de la biomasa y de la producción fúngica. Esta reducción del crecimiento hifal se relaciona con el lavado de nutrientes y el aumento de la concentración de metales, como aluminio, cadmio y níquel.
- La hojarasca hospeda un gran número de especies saprofitas, responsables de la producción del humus, de tal forma que en suelos forestales se comprobó como la contaminación atmosférica favorecía el acumulo de la materia orgánica en descomposición por inhibición de los agentes responsables, proceso fundamental en el reciclado de nutrientes.
- Efectos directos e indirectos sobre interacciones poblacionales (simbiosis, hospedador–parásito). La presencia de contaminantes puede alterar la funcionalidad de la simbiosis micorriza – árbol. La alteración de estas relaciones puede provocar efectos indirectos indeseables. Por ejemplo, la muerte de un líquen por inhibición del hongo asociado debido a la acidificación del terreno.

- La penetración de hongos patógenos (endoparásitos) es favorecida cuando se daña la epidermis foliar, por ejemplo por variación de pH, o por la alteración del funcionamiento de los estomas.

Sin embargo, los protocolos desde la perspectiva de la biomonitorización no están bien desarrollados y aún es necesario realizar estudios básicos.

4.2.2. Líquenes

Desde la perspectiva de la bioindicación óptica de la calidad del aire, los líquenes ocupan sin lugar a dudas el primer puesto; son los bioindicadores equivalentes a los macroinvertebrados en medios acuáticos continentales. Los líquenes son organismos formados por un hongo y un alga, que en simbiosis, constituyen una unidad fisiológica. El alga es autótrofa y fotosintetiza materia orgánica para sí misma y para el hongo. El hongo, por su parte, da cobijo al alga y le crea un medio húmedo para su supervivencia.

Las algas pueden ser verdes (*Chlorophyceae*) o verde-azuladas (*Cyanophyceae* o *Cianobacterias*). En este último caso, además de fotosintetizadoras, las algas pueden ser fijadoras del N_2 atmosférico.

La simbiosis alga-hongo es muy frágil, de tal forma que si las condiciones de equilibrio se rompen por cualquier motivo, el alga, el simbiote menos especializado —en realidad está próximo a sus límites de supervivencia— se morirá y desaparecerá el líquen. De ahí la gran sensibilidad de los líquenes frente a los cambios de las condiciones ambientales.

Otras características que explican la sensibilidad de los líquenes a la contaminación son (Ederra, 1996):

- El menor contenido clorofílico específico hace que la tasa fotosintética sea reducida —también lo es el metabolismo en general— lo que limita su capacidad de regeneración frente a un daño. No tienen estomas, por lo que todo el intercambio de gases se hace por toda la superficie, sin mecanismos de regulación.
- No tienen raíces ni estructuras capaces de absorber nutrientes y agua del sustrato por lo que tienen que tomar todas las sustancias directamente del aire, tanto por deposición húmeda como seca.
- No tienen cutícula por lo que los contaminantes pueden entrar por el talo con facilidad.
- No pueden regular su contenido de agua (poiquilohídricas), dependiendo su metabolismo por completo de la humedad atmosférica.

- Tienen capacidad de almacenar muchos tipos de sustancias y como no disponen de mecanismos de excreción tienden a bioacumularlos.

Los efectos de los contaminantes sobre los líquenes pueden ser de diferente naturaleza: alteraciones morfológicas, anatómicas y ultraestructurales; cambios fisiológicos; cambios de pH y pérdidas de nutrientes; y cambios de comportamiento.

Algunos factores influyen de manera general (*supuesta bioindicación*) en la sensibilidad o resistencia de los líquenes a la contaminación. Así, las especies neutrófilas, y con bajo requerimiento de agua son más resistentes que las especies acidófilas, con alta demanda hídrica, que suelen ser poco tolerantes. Cuanto más alto sea el pH del sustrato donde viven (saxícolas=roca, epífitos=corteza) más resistencia a contaminantes, sobre todo frente a ácidos, como SO_4^- , por ser mayor la capacidad de neutralización. Por ello, los epífitos suelen ser más sensibles que los saxícolas. En general, a mayor temperatura mayor tolerancia. En países fríos a igual dosis de contaminantes los efectos son más agudos que en los templados o cálidos.

La morfología condiciona la sensibilidad: talos pulverulentos (leprosos) < talos crustáceos < talos foliáceos < talos fruticulosos. La explicación general consiste en que al aumentar la relación superficie/volumen, aumenta la carga específica de contaminantes.

El SO_2 es, probablemente, el contaminante atmosférico que más se ha estudiado relacionándolo con los líquenes. Los límites de tolerancia varían con cada especie de tal forma que se ha utilizado su presencia selectiva para marcar el límite de contenido de SO_2 en el aire. Así:

Especie	Límite superior probable($\mu\text{g SO}_2/\text{m}^3$)
ninguna	>170
<i>Lecanora conizaecoides</i>	150
<i>Xanthoria parietina</i>	70
<i>Ramalina farinacea</i>	60
<i>Anaptychia ciliaris</i>	40
<i>Ramalina fraxinea</i>	30
<i>Lobaria amplisima</i>	20

Es necesario recalcar que en cada región se deben calibrar sus bioindicadores, pues las condiciones ambientales pueden variar la indicación. También hay que tener en cuenta que la tolerancia de un líquen varía según la época del año y para ello los límites de tolerancia deben referirse no a la media anual sino por estaciones astronómicas.

Dada la diferente sensibilidad de los líquenes frente a los contaminantes para evaluar la pureza del aire se han desarrollado varios índices cuantitativos: Índice de Polutotolerancia (IP), Índice Revisado de Continuidad Ecológica (RIEC), Índice de Pureza Atmosférica (IPA), etc.

Para calcular el IPA, el índice liquénico más utilizado, se examinan una serie de árboles en los lugares que interese. Por ejemplo, a lo largo de un gradiente de polución, en diferentes barrios de una ciudad, en diferentes puntos dentro y alrededor de una zona industrial, etc. Se identifican todas las especies que tiene cada árbol y a cada una de ellas se le asignan los valores de Q y F. Q se denomina *cortejo medio específico* y se calcula haciendo la media del número de especies que acompañan a la que estamos considerando en las estaciones en las que la especie ha aparecido. F se llama *valor de la frecuencia-cobertura* y la forma de calcularlo ha variado con el tiempo (en su origen, F toma el valor del 1 al 5). Con los valores de Q y F para cada especie (i) de cada estación ecológica (EE) se puede calcular el IPA de la estación ecológica, según la fórmula:

$$IPA = (\Sigma Q_i F_i) / 10$$

Por otro lado, como el valor de F puede resultar subjetivo, se puede obtener por su frecuencia, según:

$$F = (Rm + P) / 2$$

Donde:

Rm = recubrimiento medio o relación entre el recubrimiento total (Rt = suma de los recubrimientos de la especie en cada árbol de la EE) y el número de árboles muestreados en cada EE. El valor de recubrimiento varía de 1 a 5 según la escala siguiente: 1 = <10 % de la superficie del árbol; 2 = 11-20%; 3 = 21-35%; 4 = 36-50 %; y 5 >50%.

P = presencia media del líquen o relación entre el número de árboles de la estación en que se ha encontrado la especie y el número total de árboles muestreados en la EE. El valor máximo será 1.

Como se puede observar, el valor de IPA aumenta con el número de especies (riqueza específica), la superficie que cubren (cobertura / abundancia) y el número de árboles colonizados (vitalidad). Este índice acompañado de expresiones clásicas sobre estructura, composición y organización de comunidades (riqueza florística relativa, diversidad específica, etc.) permiten clarificar la situación ambiental de la localidad estudiada.

En 1990, García calculó el valor del índice IPA en la zona rural del entorno de dos centrales térmicas situadas en el norte de Galicia (C.T. As Pontes de García Rodríguez ENDESA y C.T. Meirama FENOSA), cuyo principal contaminante es SO_2 . Debido a que la concentración media de SO_2 en el aire se mantenía en toda la zona por debajo de $13 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (los valores medidos fluctuaban entre $4,8$ y $12,2 \mu\text{g}/\text{m}^3$), que es el límite superior de la clase de mejor calidad, según la clasificación original, fue necesario ampliar la escala para zonas rurales, de la forma siguiente:

IPA	SO_2 ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)
Ambiente urbano-industrial	
<10	>80
10-25	50-80
25-40	25-50
40-55	13-25
Ambiente rural	
55-100	8-13
100-200	7-8
200-300	5-7
>300	<5

Escala de clases de calidad según IPA y correspondencia con la concentración media de SO_2 ($\mu\text{g}/\text{m}^3$).

Los valores del IPA en el entorno de las dos centrales térmicas se mantuvieron dentro de las tres mejores clases de calidad pues los IPA fluctuaron entre 102 y 340.

Por otro lado, la Fig. 4.5. muestra los resultados de la aplicación del IPA a una zona urbana (Vigo, Pontevedra), en la que se pueden distinguir cuatro niveles de contaminación, cuyas concentraciones de SO_2 (mg/m^3) estimadas a partir de la flora líquénica serían:

IPA	SO ₂ (µg/m ³) estimada
Ambiente urbano-industrial	
<2.3	>60
5.5-21.4	50-60
27.9-89.7	40-50
89.7-144	<40

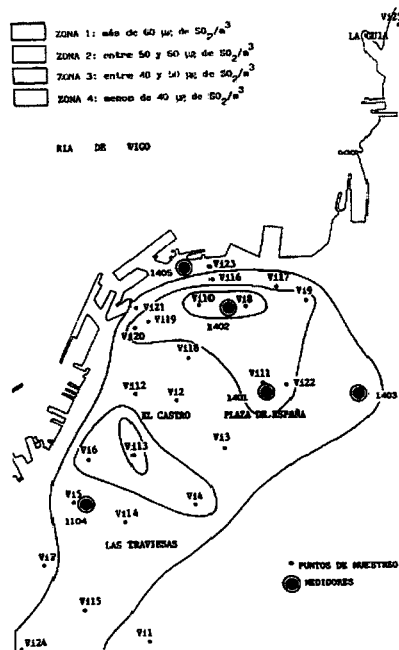


Fig. 4.5. Zonas de isocontaminación para la ciudad de Vigo, predichas a partir del índice líquénico de polutotolerancia (IPA), en el año 1988 (García, 1990).

4.2.3. Briófitos

Mientras que los briófitos son excelentes bioacumuladores, tanto en medio terrestre como acuático, para los ecosistemas terrestres no se ha desarrollado ningún sistema de bioindicación óptica orientado, de manera específica, hacia la evaluación de la polución atmosférica. Sí se han utilizado para cartografiar áreas de diferente calidad botánica, es decir, para evaluar el grado de conservación de la vegetación natural (Guerra et al, 1989). El método consiste en estudiar los briófitos de un número de localidades tal que cubra to-

dos los posibles tipos de vegetación briofítica del área. De cada localidad se estudian los briófitos presentes y los biotopos diferentes que pueden ser colonizados por estos vegetales. En función de los datos obtenidos se pueden calcular unos coeficientes de calidad botánica de la localidad:

- Coeficiente de diversidad florística de una localidad (Cdf)

$$Cdf = (\text{nº de sp presentes en la localidad} / \text{nº total de sp del área estudiada}) \cdot 100$$

- Coeficiente de rareza de una especie (Crsp)

$$Crsp = \{(\text{nº total localidades} - \text{nº de localidades con la sp}) / \text{nº total localidades}\} \cdot 100$$

- Coeficiente de originalidad específica de una localidad (Coel)

$$Coel = \text{Suma de los Crsp de las sp de una localidad} / \text{nº sp de la localidad}$$

- Coeficiente de calidad botánica de una estación o localidad (Ccb)

$$Ccb = Cdf + Coel + Nb$$

siendo Nb el número de biotopos ocupados por los briófitos en la localidad

El Ccb puede ser cartografiado para delimitar áreas de calidad que pueden ser comparadas con la distribución de diferentes tipos de perturbación, naturales y antrópicas, con el objeto de poner en evidencia relaciones causales.

4.2.4. Plantas vasculares

También las plantas vasculares han sido utilizadas para elaborar con ellas listas de plantas indicadoras de ambientes estables, en concreto bosques, de forma similar al índice RIEC elaborado con la flora liquénica, con escasa incidencia internacional. Sin embargo, anualmente se realiza en España un Inventario de Daños Forestales (IDF) siguiendo una normativa común con la mayoría de los países europeos.

Red Europea de Seguimiento de Daños en los Bosques

El IDF se lleva a cabo sobre la Red Europea, que se estableció en 1987², para el seguimiento de los daños apreciados en los bosques, mediante la revisión de los puntos localizados en los nodos de una red de 16 x 16 km, tendida sobre la superficie forestal europea.

² En 1985 como respuesta a la creciente preocupación sobre el estado de los bosques europeos se estableció el Programa de Cooperación Internacional para la Evaluación y Seguimiento de los Efectos de la Contaminación Atmosférica en los Bosques (ICP Forest), dentro del convenio sobre la Contaminación Atmosférica transfronteriza a gran distancia de la Comisión Económica de las Naciones Unidas para Europa. En 1986 se publica el reglamento CEE 356/86 sobre: Protección de los bosques contra los efectos de la contaminación atmosférica, que pone en marcha las condiciones de seguimiento de forma coordinada

El análisis del estado de salud del arbolado se realiza desde dos perspectivas:

1. Una perspectiva extensiva, a través de un seguimiento anual a gran escala de los árboles, en el que se examina especialmente el estado de la copa y las condiciones edáficas y foliares, conocida como Red de Nivel I (red de cuadrículas sistemáticamente establecida). El objetivo principal es comprender la evolución del estado de la copa y descubrir posibles causas, entre ellas la contaminación atmosférica.
2. Una perspectiva intensiva, a través de estudios pormenorizados de parcelas de observación permanentes, Red de Nivel II, en las que se examina el estado de la copa, se estudian suelos y hojas, el crecimiento de los árboles, los depósitos atmosféricos y las condiciones atmosféricas. El objetivo de este programa, iniciado en 1994, es la investigación de factores de estrés y del estado fitosanitario de los bosques.

En 1999 el muestreo transnacional, participaron 31 países, estuvo constituido por 5695 localidades y 127455 árboles, de los cuales correspondieron a España 611 y 14664, y a Galicia 52 y 1248, respectivamente³ (MMA, 1999). En cada localidad se eligen 24 árboles y se evalúa la defoliación y los cambios anormales de color, anotando los posibles factores causantes de los daños (fauna doméstica y silvestre, insectos, hongos, agentes abióticos, acción de hombre, contaminante local conocido, incendios y otros), siguiendo un manual de trabajo de campo y fotoguías, común para todos los observadores. El período de muestreo comprende los meses de julio, agosto y septiembre.

Las clases de defoliación establecidas por el ICP Forest y la UE son: clase 0 = 0-10%; clase 1 = 10-25%; clase 2 = 25-60%; clase 3 = >60%; y clase 4 = árbol muerto o desaparecido, incluyendo cortados en operaciones selvícolas y aprovechamientos, así como los quemados sin capacidad de rebrotar. Por ello, esta clase tiene poco significado desde el punto de vista ambiental. En climas con carácter mediterráneo la defoliación tiene un valor más indicativo del estado de salud de las masas forestales que la decoloración, la cual se encuentra afectada en multitud de ocasiones por las propias condiciones climáticas de la estación.

³ Servicio de protección contra Agentes Nocivos (Dir. Gen. Conservación Naturaleza. Ministerio M. Ambiente (1999): Inventario UE-ECE de daños forestales (IDF) en España. Red Europea de seguimiento de daños en los bosques. Nivel I. resultados del muestreo de 1999. Ecología, 13:257-281.

Los resultados globales de la campaña de 1999 para toda España se pueden resumir como sigue:

- El 87,1% de los árboles presentaban un aspecto saludable (clases 0+1) de defoliación aparente, respecto a un árbol con su copa completa, entre 0-25% de pérdida de volumen foliar.
- En cuanto a la decoloración casi en el 98% de las localidades, los cambios son inapreciables (grado 0+1).
- Si se tienen en cuenta todos los datos de Europa, España está muy por debajo (<14%) de la media europea en daños, que presenta casi el 25% de sus bosques claramente dañados. En Galicia los daños globales (clases 2+3) afectaban solamente al 4,8% de las localidades.
- Los agentes abióticos (T4= efectos directos del clima y sus consecuencias: temporales, heladas, aludes, tornados, riadas, sequía, inundaciones, etc.) fueron los más consignados (33%), destacando el déficit hídrico sobre todos los demás, seguidos por los T3 (insectos defoliadores y perforadores, hongos y fanerógamas parásitas) con un 26%, aunque casi un 30% de los daños se asignan a otros u origen desconocido.

La importancia de la contaminación atmosférica en la evolución del estado del arbolado es un factor no cuantificable directamente, al estar enmascarado por procesos mucho más llamativos en apariencia. Estos inventarios sólo son orientativos y sirven para reconocer aquellas zonas que requieren más atención y seguimientos más exhaustivos. Asimismo, la metodología empleada para la confección de estos inventarios no parece ser la más adecuada para territorios mediterráneos, y sus transiciones hacia continental u oceánico, donde la vegetación responde estacionalmente de forma diferente a la centroeuropea y donde no se conoce suficientemente el comportamiento fenológico de muchas de las especies que componen estos ecosistemas.

Asimetría Fluctuante (AF) como un indicador de la calidad del aire

El creciente impacto de las actividades humanas sobre las poblaciones naturales exige el desarrollo de nuevas técnicas objetivas de estimar el estrés experimentado por estas poblaciones. En el caso de muchas poblaciones, el nivel de estrés se ha estimado a través de distintas medidas del rendimiento en términos de productividad o mediante cambios en parámetros fisiológicos o bioquímicos. Recientemente, el nivel de asimetría fluctuante en caracteres morfológicos se ha propuesto como una medida objetiva, rápida, bara-

ta y sencilla de tomar, del nivel de estrés experimentado por un organismo en su ambiente (Palmer & Strobeck, 1986). Las situaciones de estrés suponen para los organismos hacer frente a un gasto energético extra. La consecuencia es que parte de la energía dedicada al mantenimiento de la estabilidad durante el desarrollo es desviada para afrontar los costes extras que supone vivir en ambientes fuera del óptimo. Esto se traduce en perturbaciones durante la morfogénesis, con un mayor número de errores en el desarrollo, que se pueden manifestar como asimetría fluctuante (AF). La AF refleja pequeñas desviaciones aleatorias de la simetría en órganos o características que habitualmente presentan una simetría bilateral perfecta. Datos experimentales sugieren que un incremento en la inestabilidad en el desarrollo, medida como asimetría fluctuante, puede detectarse antes de que ocurra una disminución significativa en la eficacia biológica (fitness) de los organismos (Moller 1996; Markow 1995). Esto hace de la asimetría fluctuante una herramienta muy sensible y prometedora en la biomonitorización ambiental, aunque aún son muy escasos los estudios orientados a este fin. Otras ventajas de esta técnica son que los mismos procedimientos pueden emplearse en el campo y en el laboratorio, facilitando la comparación directa de los resultados, y que permite repetir las medidas en el tiempo, lo que hace posible la monitorización de cualquier acción tomada y obtener tendencias temporales. La técnica permite también comparar niveles de asimetría de ejemplares fósiles o más recientes, procedentes de bancos de especímenes o herbarios, con ejemplares actuales, lo que nos indicaría cambios en el tiempo de las condiciones ambientales.

El grado de inestabilidad en el desarrollo en respuesta a contaminantes atmosféricos se ha analizado tanto en animales como en plantas. Por ejemplo, Kozlov et al. (1996) encontraron que las hojas de árboles del género *Betula* situadas en las cercanías de fuentes de contaminación atmosférica mostraban mayores niveles de asimetría y que las concentraciones de níquel en las hojas estaban positivamente relacionadas con la asimetría en muestras recogidas en los alrededores de fundiciones de cobre y níquel.

El estudio de los niveles de inestabilidad en el desarrollo, expresada como AF, se realiza midiendo diferentes caracteres morfológicos, usando un micrómetro de precisión. En especies vegetales los caracteres más utilizados son:

1. Máxima anchura foliar, definida como la distancia desde el nervio central al borde de la hoja, en el lugar más ancho de esta. La anchura se medirá a derecha e izquierda del nervio central.

2. Distancia entre nervios, definida como la distancia entre cada uno de los cuatro nervios centrales más largos. Estas distancias se mediaran a ambos lados del nervio central.

Para comprobar si existe asimetría fluctuante en los caracteres medidos, se contrasta por medio de test t de una muestra y test de Kolmogorov-Smirnov, si los valores del carácter derecho menos izquierdo se desvían de una distribución normal de media cero (Palmer & Strober, 1986). Las pruebas más sólidas de AF en condiciones reales se obtienen mediante el estudio de gradientes ambientales.

En los estudios de calidad ambiental basados en AF hay que tener presente que pueden darse interacciones o enmascaramientos entre factores antrópicos y naturales. Los factores ambientales naturales pueden producir estrés, con manifestación de AF, tanto los de naturaleza abiótica (por ejemplo la temperatura) como biótica (herbivorismo, competencia, etc.). Así, se pudo observar la convergencia de los síntomas de estrés, en términos de AF de diferentes características morfológicas del sauce (*Salix borealis*), entre la presión de pastoreo -proporcional a la densidad del escarabajo *Melasma lapponica* y la concentración foliar de níquel.

5.2.5. Animales

Aeroplancton y aeronecton, fauna muscinal y fauna de la bojarasca como indicadores de la calidad del aire

En el aire se puede encontrar una cantidad notable de organismos de pequeñas dimensiones que se mantienen suspendidos de manera pasiva o activa durante un tiempo muy variable. A este complejo de formas biológicas se denomina *aeroplancton* por similitud al plancton acuático. El aeroplancton está constituido por: bacterias y virus, algas unicelulares, esporas de hongos y de pteridofitas, polen de gimnospermas y angiospermas, quistes de protozoos, rotíferos, nemátodos y tardigrados; arácnidos; y numerosos insectos de pequeña dimensión. El *aeronecton* está representado por macroinsectos (odonatos, coleópteros, lepidópteros, himenópteros, dípteros, etc.), ucélidos (apodidos y hirundinos) y también se pueden incluir pequeños mamíferos (quirópteros). Sin embargo, no existe un límite claro entre aeroplancton y aeronecton, pudiendo referirse a la longitud (inferior o superior a 1 cm) y/o a la capacidad de vuelo.

La composición del aeroplancton y del aeronecton es muy variable geográfica y estacionalmente, pudiendo ser la presencia de muchas especies de tipo ocasional, ligadas a comportamientos alimentarios, emigraciones, etc. Esta variabilidad limita fuertemente sus posibilidades de uso actual como biomonitores de la calidad del aire. Aunque de manera aislada se puede utilizar alguna característica particular de ciertos organismos para evaluar la calidad del aire. Es el caso de los lepidópteros *Geometridae* -con numerosas especies, amplia difusión y presencia todo el año- que exhiben grados de melanismo relacionados con la contaminación del aire. Un ejemplo clásico es la asociación del aumento de la forma melánica carbonaria Jordan en *Biston betularius* L. -especie normalmente con alas blancas y banda gris- con la contaminación por polvo de carbón, característica de los primeros tiempos de la revolución industrial; por ello este fenómeno es conocido como melanismo industrial.

Sobre los musgos existe una fauna (*fauna muscinal*) que depende poco del tipo de sustrato de tal forma que la composición y estructura de esta zoocenosis puede reflejar la calidad del aire. Aunque para ello es necesario: primero, estandarizar, para cada localidad, la distribución temporal de esta microfauna; segundo, estandarizar el procedimiento de muestreo y extracción; tercero, resolver el problema de identificación taxonómica; y cuarto, disponer de un método de descripción o caracterización adecuada de la zoocenosis.

En términos generales la calidad del aire se relaciona, de mejor a peor calidad, con:

- Presencia de tardígrados, rotíferos y nemátodos (este último representado por especies de grandes dimensiones).
- Ausencia de tardígrados, nemátodos de tamaño medio-pequeño, rotíferos eventualmente presentes con muchos individuos.
- Ausencia de nemátodos y escasa presencia de rotíferos.
- Ausencia de todos los grupos.

Los organismos que viven en la hojarasca son totalmente dependientes de los restos vegetales que la componen, a la vez dependientes del tipo de vegetación y época del año. Igual que con la fauna muscinal, la *fauna de la hojarasca* puede ser utilizada para caracterizar, en una primera aproximación y, de momento, a título tentativo, la calidad del aire. Sin embargo, son muy utilizados los tests biológicos de toxicidad realizados con diferentes especies de esta fauna (i.e. bioensayo de colémbolos) para evaluar la toxicidad de muestras de suelo y hojarasca.

BIBLIOGRAFÍA

- BREWER, 1994. The Science of the Ecology, Saunders.
- CAIRNS, J. 1979. Biological monitoring –concept and scope. En: *Environmental Biomonitoring, Assessment, Prediction and Management – Certain Case Studies and Related Quantitative Issues*, ed. J. Cairns, G.P. Patil & W.E. Waters, pp. 3-20. International Cooperative Publishing House, Maryland.
- DAGET, PH., GODRON, M. 1982. Analyse de l'écologie des espèces dans les communautés. Masson. Collection d'écologie. Paris.
- DUKE, J.A. 1976. Perennial weeds as indicators of annual climatic parameters. *Agricultural Meteorology* 16: 291-294
- EDERRA, A. 1996. Botánica ambiental aplicada. Editorial Eunsa. Pamplona.
- ELLENBERG, H. 1954. Über einige Fortshritte der kausalen vegetationskunde. *Vegetatio* 5/6: 199-211
- ELLENBERG, H. 1979. Zeigerwerte der Gefäßpflanzen Mitteleuropas. 2nd ed. Scripta Geobotanica, Göttingen.
- ESCURRA, E. & MONTAÑA, C. 1984. On the measurement of associations between plant species and environmental variables. *Acta Oecologica* 5: 21-33
- GARCÍA, A. 1990. Estudio de la contaminación atmosférica mediante bioindicadores liquénicos en Galicia. Tesis Doctoral, Universidad de Santiago de Compostela.
- GONZÁLEZ BERNÁLDEZ, F. 1981. Ecología y Paisaje. Ed. Blume, Madrid.
- HILL, M.O. 1973. Reciprocal averaging: an eigenvector method of ordination. *Journal of Ecology* 61: 237-249
- KOZLOV, M.V., WILSEY, B.J., KORICHEVA, J. & HAUKIOJA, E. 1996. Fluctuating asymmetry of birch leaves increases under pollution impact. *Journal of Applied Ecology* 33: 773-785.
- MARKOW, T.A. 1995. Evolutionary ecology and developmental stability. *Annual Review of Entomology* 40: 105-120
- MOLLER, A.P. 1996. Parasitism and developmental instability of hosts: a review. *Oikos* 77: 189-196
- PALMER, A. R. 1996. Waltzing with asymmetry. *BioScience* 46: 518-532
- PALMER, A.R. & STROBECK, C. 1986. Fluctuating asymmetry: measurement, analysis, patterns. *Annual Review of Ecology and Systematics* 17: 391-421
- RETUERTO, R. 1989. Fitoclimas de Galicia. Tesis Doctoral. Universidad de Santiago de Compostela.
- RETUERTO, R & CARBALLEIRA, A. 1991. Defining phytoclimatic units in Galicia, Spain, by means of multivariate análisis. *Journal of Vegetation Science* 2: 699-710

- SCHROEVERS, P.J. 1983. The need of an ecological quality concept. *Environmental Monitoring and Assessment* 3 (3/4): 219-226
- TER BRAAK, C.J.F. 1986. Canonical correspondence analysis: a new eigenvector technique for multivariate direct gradient analysis. *Ecology* 67: 1167-1179
- TER BRAAK, C.J.F. 1987. Data analysis in community and landscape ecology. Pudoc, Wageningen.
- WALTER, H. 1973. Vegetation of the earth in relation to climate and the ecophysiological conditions, Heidelberg Science Library.
- WHITTAKER, R.H. 1956. Vegetation of the Great Smoky Mountains. *Ecological Monographs* 26: 1-80
- ZAR, J.H. 1984. Biostatistical analysis. Prentice-Hall, London.
- ZONNEVELD, I.S. 1983. Principles of Bio-indication. *Environmental Monitoring and Assessment* 3(3/4): 207-217

5. BIOMONITORIZACIÓN POR ACUMULACIÓN QUÍMICA

5.1 EL PROCESO DE LA BIOACUMULACIÓN

5.1.1. Factor de bioconcentración (KB)

La bioconcentración de compuestos puede ser reconocido como: un proceso en equilibrio entre la carga y descarga de compuestos entre la biota y el medio (Connell, 1990). En estas condiciones la ecuación de Freundlich es aplicable y se representa generalmente como:

$$C_b = KB C_w \exp (1/n)$$

Donde:

C_b = concentración en la biota

C_w = concentración en el medio

KB = factor de bioconcentración

$1/n$ = constante de no linealidad

La constante de no linealidad sufre desviaciones de la linealidad cuando ocurren diferencias relativamente grandes de concentraciones. Cuando las concentraciones ambientales son bajas, entonces la constante suele ser la unidad ($1/n=1$) y entonces:

$$C_b = KB C_w$$

donde:

$$KB = C_b / C_w$$

de ahí que el Factor de Bioconcentración (KB) es: *la relación entre C_b (en un organismo o grupo de organismos) y C_w , definido por la ecuación de Freundlich operando a bajas concentraciones ($1/n=1$), y donde el equilibrio ha sido alcanzado bajo unas condiciones específicas.*

Los valores de KB no tienen unidades fijas. Corrientemente C_b es expresado como mg/kg (o unidades equivalentes), C_w se da generalmente en mg/m³ de aire, en este caso KB es m³/kg. Esta relación puede ser multiplicada por la *densidad* de la biota y entonces se convierte en kg/m³. Unas veces se utiliza C_b con referencia al peso seco y otras al peso húmedo. También, como el valor de KB depende en gran medida del contenido en lípidos del organismo y este es variable con el estado o índice de condición, la OECD (*Guidelines for Testing Chemicals*) sugiere que C_b pueda ser expresado en términos referentes al contenido lipídico ($C_b.Yl$ = mg/kg de lípidos, Yl = proporción de lípidos, entonces KB es KB_l).

5.1.2. Cinética de la bioconcentración. Modelo de un compartimento

El tratamiento teórico de la cinética de transferencia química en organismos fue desarrollada en farmacología y aplicado a la carga y descarga de contaminantes ambientales por Moriarty en 1985. El modelo más usado sobre cinética de bioconcentración está basado en el modelo de un solo compartimento (Fig. 5.1.).

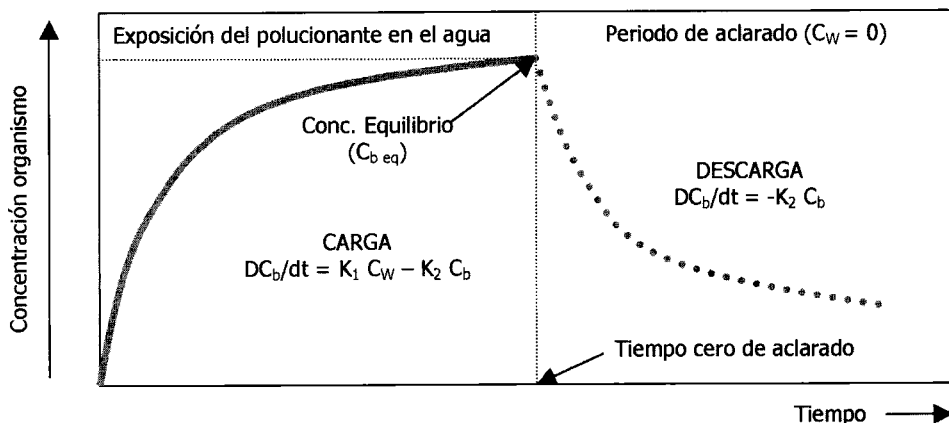


Fig. 5.1. Cinéticas de carga y descarga de un contaminante en un modelo de un compartimento.

Este modelo simple consiste en analizar la igualdad:

Tasa de Cambio de la concentración biótica = Tasa de carga (K_1) - Tasa de descarga (K_2).

$$dCb/dt = K_1 C_w - K_2 C_b$$

CARGA

Cuando la concentración del medio representa una gran reserva relativa frente a la capacidad de acumulación corporal, C_w puede considerarse invariable en el tiempo o constante. Integrando:

$$C_b = (K_1/K_2) C_w [1 - e^{-K_2 t}]$$

Esta ecuación predice que C_b exhibe un estado de incremento de concentración en el tiempo, cuya velocidad va declinando con el mismo. Si t aumenta entonces $e^{-K_2 t}$ tiende a cero y la curva C_b se hace paralela al tiempo (Fig. 5.1.), al ser una constante producto de otras constantes:

$$C_b = (K_1/K_2) C_w \rightarrow C_b/C_w = K_1/K_2 = KB$$

El tiempo teórico para alcanzar el equilibrio se conseguirá cuando: $e^{-K_2t} = 0$, esto significa que $t = \infty$. Ahora bien se puede considerar que el *equilibrio es efectivo* cuando C_b es igual a $0,99 C_b$, entonces:

$$C_b(\text{en equilibrio efectivo}) = 0.99 C_w(K_1/K_2)$$

Cuando $1 - e^{-K_2t} = 0.99$ entonces t en equilibrio = $4,605(1/K_2)$ ó $\lg t$
 $eq = \lg(1/k_2) + 0,663$

DESCARGA

Si el tiempo de exposición al contaminante ha terminado por ser $C_w = 0$, entonces $K_1 C_w = 0$ y $dC_b/dt = K_1 C_w - K_2 C_b = -K_2 C_b$, es decir sólo existe descarga. Lo que integrando:

$$C_b = C_{b0} e^{-K_2 T}$$

$$\ln C_b = \ln C_{b0} - K_2 T$$

siendo C_{b0} = concentración corporal original en el tiempo cero de descarga.

Esto demuestra que con el tiempo C_b declina y que la tasa de salida decrece con el tiempo. Como C_{b0} y K_2 son constantes la C_b en descarga está ligada linealmente con el tiempo.

Cuando la mitad de la concentración inicial fue descargada $C_b = C_{b0}/2$ y la *Vida media* $t(1/2)$ es representada por:

$$\text{Vida media } t(1/2) = \ln 2 / K_2$$

La *persistencia* de un compuesto puede ser representada por esta vida media debida a las pérdidas físicas y por biodegradación y excreción de productos. En el caso de la bioconcentración, mientras que el proceso de carga puede asimilarse a un simple proceso de difusión, en la descarga influyen complejos procesos fisiológicos y bioquímicos.

La utilidad de la vida media es grande puesto que los residuos corporales se pierden en fases sucesivamente más lentas después de la exposición, siguiendo una ley exponencial de tal forma que los últimos residuos son extremadamente persistentes.

Del modelo de compartimento único se puede concluir que:

1. La concentración no aumenta indefinidamente por muy crónica que sea la exposición (se alcanza un estado estacionario para cada estado de contaminación).

2. Como la concentración corporal es función de las velocidades relativas de entrada y eliminación, los niveles en un organismo No dependerán de su posición en la cadena trófica, fundamentalmente si la vía de entrada directa (bioconcentración) supera a la vía de la alimentación (*biomagnificación*).

5.1.3. Nivel de referencia y factor de contaminación (CF)

El factor de contaminación es el cociente entre el nivel de un contaminante en la biota o en el medio, respecto a un valor de referencia considerado representativo de un estado natural:

$$CF = Cb/Nfb$$

Donde:

CF = factor de Contaminación

Cb = concentración del contaminante en la biota

Nfb = nivel de fondo o valor natural del elemento en la biota

El nivel de fondo puede ser definido de diferentes formas (Carballeira et al., 1997):

1. El nivel de fondo preindustrial es la concentración de un elemento en la biota antes de existir cualquier actividad humana industrial de cierta consideración en la región. Se puede obtener a partir de estudios retrospectivos con muestras fósiles, capas sedimentarias, testigos de árboles, conchas de moluscos, colecciones de organismos, etc.
2. Si el nivel de fondo es un valor de referencia estándar o de utilidad general, para un vasto territorio, por ejemplo basado en referencias geológicas estables, el factor de contaminación resultante representa una Evaluación Absoluta del grado de perturbación (*CF estándar*):

$$CF\ estandar = Cb/Nf\ estandar$$

3. El nivel de fondo natural es función de la concentración del elemento, en la biota o en el medio, antes de producirse una contaminación, representativo de unas condiciones medias regionales. Tiene en cuenta el ruido de fondo natural ligado a las condiciones físico-químicas del medio. El factor de contaminación obtenido en este caso y en el siguiente debe considerarse como una Evaluación relativa del grado de perturbación existente. Es lo que consideramos *CF tipo o normal*, por ejemplo para la eva-

luación del impacto ambiental detallado de los organismos dentro de un ámbito regional, teniendo en cuenta la litología.

$$CF = Cb/Nfb$$

4. En función de la concentración del elemento, antes del desarrollo de una actividad en particular que pueda generar una contaminación específica (estado cero o preoperacional), independientemente del grado de conservación natural de la zona. Es un nivel de referencia que permite observar la evolución de un elemento a lo largo (espacial o temporalmente) de un proceso de contaminación. Este concepto puede utilizarse también para observar velocidades de descontaminación o descarga. Se denomina también *CF ajustado*:

$$CF \text{ ajustado} = Cb2/Cb1$$

Donde:

Cb1 = concentración en la biota en el punto o tiempo 1, que actúa como valor de referencia.

Cb2 = concentración en la biota en el punto o tiempo 2

Métodos de medida y estima del nivel de fondo

Como ya ha sido mencionado, la determinación de los niveles de referencia naturales (niveles de fondo) de las concentraciones de los elementos estudiados es imprescindible para poder determinar el grado de enriquecimiento o contaminación del medio y de los organismos. En el caso de compuestos xenobioticos, es evidente que el nivel de referencia natural es cero, aunque el nivel de referencia preactividad puede tener ya un valor positivo. La determinación de niveles de referencia tienen una gran importancia con los contaminantes inorgánicos (metales y nutrientes).

En estudios de medios, los datos utilizados como niveles de fondo provienen básicamente de dos fuentes distintas: valores medios de la corteza terrestre (Nivel Estándar), que son empleados como referencias generales y valores de la misma zona de estudio (Nivel Natural) definidos con distintos métodos. En principio, ninguna opción es claramente superior, ya que si utilizamos las referencias generales, las variaciones locales son ignoradas. Pero si utilizamos los niveles preindustriales, o datos similares, de las zonas de estudio, las mismas variaciones son enfatizadas. Aun así, es preferible inclinarse por la segunda opción, con la salvedad de tomar como valor base el correspondiente al límite

superior del intervalo de confianza para la media (al 95 %) de los datos empleados en la determinación de los niveles de fondo. Este procedimiento minimiza el efecto de la variabilidad muestral del área estudiada.

La determinación de los niveles de referencia naturales en medio y/o organismos partiendo de los datos locales se puede llevar a cabo por distintos procedimientos:

- La aplicación de técnicas de regresión entre un elemento geoquímicamente estable, y no influido por la actividad humana, y el resto de elementos.
- La selección de estaciones presumiblemente limpias como representativas de los niveles naturales es otra opción, pero estas decisiones suponen un alto riesgo, solamente atenuado cuando se dispone de amplios e intensivos estudios de la dinámica poblacional e industrial de cada espacio objeto de estudio.
- Determinación de poblaciones homogéneas dentro de la serie de datos pertenecientes al estudio. Estos sistemas gráficos son muy populares, tanto en estudios de contaminación metálica como demográficos. Se basan en el análisis de las curvas de distribución de frecuencias acumuladas transformadas en una sucesión log-normal. De esta forma es posible distinguir las poblaciones homogéneas (tramos rectos de la gráfica) correspondientes a los distintos niveles base, umbral y contaminado. Sin embargo, cuando no se trabaja con series de datos muy grandes, la capacidad de discernimiento gráfico de las poblaciones se torna muy subjetiva. Con el objetivo de solucionar dicho problema, se puede compaginar este procedimiento con la aplicación del análisis modal, el cual nos permite diferenciar con significación estadística las distintas poblaciones normales dentro del conjunto general de datos.
- Las relaciones isotópicas cada día toman mayor interés en las determinaciones de niveles de referencia por el tipo y calidad de la información que aportan. En muchos casos la medida de los contaminantes no es suficiente para discernir el nivel de fondo pues la medida no dice nada sobre su origen, cuya determinación es esencial para conocer los actores responsables de la contaminación, identificar modos de dispersión y deducir procesos de movilización. Incluso, las fuertes concentraciones de algunos contaminantes no necesariamente son debidas a actividades humanas. Puede tratarse de un simple aumento de las concentraciones naturales por diversas razones, por ejemplo, erupciones volcánicas.

Clasificación de los factores de contaminación (CF)

Para la valoración de los CF obtenidos, independientemente del método empleado, debe tenerse en cuenta las incertidumbres debidas al muestreo, variación espacial y temporal, edad del organismo, estado fisiológico, etc. Por ello es normal tomar como umbral mínimo a considerar cuando el CF sea superior a una cifra determinada, habitualmente 2, e incluso 3 veces el nivel de referencia obtenido.

La calificación de la situación sigue habitualmente una escala lineal y si se dan situaciones muy contrastadas una escala exponencial. Sin embargo, una clasificación de CFs debe tener en cuenta el tipo de proceso contaminante (uni o multifoco), el medio, la escala de trabajo, el significado biológico, etc. La dispersión teórica de los contaminantes vía atmosférica se aproxima a un modelo gaussiano en tres dimensiones, de tal forma que el grado de dilución con la distancia es grande, disminuyendo rápidamente con la misma los factores de contaminación. De esta forma hemos propuesto la escala (Fernández & Carballeira, 2001), válida en términos generales, siguiente:

CF	Contaminación
<1	no existe
1-2	sospechosa
2-3.5	débil
3.5-8	moderada
8-27	severa
>27	extrema

5.1.4. Características de un bioacumulador

Además de las características, ya comentadas, que debe reunir un bioindicador, para que un organismo sea considerado un buen acumulador químico debe cumplir ciertos requisitos.

El análisis de la acumulación corporal en indicadores aislados de ciertas sustancias no necesariamente permite extraer conclusiones sobre concentraciones ambientales. Muchas plantas y animales presentan altos factores de acumulación frente a ciertas sustancias en concentraciones bajas ambientales, pero sus factores de acumulación disminuyen claramente cuando en el

ambiente se dan altas concentraciones. El resultado es una saturación rápida de la curva definida entre la concentración ambiental y la concentración corporal (Fig. 5.2.). La concentración en el organismo es siempre elevada aunque en el medio sea baja, por ello se denominan *acumuladores*, y por tanto no son buenos bioindicadores. En otros casos los organismos son capaces de regular las concentraciones corporales (*excluyentes*), manteniendo bajos niveles de acumulación, en un amplio margen de concentraciones ambientales, y sólo cuando los niveles ambientales superan sus mecanismos reguladores, situaciones de toxicidad aguda, se dan altos grados de acumulación.

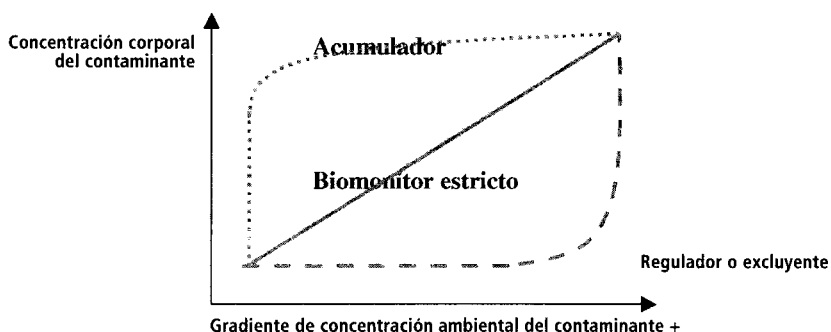


Fig. 5.2. Tipos de comportamientos de biomonitores por acumulación.

En un organismo acumulador se valora su resistencia para que pueda mantener su capacidad de bioconcentración estable, sin cambios debido al estrés que le produciría enfrentarse a diferentes grados de contaminación (Fig. 5.3.).

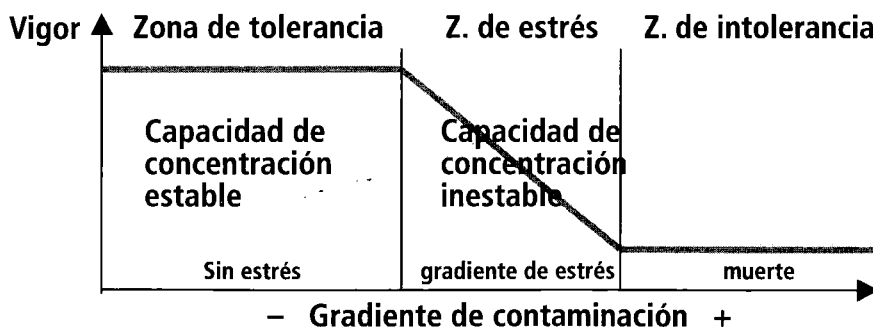


Fig. 5.3. Comportamiento de un organismo acumulador frente a una contaminación tóxica.

Además, en un acumulador se valora: la mayor capacidad de acumular los tóxicos (*factor de multiplicación*); linealidad en las relaciones exposición-concentración corporal en un amplio margen de variación, aunque muchas veces las relaciones no son lineales sino logarítmicas; amplio espectro de indicación o falta de selectividad frente a las toxinas; niveles de saturación elevados; que alcance la situación de equilibrio con el medio lo más rápido posible; y que presente bajas velocidades de eliminación o detoxificación (Fig. 5.4.).

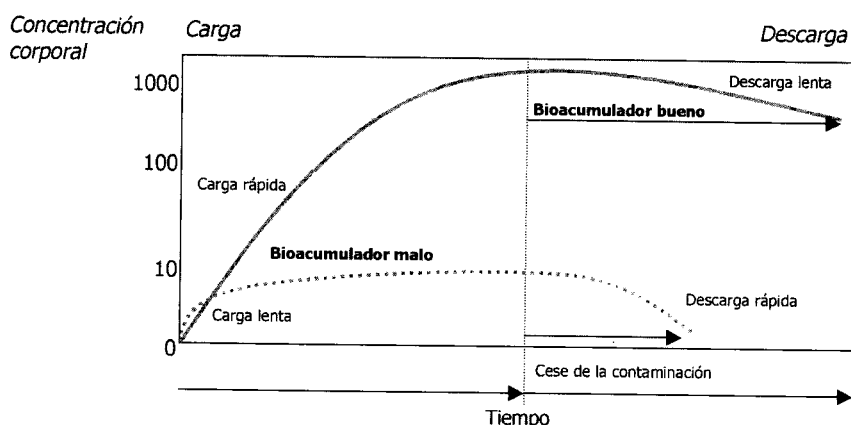


Fig. 5.4. Comportamiento de dos hipotéticos bioacumuladores durante los procesos de carga y descarga.

5.2. BIOINDICACIÓN POR ACUMULACIÓN DE CONTAMINANTES ATMOSFÉRICOS

5.2.1. Líquenes

Además de su uso en estudios de bioindicación óptica, estos organismos han sido empleados como bioacumuladores. Gracias a la estructura porosa y absorbente de los líquenes, las partículas submicrónicas podrán penetrar en el talo y permanecer atrapadas en los filamentos del hongo que compone estas plantas. Los líquenes permiten el estudio de un amplio abanico de contaminantes. De hecho, debido a su estructura, pueden estudiarse formas tanto gaseosas como particuladas. Entre los contaminantes que han sido determinados en líquenes pueden señalarse: metales (Pb, Fe, Zn, Cd, etc.), elementos radiactivos (Ra, Po o U), así como fluoruros y cloruros.

Los metales pueden acumularse, en forma de partículas, en los espacios intermedulares, que no son lavables. Esta localización permite al líquen acumular metales sin observación de daños aparentes.

Los líquenes pueden atrapar partículas mediante las hifas fúngicas, que a medida que van creciendo, rodean e incorporan al talo todo tipo de elementos procedentes de partículas de polvo, roca o contaminantes. Posteriormente los elementos pueden ser incorporados a las paredes o al interior de las células, si llegan a disolverse en el agua intercelular de la médula del liquen.

Los metales Cu, Pb y Zn parecen ser los más tóxicos para los líquenes, lo que explica las dificultades de colonizar superficies donde abunden estos metales (soportes galvanizados, objetos plomados, cables de cobre). Sin embargo, algunas especies son capaces de soportar fuertes contaminaciones. Por ejemplo, *Lecanora* spp segrega ácido oxálico, que reacciona con los metales para formar oxalatos insolubles, eliminando su toxicidad.

Se han utilizado muchas especies de líquenes, cortícolas, saxícolas o terrícolas (*Cladonia*, *Umbilicaria*, *Lecanora*, *Ramalina*, *Parmelia*, *Hypogymnia*, etc.), como biomonitores químicos, sobre todo de metales. Las determinaciones en extractos, mediante espectrofotometría de absorción atómica, fluorescencia atómica, etc., son muy comunes en los análisis de contenidos metálicos. Sin embargo, métodos más sencillos, aunque de menor sensibilidad, como fluorescencia de rayos X, tienen la ventaja de no ser destructivos, permitiendo con poca muestra realizar un seguimiento temporal de la contaminación. Esta no es una ventaja desdeñable pues en muchos casos se limita el uso de los líquenes como biomonitores debido a la escasa biomasa comparable disponible.

Los líquenes también se han usado en el control de flúor y oxidantes. Varias especies (*Cladonia pyxidata*, *Evernia prunasti*, *Letharia vulpina*, *Parmelia saxatilis*, *Peltigera canina* y *Xanthoria parietina*) son capaces de acumular flúor, cambiando de color y de aspecto (el talo se vuelve más blanco-grisáceo) y reduciendo su crecimiento.

Respecto a los oxidantes fotoquímicos, los líquenes sufren sus efectos, se decoloran y los talos se compactan, dependiendo el resultado final de la sensibilidad de las especies:

Grado de tolerancia de los líquenes a los oxidantes atmosféricos 			
Muy sensibles	Sensibles	Mod. Tolerantes	Tolerantes
<i>Peltigera canina</i> <i>Ramalina farinacea</i>	<i>Collema nigriscens</i> <i>Parmelia quercina</i> <i>Physconia grisea</i>	<i>Parmelia glabrata</i>	<i>Letharia vulpina</i> <i>Physcia biziana</i>

Los líquenes pueden ser usados también en biomonitorización activa (trasplantes) y en estudios retrospectivos.

5.2.2. Musgos

5.2.2.1. Características generales de los musgos como bioacumuladores

Los musgos terrestres se emplearon por primera vez para realizar estudios de calidad del aire en Suecia a finales de los años 60, y desde entonces esta técnica ha sido ampliamente utilizada y estandarizada (Fernández, 1999). Aunque los musgos se han empleado mayoritariamente para estudiar la deposición de metales pesados, tanto en estudios extensivos (países, regiones, etc.) como intensivos (focos industriales, etc.), también es posible utilizarlos para estudiar otros elementos como As o S, así como contaminantes orgánicos e incluso elementos radiactivos.

El empleo tan extendido de los musgos terrestres como biomonitores de la calidad del aire se debe a las especiales características que poseen estos organismos, que les permite tener una alta capacidad de intercambio catiónico y así fijar y acumular sustancias que les llegan disueltas en las precipitaciones (deposición húmeda) y las que les llegan en forma particulada (deposición seca).

La acumulación de los metales en el musgo puede tener lugar en diferentes localizaciones celulares:

1. *Extracelular*

- a. En la superficie del tallo y entre las células: puede incluir material soluble en agua procedente de la deposición seca y también restos de procesos de deposición húmeda. También puede incluir elementos liberados desde el interior de la célula.
- b. Unidos a lugares de intercambio aniónico de la pared celular y de la cara externa de la membrana plasmática: los cationes metálicos están normalmente asociados a estos lugares de intercambio debido a procesos fisicoquímicos que dependen de la naturaleza de los lugares de intercambio existentes, de la afinidad de los elementos por estos lugares y de la presencia de elementos competidores. Este proceso de acumulación es de tipo pasivo, es decir, las células no tienen control sobre el mismo.

2. *Intracelular*

Los metales se encuentran en forma soluble en el interior de la célula. Esta fracción contiene elementos que han sido transportados selectivamente a través de la membrana plasmática, es un proceso activo en el que intervienen proteínas transportadoras de la membrana. Se ha comprobado que metales

unidos a la pared celular pueden ser transferidos al interior de la célula. Sólo los metales que están en el interior de la célula van a producir alteraciones metabólicas en el musgo.

3. *Material insoluble*: estos metales en forma particulada pueden estar tanto en el exterior de las células como en el interior del citoplasma.

El contenido metálico de los musgos puede tener distintos orígenes dependiendo de las fuentes que los liberan a la atmósfera:

1. Pueden proceder de procesos de deposición de contaminantes presentes en el aire, originados en focos contaminantes locales y/o lejanos (transporte transfronterizo). Entre los metales procedentes de estas fuentes es tan: As, Cd, Co, Hg, Ni, Pb o Zn.
2. Una segunda fuente de metales son los procesos de reciclaje natural, en particular el transporte de sales y las emisiones biogénicas marinas. Estas emisiones incluyen elementos como Cl, Mg y Na.
3. Se ha comprobado que puede existir transferencia de compuestos almacenados en las plantas vasculares de los estratos superiores de la zona donde se encuentra el musgo, a causa del lixiviado de sus partes aéreas y/o de la descomposición de material. El elemento que se ha identificado casi exclusivamente con esta fuente es el Mn.
4. Las partículas minerales del suelo pueden, en algunos casos, incrementar el contenido de elementos típicamente litológicos como Fe, Ti, V y Cr encontrados en el musgo. La contaminación de este tipo se observa más a menudo en áreas con vegetación escasa o completamente ausente.

Las concentraciones elementales que presentan los musgos están influenciadas por los factores resumidos en la Fig. 5.5. En estudios de biomonitorización que se realicen a gran escala debe tenerse la precaución de intentar que estos factores sean lo más uniformes posibles para todas las muestras. Los factores individuales se describen brevemente a continuación:

- **Precipitaciones**: causan la entrada en el musgo de sustancias disueltas en ellas, aunque también pueden producir la pérdida de iones o partículas ya acumulados. La naturaleza de la precipitación también afecta los procesos de carga. Las lluvias intensas y cortas causan menos carga de contaminantes que las lluvias débiles de larga duración incluso si la cantidad de lluvia caída es la misma.

- **Cubierta:** si las precipitaciones caen a través de las hojas de la cubierta su concentración elemental variará por la adherencia y carga de sustancias y su lavado de las hojas. Esto es resultado de la intercepción, el proceso por el que la precipitación es captada y temporalmente almacenada en la superficie de las plantas. Los musgos que crecen bajo los árboles, donde las gotas de agua que caen de las hojas pueden caer sobre ellos, pueden tener por tanto diferentes concentraciones elementales que los musgos expuestos únicamente a la precipitación directa.
- **Morfología y capacidad de acumulación:** dentro de una misma especie de musgo la capacidad para captar cationes varía de un elemento a otro y en función de la morfología de la planta, que puede variar considerablemente en función de factores locales. Estas diferencias son todavía mayores si se comparan especies distintas.
- **Contenido basal:** los organismos que crecen en áreas no contaminadas tienen un contenido básico de ciertos elementos que indica que éstos son esenciales. Estos niveles basales deben tenerse en cuenta a la hora de evaluar las concentraciones metálicas de los musgos.
- **Efectos catiónicos:** si altas concentraciones de ciertos cationes están presentes en las deposiciones, éstas afectarán la carga de otros cationes por fenómenos de competencia entre los iones. En áreas con influencia marina, por ejemplo, las altas concentraciones de Na y Mg reducen la carga de Zn y Cd.
- **Edad del musgo:** los musgos integran la carga de metales realizada durante la vida de sus tejidos. Por tanto, la edad de los tejidos analizados debe tenerse en cuenta cuando se comparen estudios diferentes.
- **Estacionalidad:** pueden producirse fluctuaciones estacionales en las concentraciones de contaminantes de los biomonitores como resultado de los cambios que tienen lugar a lo largo de un año. La caída de los niveles pesados que ocurre, en algunas ocasiones, en los musgos en la primavera se explica por un efecto de dilución causado por un aumento en la producción de biomasa que tiene lugar en esta estación.

Son numerosas las ventajas que los musgos terrestres presentan a la hora de su empleo como biomonitores, destacando entre ellas las siguientes:

- Normalmente carecen de una cutícula protectora y de células epidérmicas con paredes celulares gruesas, lo que hace que sus tejidos sean fácilmente permeables al agua y los minerales, incluyendo los iones metálicos.

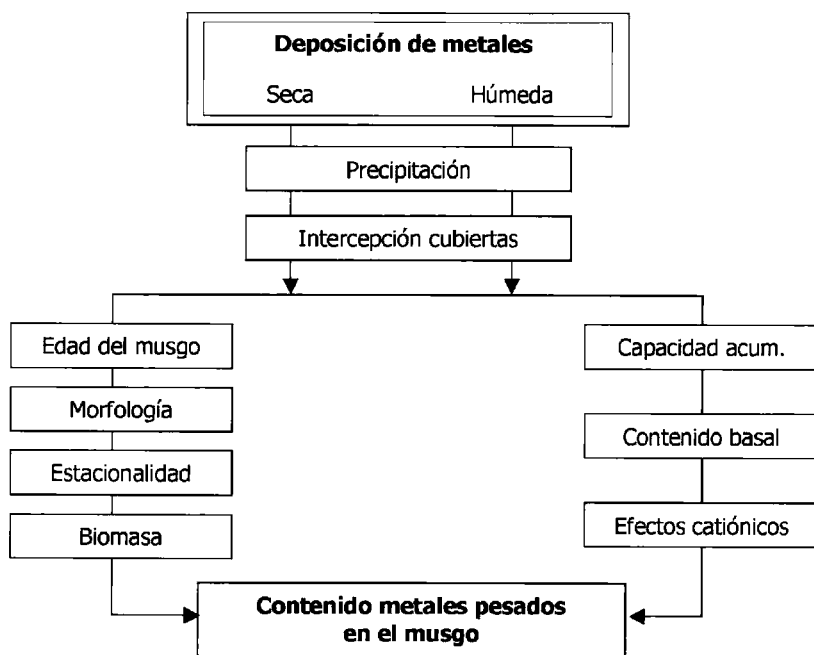


Fig. 5.5. Factores que influyen en el contenido metálico de los musgos terrestres.

- Los tejidos constituyentes de la pared celular tienen numerosos grupos cargados negativamente y actúan como intercambiadores de cationes muy eficientes.
- Su nutrición mineral se obtiene principalmente de la deposición seca y húmeda de partículas y sales solubles. El sustrato posee poca importancia en la nutrición de los musgos; no obstante existen ciertas especies en las que sí se ha probado la existencia de una carga a partir del suelo, por lo que sería menos adecuadas para monitorizar la deposición.
- La formación de nueva biomasa tiene lugar en los extremos apicales, lo que previene cualquier tipo de contacto directo o interacción con el suelo o el sustrato.
- En ciertas especies (p.e. *Hylocomium splendens*) es posible reconocer y separar los incrementos de crecimiento anuales, facilitando la determinación de la edad y el tiempo de exposición del material utilizado.
- Numerosas especies son muy abundantes y están ampliamente distribuidas (cosmopolitas) en diferentes hábitats.

- A causa de la longevidad de la mayoría de los musgos pueden ser usados para integrar la deposición de periodos de tiempo considerables, normalmente 2 - 5 años, dependiendo de la especie y el método de muestreo.
- La falta de vascularización permite hacer historiales de contaminación retrospectivos en función de la sección del ápice analizado.
- Poseen una gran sencillez de manejo y su empleo como biomonitores tiene un coste económico bajo.
- Pueden ser recogidos a lo largo del año sin que existan, en términos generales, diferencias estacionales significativas en la bioconcentración.

Sin embargo, para su buen uso como bioacumuladores es necesario tener en cuenta ciertos aspectos, tales como:

- Las especies más adecuadas para medir la deposición (p.e. musgos epigéicos que forman céspedes) están normalmente ausentes en zonas urbanas o en suelos perturbados por otras causas. Además, a menudo son muy sensibles a algunos metales pesados, así como a concentraciones elevadas de SO_2 en el aire.
- Los musgos autóctonos son menos adecuados cuando se quieren valorar tasas de deposición en periodos de tiempo cortos (menos de un año). Sin embargo, esto puede corregirse empleando trasplantes de material alóctono (biomonitorización activa: trasplantes).
- Puede existir alguna pérdida o adsorción incompleta de algunos metales pesados con comparativamente baja afinidad por los ligandos de los tejidos, al menos bajo condiciones de elevada acidez.
- La selección de los puntos de recogida de las muestras tiene una importancia muy grande en trabajos de biomonitorización detallados. Sin embargo, esto es a causa de la variabilidad local en la deposición más que al método de los musgos *per se*.
- En bosques la posición de los musgos con relación a la cubierta de los árboles puede tener importancia, pues el lavado de las copas puede producir un aumento en la cantidad de elementos que reciben los musgos situados debajo.
- En algunas especies, y en condiciones de laboratorio, se ha observado transferencia de metales, suministrados en zonas basales, a las zonas en crecimiento, lo que no permitiría descartar una carga de elementos desde el sustrato.

- Debe tenerse en cuenta que además de la deposición atmosférica de contaminantes existen otras fuentes potenciales a partir de las cuales el musgo puede acumular elementos: emisiones marinas, polvo en suspensión, aporte de la vegetación superior, etc.

5.2.2.2. Biomonitorización extensiva pasiva (musgos nativos)

La puesta a punto de una red de biomonitorización extensiva de la calidad del aire de una determinada zona o región implica el cumplimiento de una serie de pasos previos (Fig. 5.6.):

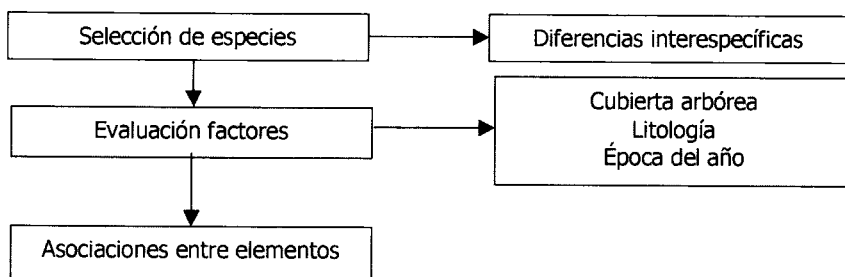


Fig. 5.6. Pasos necesarios para la puesta a punto de una red extensiva de biomonitorización de la calidad del aire mediante musgos terrestres.

Selección de especies e intercalibrado

El establecimiento de una red regional obliga a la realización de una campaña piloto inicial que permitirá comprobar cuáles son las especies más abundantes y con una distribución más amplia en la zona. En Europa los estudios de este tipo emplean habitualmente especies como *Hylocomium splendens* y *Pleurozium schreberi*. Sin embargo, en Galicia éstas apenas están representadas por lo que fueron sustituidas por *Scleropodium purum* (que es muy similar morfológicamente a *P. schreberi*) e *Hypnum cupressiforme*.

Puesto que la futura selección de las estaciones ecológicas (puntos de muestreo) dependerá de la presencia de la especie de musgo empleada, para asegurar una mayor distribución de las mismas se deberán seleccionar, dos o más especies de modo que cuando una de ellas esté ausente en una estación ecológica pueda recogerse la otra. La selección de más de una especie implica la realización de un intercalibrado de las respuestas que éstas tienen a diferentes niveles de contaminación, de modo que cuando una de ellas esté

ausente pueda estimarse cuál sería su respuesta a un determinado nivel de contaminación. Este intercalibrado sólo deberá realizarse para aquellos elementos que se acumulen de forma diferencial en las especies calibradas; en caso de que las concentraciones no sean significativamente diferentes podrán emplearse los datos indistintamente. La Fig. 5.7. muestra las ecuaciones de intercalibrado calculadas para Galicia (Fernández et al., 2000) para las especies *S. purum* e *H. cupressiforme*, para aquellos elementos que mostraban diferencias significativas en la bioacumulación en ambas especies.

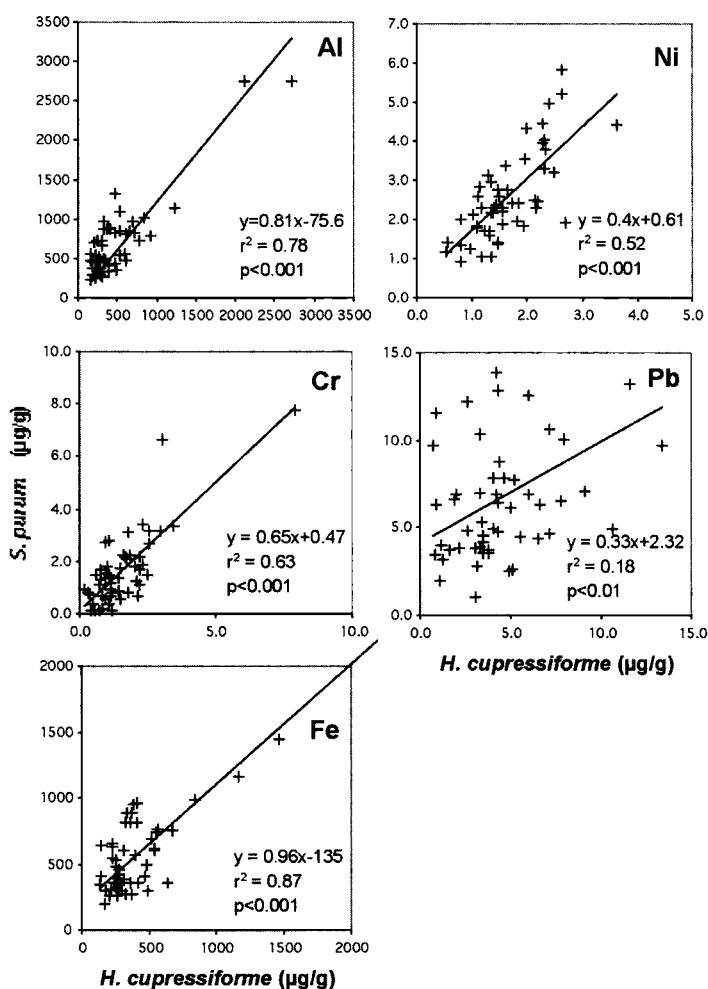


Fig. 5.7. Comparación de las concentraciones y ecuaciones de intercalibrado de elementos determinados en los musgos *Scleropodium purum* e *Hypnum cupressiforme* en Galicia. (Fernández et al. 2000)

Evaluación de los factores que afectan a la acumulación metálica

EFFECTO DE LA COBERTURA ARBÓREA: muchos autores han señalado la importancia que la vegetación circundante tiene sobre la carga de metales en musgos terrestres: las plantas vasculares son una fuente potencial de elementos que, al ser tomados del suelo a través de las raíces, pueden ser transferidos a musgos del sotobosque cercanos a ellas, tanto a partir de tejido vivo como de tejidos muertos; la posición que los musgos ocupen respecto a la cubierta arbórea afectará a la concentración de elementos; la mayor abundancia de la cubierta aérea se traducirá en una disminución en la deposición seca de diversos elementos en los musgos que crecen bajo las copas; el lavado que la lluvia realiza mientras cae al atravesar las ramas, puede alterar significativamente la composición química del agua que cae sobre los musgos.

Sin embargo, el enriquecimiento de elementos que aparece en musgos que crecen bajo árboles frente a la misma especie que crece alejada de éstos, no implica necesariamente una mayor entrada de iones. Este hecho puede reflejar otros factores que están alterando la tasa de crecimiento del musgo. Por ejemplo, se ha señalado la importancia que tiene la humedad relativa del musgo en la carga de metales. Esto sería otro dato que indicaría que el aumento de carga bajo los árboles no tiene por qué deberse simplemente a una mayor entrada de iones por lavado de la cubierta vegetal.

La importancia relativa que tiene la vegetación sobre la composición elemental de los musgos terrestres, no es igual para todos los elementos. Los elementos que se asocian típicamente a este fenómeno son el Mn (que es captado exclusivamente por esta vía) y en menor medida, es decir, que también presentan otras fuentes, están el Cd, Zn, Ca y Mg.

La influencia de la presencia de cubierta arbórea en la bioconcentración de musgos que crecen bajo ella, para las especies *S. purum* e *H. cupressiforme* en Galicia (Fig 5.8), han demostrado que la influencia de la cubierta es muy pequeña y únicamente se han encontrado pequeños enriquecimientos de K en *S. purum* (menores del 10%) localizado bajo los árboles tras el invierno (Fernández & Carballeira, 2002). Para el resto de los nutrientes estudiados (Ca, Mg y Na) y para todos los metales determinados (Al, Cd, Cu, Mn, Pb, etc.) no se encontraron diferencias significativas ni después del invierno ni tras el verano.

ÉPOCA DEL AÑO: en estudios de biomonitorización extensiva con musgos terrestres los muestreos se desarrollan usualmente a lo largo de distintas

épocas del año. En la literatura disponible hay resultados contradictorios respecto a la posible influencia de este hecho en la acumulación de elementos en los musgos. En investigaciones desarrolladas en Suiza y Noruega con *H. splendens* y *P. schreberi*, respectivamente, no se encontraron variaciones estacionales en el contenido corporal de metales. Únicamente se encontraron algunas diferencias para elementos como As, Cu o Zn, que al no ser consistentes entre estaciones ecológicas no pueden ser atribuidas a la estacionalidad, sino a otros factores como el estado fisiológico del musgo. Por el contrario, estudios desarrollados en Alemania con el musgo *Politrichum formosum* durante varios años comprobaron la existencia de variaciones estacionales considerables. Sin embargo, esta especie difiere de *S. purum* o *P. schreberi* pues presenta una estructura celular más diferenciada que le permite tomar agua y nutrientes desde el suelo, lo que permitiría explicar las diferencias.

Estudios realizados en Galicia (Fernández & Carballeira, 2002) han demostrado que en la especie *S. purum* no presentaba diferencias significativas en la bioconcentración estacional de elementos como As, Cd, Cu, Ni, Pb o Zn, a lo largo del año (Fig. 5.9.).

LITOLOGÍA (INFLUENCIA DEL SUBSTRATO): habitualmente se ha considerado que los musgos terrestres adquieren la mayoría de sus nutrientes minerales a partir de la deposición atmosférica, tanto seca como húmeda. Sin embargo, esto no es más que una simplificación de la realidad. Diversos investigadores han concluido que esta fuente potencial de elementos no debe ser excluida de consideración. Estudios realizados en *P. schreberi*, *H. splendens*, *H. cupressiforme* y *Rhytidiadelphus squarrosus*, demuestran que puede existir transferencia de elementos del substrato hacia el musgo que se desarrolla sobre él.

Además, los musgos pueden captar partículas minerales del suelo que han sido arrastradas por el viento. Se ha comprobado que hay elementos que son aportados exclusivamente por esta vía, como son Al, Sc y Ti; el Fe es casi exclusivo pero también existen cargas debidas a la contaminación de la atmósfera. Otros elementos aportados por esta fuente, aunque en menor medida que los anteriores, son Cr, Co y Ni. Por último, existe un aporte menor de As, V y Sr. Mientras que el nivel de As se debe principalmente a la contaminación del aire, y el Sr a los aportes de aerosoles marinos, también pueden proceder del suelo, aunque en menor medida que las otras fuentes citadas.

La acumulación en el musgo de metales procedentes del suelo no es igual en todos los hábitats. En Italia (Bargagli et al., 1995) se comprobó que la concentración de elementos litófilos en muestras de *S. purum* recogidas en

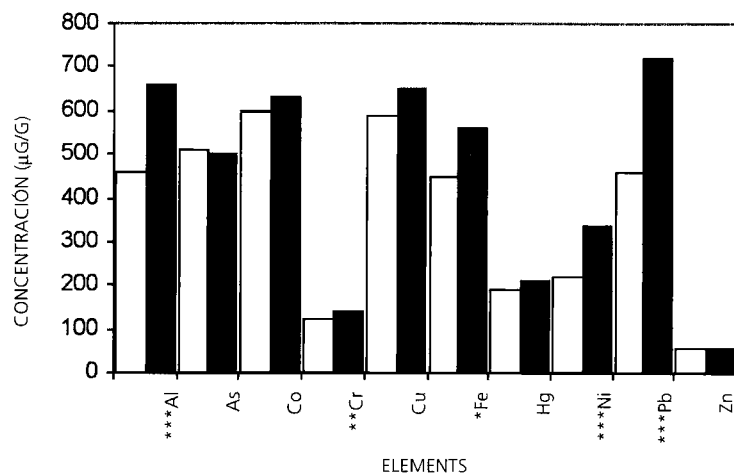


Fig. 5.8. Comparación de las concentraciones medias (µg/g) de varios elementos en *S. purum* y *H. cupressiforme* en áreas bajo cubierta arbórea (□) y áreas abiertas (■) en Galicia (Ca, K, Mg: x10; Cr, Cu, Ni, Pb: x0.01; As, Cd, Co, Hg, Se: x0.001). (op. cit.)

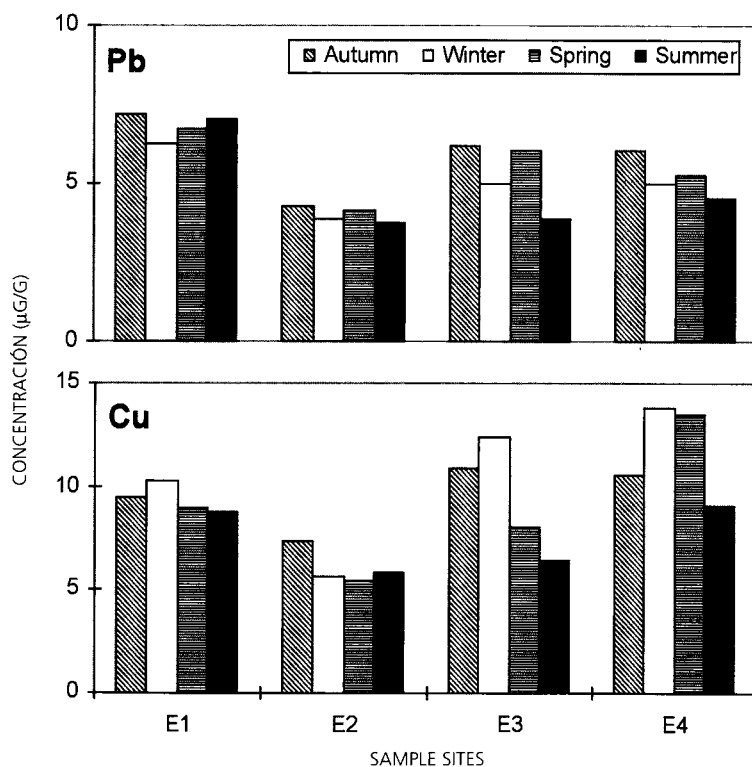


Fig. 5.9. Concentración media (µg/g) de Pb y Cu en *Scleropodium purum* recogido en 4 estaciones ecológicas (E1, E2, E3, E4) de Galicia a lo largo de un año. (Fernández y Carballeira, 2002)

ambientes áridos y secos, es mayor que la encontrada en muestras de la misma especie procedentes de hábitats más húmedos y poco erosionados. También en zonas remotas como la Antártida se ha encontrado que la composición elemental de los musgos *Bryum pseudotriquetrum* y *Sarconeurum glaciale*, es mayor que la de *S. purum* e *H. cupressiforme* recogidos en zonas rurales del sur de Europa. Aunque esto puede deberse a diferencias tanto morfológicas como ecológicas, los investigadores señalan que los musgos de la Antártida retienen mayor cantidad de partículas minerales, y que su composición elemental refleja las características geoquímicas de la región de la que proceden.

En Galicia se ha comprobado (Fernández & Carballeira, 2002) que la litología dominante en las zonas donde se recogen los musgos tiene una débil influencia sobre las concentraciones de algunos elementos, probablemente debido al alto grado de humedad atmosférica. Por ejemplo, en *S. purum* se encontraron valores ligeramente más altos de Ni en las muestras correspondientes a las zonas de esquistos, frente a las muestras recogidas en zonas de pizarras o granitos. Se considera que este efecto es muy limitado frente al de fuentes de contaminación antrópica cuando tengan que realizarse estudios extensivos en la autonomía.

EJEMPLOS DE BIOMONITORIZACIÓN EXTENSIVA CON MUSGOS

GALICIA

Mapas de distribución de contaminantes.- En los años 1995 y 1997 se desarrollaron en Galicia las primeras campañas extensivas de muestreo de musgos (Fernández et al., 2000). Se seleccionaron 75 estaciones ecológicas repartidas por toda la Comunidad Autónoma, con una densidad de muestras mayor en la zona N-NO por ser en ésta donde se localizaban los principales focos contaminantes de la región (Fig. 5.10.). En las muestras recogidas, de las especies *S. purum* e *H. cupressiforme*, se determinaron los contenidos de los siguientes elementos: Al, As, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, K, Mg, Mn, Na, Ni, Pb, Se y Zn, realizándose posteriormente mapas de distribución de cada elemento. Las cartografías obtenidas permitieron confirmar el efecto de los focos contaminantes conocidos *a priori*, así como la extensión de las zonas afectadas por sus emisiones. Además los mapas pusieron en evidencia la existencia de fuentes de contaminantes no conocidas. La Fig. 5.11. muestra los mapas obtenidos para As, Cu, Hg y Ni en la campaña de 1997. Como se puede comprobar, elementos como Hg que están ligados a las emisiones de

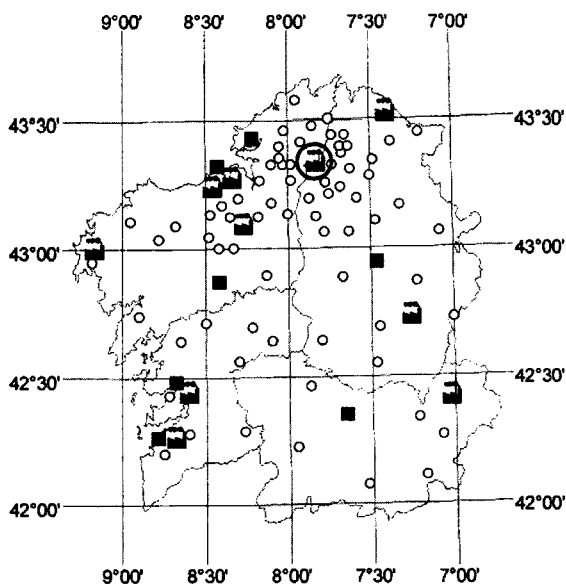


Fig. 5.10. Localización de las estaciones ecológicas de musgos en Galicia (campanas de 1995 y 1997). Se indica la localización de las principales industrias y núcleos de población. (Fernández et al. 2000)

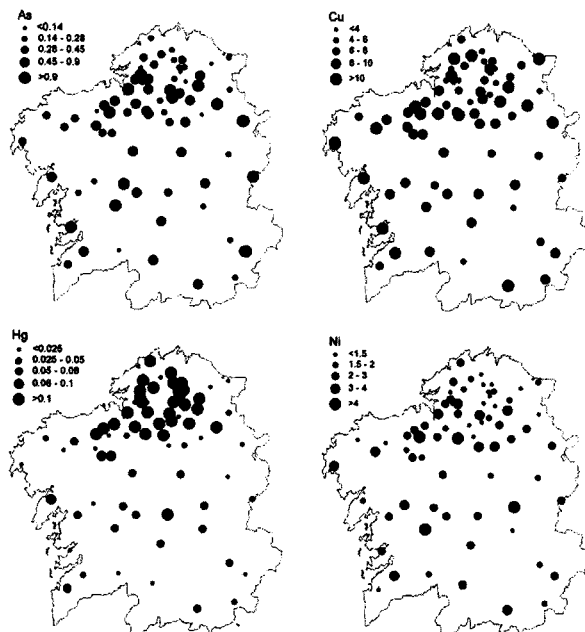


Fig. 5.11. Mapas de distribución de As, Cu, Hg y Ni (µg/g) en Galicia realizados a partir de los datos de la campaña de biomonitorización extensiva de 1997. (op. cit)

centrales térmicas de generación de energía, presentan los niveles más altos en el norte de la región donde se localizan dos importantes centrales térmicas de combustión de carbón. En el caso de As, además de poner en evidencia la emisión de centrales térmicas, su distribución en zonas rurales muestra su relación con actividades agrícolas (pesticidas).

NIVELES DE FONDO Y FACTORES DE CONTAMINACIÓN: para poder evaluar si las concentraciones corporales observadas pueden considerarse contaminación o son niveles naturales, es necesario disponer de los niveles de fondo para la región. Por ello, con los datos de las dos campañas se procedió a la estima de dichos valores para las dos especies empleadas y se evaluó la posible influencia del substrato sobre el que se desarrollaba el musgo (la litología de la zona) sobre los niveles de fondo, comprobándose que no influían de forma significativa (Carballeira et al., 2002). Los valores obtenidos se recogen en la Tabla 5.1.

A partir de los niveles de fondo se calcularon los factores de contaminación (FC) para cada elemento en cada una de las muestras y con el empleo de una escala de interpretación de los FC, adaptada específicamente para el tipo de proceso que se estaba estudiando, se calificó la situación de cada estación ecológica para todos los elementos (Fernández & Carballeira, 2001). Esta escala es: $CF < 1$ no existe contaminación; 1-2 sospecha de contaminación;

	<i>S. purum</i>	<i>H. cupressiforme</i>
Al	270	373
As	0.13	0.20
Ca	2407	2529
Cd	0.08	0.10
Co	0.23	0.21
Cu	4.7	5.7
Cr	0.80	0.86
Fe	286	313
Hg	0.05	0.03
K	3739	3100
Mg	1795	1424
Mn	171	90
Na	311	188
Ni	1.2	2.4
Pb	2.2	4.5
Se	0.41	0.72
Zn	43	40

Tabla 5.1. Niveles de fondo ($\mu\text{g/g}$) para las especies *Scleropodium purum* e *Hypnum cupressiforme* en Galicia. (Carballeira et al. 2000)

2-3.5 contaminación ligera; 3.5-8 moderada; 8-27 severa y >27 extrema. Después de transformar los datos brutos en FC se procedió a su cartografía. La Fig. 5.12. muestra los mapas correspondientes a Hg y Pb (campana de 1995) para la especie *S. purum*; en los puntos en los que no estaba presente esta especie los datos de *H. cupressiforme* se transformaron empleando ecuaciones de intercalibrado.

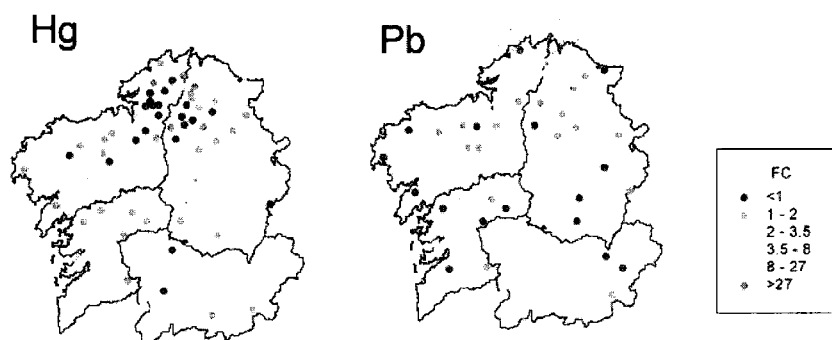


Fig. 5.12. Factores de Contaminación de Hg y Pb para muestras de musgos recogidas en Galicia en 1995. (op. cit.)

ÍNDICES DE CONTAMINACIÓN: (ÍNDICE DE RIESGO ECOLÓGICO POTENCIAL): Los índices de contaminación tienen la ventaja de poder resumir información de diferentes elementos en un único valor numérico, que en muchos casos puede ser interpretado con la ayuda de una escala específica.

Existen índices de contaminación que tienen en cuenta la toxicidad de los elementos, de modo que, además de permitir resumir la información, aportan datos adicionales. Entre ellos, el índice de Riesgo Ecológico Potencial fue seleccionado pues en su cálculo además del valor de los FC de varios elementos tiene en cuenta su toxicidad y se dispone de una escala de interpretación (Fernández, 1999). Puesto que este índice se había propuesto para sedimentos y para una serie de elementos determinados, fue necesario adaptarlo antes de aplicarlo. Una vez optimizado fue posible calcular el valor correspondiente para cada estación ecológica y posteriormente se cartografiaron dichos valores. La escala de interpretación empleada fue la siguiente: índice <100 riesgo bajo; 100-250 moderado; 250-550 alto y >550 muy alto. La Fig. 5.13. muestra el mapa correspondiente a los datos de la campana de

1997, siendo As, Co, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb y Zn los elementos que se emplearon para su cálculo. El mapa obtenido permite comprobar cómo, en términos generales, el riesgo es bajo en toda Galicia, excepto en zonas muy pobladas e industrializadas donde es moderado. Únicamente en una pequeña área del NO de la región se encuentra una situación de riesgo alto.

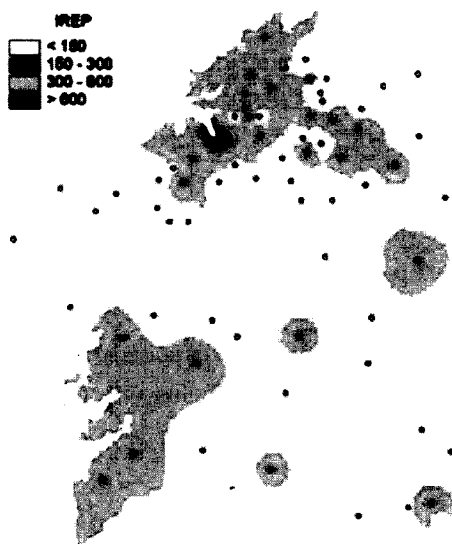


Fig. 5.13. Valor del Índice de Riesgo Ecológico Potencial (IREP) en Galicia en función de las concentraciones metálicas corporales de musgos terrestres. Datos de 1997. (Fernández, 1999).

RED EUROPEA DE BIOMONITORIZACIÓN CON MUSGOS TERRESTRES ANTECEDENTES HISTÓRICOS

El coordinador general de la Red Europea es el Dr. Åke Rühling, profesor de la Universidad de Lund (Suecia) y pionero en el empleo de los musgos como bioindicadores de la calidad del aire. Este investigador, junto a otros, realizó el primer estudio supranacional de estas características, en concreto en un proyecto en el que participaban Suecia y Dinamarca. Varios años después, en 1985, se llevó a cabo un trabajo similar en el marco del Nordic Council of Ministers (NORD), un órgano de cooperación entre países nórdicos y que forman Dinamarca, Islandia, Suecia y Noruega. A partir de este estudio el NORD actuó como impulsor de siguientes campañas, costeando únicamente la realización y edición del informe final, co-

respondiendo a cada país en particular la financiación de los muestreos y la analítica.

Entre 1990 y 1992 se llevó a cabo un nuevo estudio en el que participaban, además de los países nórdicos, Lituania, Letonia, Estonia y el noroeste de Rusia. Paralelamente, en esos años también se realizaron muestreos en otros países del centro y sur de Europa, cuyos datos junto con los de los países antes citados se incluyeron en un trabajo posterior. En este último informe existió una participación española testimonial, que consistió en la recogida de 12 muestras a lo largo de un recorrido entre las ciudades de Salamanca y Barcelona, que posteriormente fueron analizadas en la Universidad de Lund.

Los principales objetivos que tiene la red de biomonitorización son:

1. Caracterizar cualitativa y cuantitativamente la deposición regional de metales pesados en Europa.
2. Indicar la localización de importantes fuentes emisoras de metales pesados así como la extensión de áreas especialmente contaminadas.
3. Realizar mapas de los patrones de deposición regionales.
4. Facilitar la comprensión de la contaminación transfronteriza entre los distintos estados europeos.
5. Presentar comparaciones retrospectivas con estudios previos.
6. Estimar la deposición atmosférica de metales pesados a partir de la concentración de los metales en los musgos.

1ª CAMPAÑA NACIONAL (1995-1996)

Entre los años 1995 y 1996 se realizó la, hasta el momento, última campaña de muestreo de la Red Europea (Rühling & Steinnes, 1998). En esta ocasión España participó ya no de forma testimonial, sino realizando un muestreo en 180 localidades pertenecientes a 34 provincias. En el proyecto participaron 10 grupos de investigación de diferentes Universidades españolas, que fueron coordinados por el grupo de Ecotoxicología de la Universidad de Santiago de Compostela, y que, además, fue el responsable del análisis de todas las muestras recogidas. Una vez listos los mapas preeliminares, el grupo de Ecotoxicología se encargó de estudiar la distribución de los elementos en España, aportando comentarios que permitiesen su interpretación, y que finalmente serían incluidos en el informe final europeo que se publicó en 1998 bajo el título: «Atmospheric Heavy Metal Deposition in Europe 1995-1996».

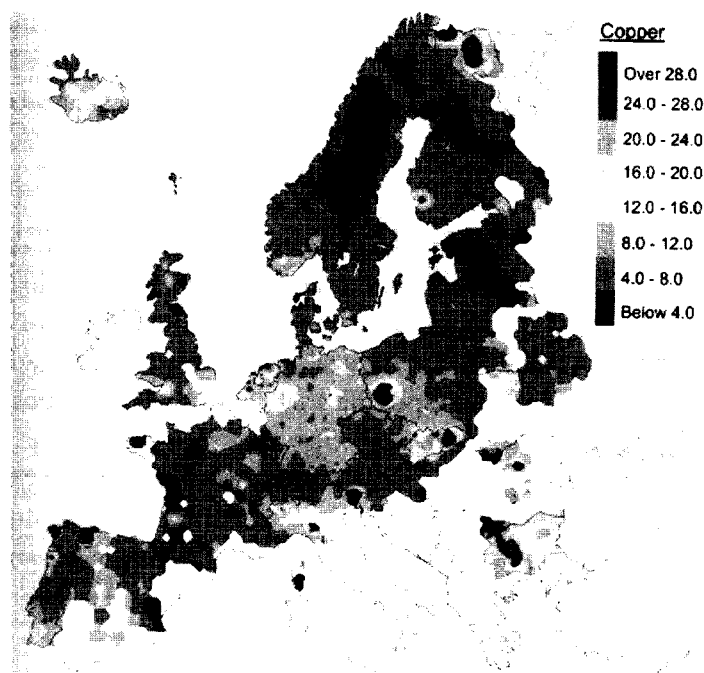


Fig. 5.14. Concentraciones corporales de cobre ($\mu\text{g/g}$) en musgos terrestres. Datos tomados del informe «Atmospheric Heavy Metal Deposition in Europe 1995-1996». (Fernández, 1995). (Rühling and Steinnes, 1998).

La Fig. 5.14. muestra el mapa correspondiente al Cu que fue incluido en el informe. Como puede verse, los niveles de Cu en Europa son generalmente bajos, también en España, localizándose las mayores concentraciones en zonas de Rusia y de la antigua Europa del Este donde la existencia de una tecnología menos desarrollada provoca unas mayores emisiones de este, y otros, metales a la atmósfera.

5.2.2.3. Biomonitorización retrospectiva con musgos terrestres

Al igual que ocurre con los estudios dendrocronológicos en árboles, el análisis del contenido corporal de contaminantes en los musgos terrestres permite disponer de información sobre en que momento se produjo la deposición de un contaminante, si se incrementó o redujo, facilitando así, en muchos casos, la interpretación de los resultados. Esto se debe a las particulares características fisiológicas que tienen los musgos terrestres que hacen que puedan vivir durante largos periodos de tiempo, lo que permite realizar

estudios retrospectivos. Estos estudios pueden realizarse a distintas escalas temporales, es decir, pueden centrarse en procesos que tuvieron lugar poco tiempo atrás (meses o pocos años) o bien estudiar procesos a una escala mayor (siglos o milenios).

ESTUDIOS A CORTO PLAZO

Diversos estudios previos han comprobado la relación que existe entre la edad de distintas especies de musgo y, por ejemplo, su morfología. Para la especie *H. cupressiforme* se concluyó, en estudios realizados en el N de Europa, que toda la parte del tallo que mostraba color verde (eliminadas las partes marrones, envejecidas) correspondía a un periodo de 2-3 años. En otras especies, entre ellas *H. splendens*, el tipo de crecimiento que presenta, emitiendo nuevas ramificaciones cada año, permite conocer exactamente la edad de cada sección del tallo. De este modo, analizando distintas segmentos del ápice o partes del tallo, se podrá conocer la evolución de la deposición de contaminantes en los últimos meses o años.

ESTUDIOS A LARGO PLAZO

En función de cómo crecen ciertos tipos de musgo, se acumulan formando turberas, es posible realizar estudios retrospectivos. Diversas especies de musgo, por ejemplo las del género *Sphagnum*, crecen de forma que los tejidos nuevos se van disponiendo sobre los tejidos viejos, de modo que a medida que pasa el tiempo se van estratificando los restos orgánicos. Así, es posible relacionar la edad del estrato con la profundidad que ocupa en el perfil de la turbera.

Cuando se quiere realizar un estudio de estas características es imprescindible datar cada uno de los estratos, de modo que al analizar posteriormente el contenido metálico de cada uno de ellos se sepa en qué momento se produjo la deposición. Para la datación habitualmente se emplean técnicas basadas en el contenido de radioisótopos de carbono de los distintos estratos. Una vez se conoce la cantidad de contaminante que se depositó en un determinado momento, es posible intentar relacionar dicha deposición con, por ejemplo, el inicio de ciertas actividades industriales, agrícolas, etc.

En 1997 se realizó en Galicia un estudio (Martínez-Cortizas et al., 1997) de estas características en una turbera localizada en una cumbre – para eliminar la deposición de materiales por erosión de la ladera – en Penido Vello, al N de la provincia de Lugo. Esta turbera tiene una pro-

fundidad de hasta 3.5 m, aunque en el estudio se descartó el primer metro por corresponder a una exposición reciente; los 2.5 m restantes representan 4000 años de acumulación, oscilando desde los 180 ± 50 años a 15 cm de profundidad hasta 4070 ± 50 años a 245 cm. El perfil se separó en capas de 2 cm en el primer metro y de 5 cm en el resto, analizándose en cada una de ellas el contenido de distintos elementos, entre ellos, Cd, Pb y Zn. En la Fig. 5.15. se observa la relación que existía entre la edad del perfil y el contenido de estos metales. Este contenido está expresado como un factor de enriquecimiento respecto a las concentraciones naturales de un elemento poco afectado por la actividad humana, en este caso Al. El estudio de los perfiles obtenidos permite conocer en qué momento se produjeron cambios en la deposición de estos metales, así cómo relacionarlos (teniendo en cuenta cuándo tuvieron lugar) con hechos históricos

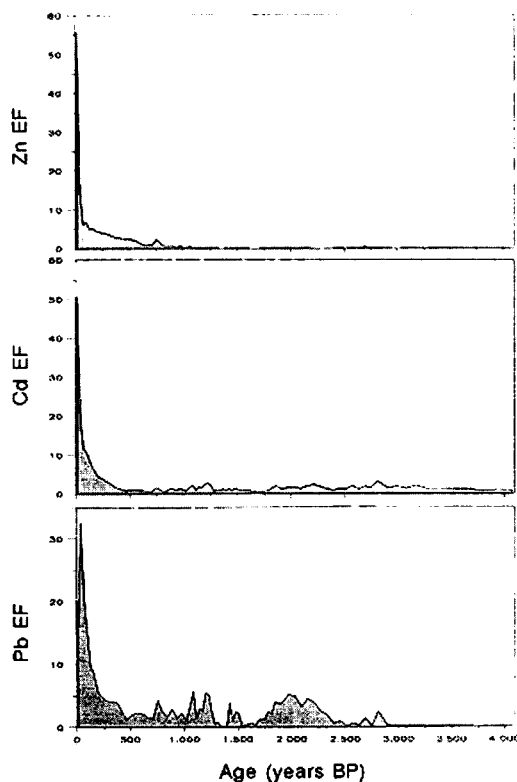


Fig. 5.15. Factores de enriquecimiento para Pb, Cd y Zn frente a la edad de la turbera de Penido Vello (Lugo, España). (Tomado de Martínez-Cortizas et al., 1997).

conocidos. Por ejemplo, para Pb los picos del perfil datados entre 2500 y 2000 se han relacionado con el desarrollo de la minería de Pb en la época Romana, mientras que la disminución que se observa casi en la actualidad posiblemente se deba al aumento del consumo de gasolina sin Pb.

5.2.3. PLANTAS VASCULARES

Las plantas vasculares también pueden ser utilizadas como biomonitores de la contaminación atmosférica, o mejor de la calidad del medio ya que en ellas puede influir claramente las condiciones edáficas, estén alteradas o no.

Entre las ventajas en el uso de las plantas vasculares es su relativamente amplia distribución y abundancia y su interés ecológico y comercial. Se pueden utilizar por su capacidad de bioacumulación, por su sensibilidad o por presentar ambas propiedades (Tabla 5.2.).

Los primeros síntomas que muestran las plantas vasculares como consecuencia de la contaminación -aunque pueden también ser debidos a estrés derivado de condiciones naturales, como sequía y frío, o a patógenos- suele ser la decoloración y necrosis en hojas y acículas, seguida de la defoliación más o menos aguda de la copa.

Un ejemplo de este tipo lo tenemos en el efecto del flúor sobre plantaciones de *Eucalyptus globulus* situadas en el entorno de una fábrica de aluminio por electrodeposición (San Ciprián, Lugo). En primer lugar se observó

Especie	Contaminante				
	SO ₂	FH	CIH	Foto-oxidantes	Metales
<i>Abies alba</i>	S,A	S			A
<i>Acer platanoides</i>					A
<i>Alnus glutinosa</i>		A			
<i>Betula pendula</i>			S		
<i>Fagus sylvatica</i>			A		A
<i>Picea abies</i>	S,A	S,A	A	S	A
<i>Pinus sylvestris</i>	S	S			
<i>Prunus spinosa</i>			S		
<i>Quercus robur</i>					A
<i>Sambucus nigra</i>		S			A
<i>Taxus bacata</i>					A
<i>Tilia tomentosa</i>		S	S		S

Tabla 5.2. Árboles bioindicadores (A= acumulador; S =sensible) (tomado de Ederra, 1996).

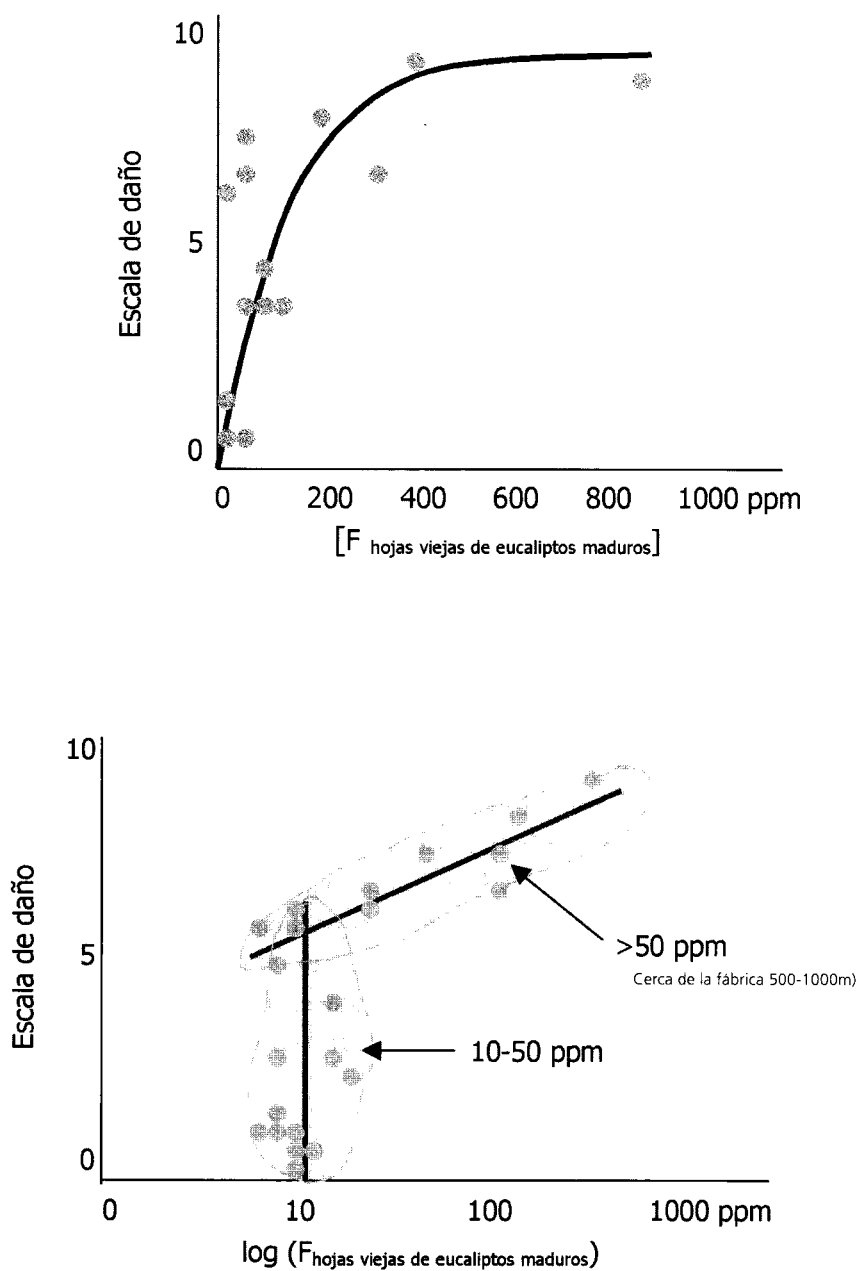


Fig. 5.16. Relación entre daño (escala 0-10) y concentración de flúor en hojas viejas de *Eucalyptus globulus* maduros en el entorno de una fábrica de aluminio por electrodeposición (Alcoa-Europe, San Ciprián, Lugo). (Datos sin publicar Grupo de Ecotoxicología,usc)

que existía una alta correlación entre las bioconcentraciones de FH en hojas jóvenes y viejas tanto de eucaliptos jóvenes como maduros, y también entre hojas lavadas (flúor intracelular) y no lavadas ($F_{\text{hojas lavadas}} = 0,69 F_{\text{hojas NO lavadas}}$, para $n=11$). El daño en eucalipto se valoró *de visu* en una escala de 0-10. Dicha valoración incluye: el % de superficie dañada por necrosis; clorosis (apical, marginal, venal); bordes alterados (aserrados, jirones, etc.); deformaciones, abombamiento, ensortijamiento y grado de defoliación. Todo ello se acompaña con el grado de enrojecimiento (antocianinos) en tres escalas (AA= color rojo severo; sA= ligero; o=sin color rojo).

Cuando las concentraciones de flúor en hojas eran superiores a 50 ppm se relacionan fuertemente (Fig. 5.16.) con la observación de daños claros (nivel de daño >6). Sin embargo, cuando la concentración de flúor en las hojas variaba entre 10-50 ppm los daños observados son muy variables (entre 0-6), dependiendo de la interacción con otros estresores ambientales (sequía, ozono, nutrición, etc.).

En la literatura científica la utilización de plantas superiores como biomonitores de la calidad de la aire es mucho menos extensa que la de briófitos o líquenes. La causa principal es que las plantas superiores poseen un sistema radicular y un sistema de conducción bien desarrollados, de forma que los elementos de sus tejidos pueden provenir tanto del suelo como de la deposición atmosférica. Este problema de translocación en el interior de los árboles genera grandes dudas a la hora de la interpretación de las cargas de contaminantes en los tejidos de los árboles, al no poder reconocer su fuente; de este modo es difícil distinguir cuando las concentraciones provienen del suelo o de la atmósfera y cuando son contaminaciones o estamos cercanos a los niveles de fondo. Además hay que recordar que el sistema edáfico es elevadamente complejo y usualmente actúa como un tamponador de las cargas contaminantes.

Entre otros inconvenientes están:

1. Que las cargas metálicas encontradas en fanerógamas son muy inferiores a las encontradas en briófitos (con diferencias de órdenes de magnitud).
2. Las especies arbóreas son menos ubiqüistas que las briófitas de forma que en algunos casos será completamente imposible encontrarlas.

A continuación describimos un ejemplo comparativo entre la eficacia biomonitora de musgos frente a fanerógamas.

EJEMPLO: UTILIZACIÓN DE MUSGO, ACÍCULAS DE PINO Y HOJAS DE ROBLE PARA LA BIOMONITORIZACIÓN DE METALES PESADOS EN GALICIA

En 1999 se procedió a una campaña de muestreo (Aboal et al., 2001), de acuerdo con un sistema estratificado con base en la representación de cuadrículas de 20 x 20 km y zonas bioclimáticas de Galicia, priorizando la colección de las muestras en el interior de Espacios Naturales Protegidos. Los briófitos (*Scleropodium purum* e *Hypnum cupressiforme*) aparecieron en el 100% de las estaciones muestreadas (*S. purum* estaba presente en el 80% de las estaciones e *H. cupressiforme* en el 20%), mientras que las fanerógamas lo hacían en un máximo del 93% (*Q. robur* en el 93% y *P. pinaster* en el 76%). Aquí se puso de manifiesto el problema de falta de ubicuidad de las fanerógamas, en este ejemplo, y como se comprueba en la Fig. 5.17., en algunas zonas interiores, donde *Q. robur* es sustituida por *Q. pyrenaica* y *Q. petraea*, esta no apareció. En el caso del *P. pinaster*, al ser una especie de plantaciones, sólo aparecerá allí donde estas tengan lugar, estando ligada su distribución a condicionantes forestales. Otro de los problemas con los que cuenta el *Q. robur* es su posible hibridación con otras especies del mismo género. De este modo ni el roble, ni el pino, a causa de las limitaciones de su población, parecen *a priori* adecuados bioindicadores extensivos del área de estudio.

Además, se ha podido comprobar la existencia de traslocación desde el suelo a las hojas de diversos metales pesados. De esta forma en litologías a las que les corresponden elevadas concentraciones de los mismos (eclogitas y serpentinitas), se encontraron los mayores niveles de estos metales. Por ello es necesario establecer niveles de fondo ligados a las litologías, para poder interpretar de una manera más adecuada los resultados obtenidos.

Como se comentó anteriormente, otro de los problemas son las bajas concentraciones de las fanerógamas, lo que en nuestro caso (Tabla 5.3.) nos obligó a realizar las determinaciones de algunos metales mediante espectrofotometría de absorción atómica con cámara de grafito, dado que los niveles de las muestras eran inferiores a los límites de cuantificación de AAS con llama. Como se puede observar los metales traza se encuentra generalmente en mayor concentración siempre en los musgos frente a las hojas de roble o pino.

Sin embargo, una ventaja de las fanerógamas es que bien las hojas o bien los brotes de acículas, poseen un patrón de desarrollo vegetativo bien conocido. En los briófitos esto es mucho más difícil, pudiendo únicamente estimarse de forma aproximada la duración de la exposición, en función de la longitud del ápice analizado.

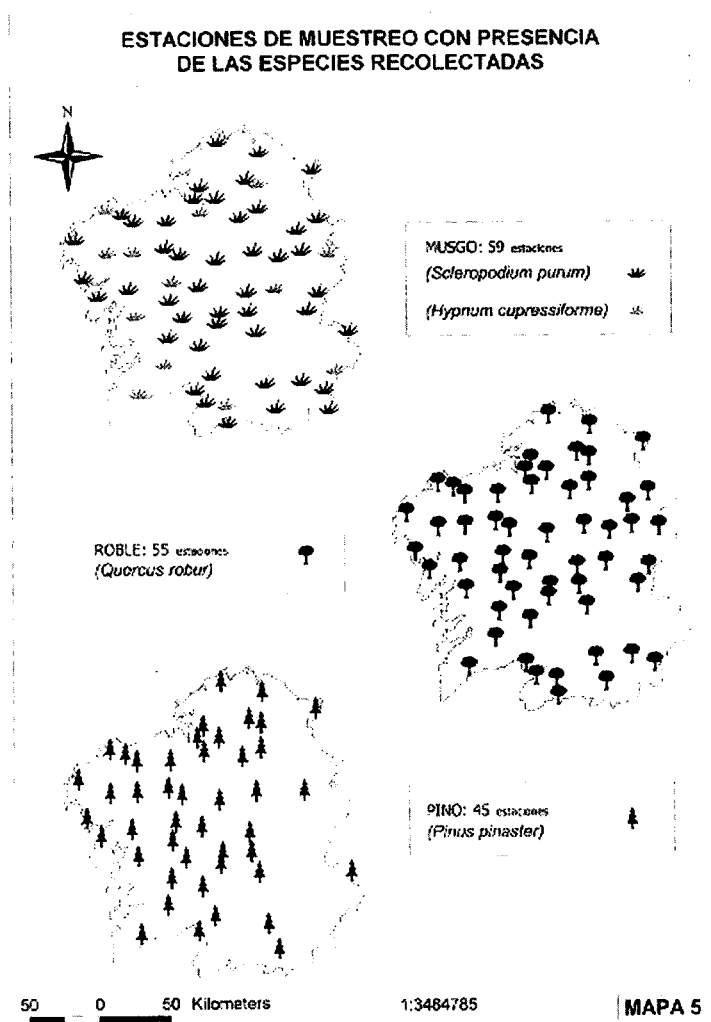


Fig. 5.17. Localizaciones de las estaciones de muestreo de cada especie. (Alval et al, 2001)

	Hg	Cr	Cd	Pb	Al	As	Ca	Cu	Fe	Mg	Mn	Ni	Se	Zn
Musgo	0.036	1.48	0.09	1.57	476.08	0.711	2774.80	6.28	576.33	2097.59	267.63	13.92	180.29	28.07
Pino	0.012	0.18	0.08	0.05	64.79	0.252	652.96	3.52	23.43	1009.36	171.01	3.10	12.25	18.22
Roble	0.028	0.07	0.14	0.14	31.92	0.191	4532.84	6.40	69.71	1606.43	304.39	2.33	27.23	11.41

Tabla 5.3. Concentraciones corporales ($\mu\text{g/g}$) medias para cada una de las especies de fanerógamas y para los briófitos estudiados. (op. cit.)

5.2.3.1. Cortezas de los árboles

También se pueden emplear las cortezas de los árboles para estudiar la contaminación. Simplemente la medida del pH de lixiviados de cortezas ha sido un método, muy utilizado, de sondeo de deposiciones ácidas. Pero en las cortezas también se pueden analizar todo tipo de contaminantes aunque hay que tener en cuenta que:

- Las características de las cortezas varían con la especie y con la edad del árbol cambiando su capacidad de captación.
- Excepto en las especies de corteza caediza, como *Platanus*, *Eucaliptus* y algunas coníferas, la corteza refleja la acumulación de contaminantes durante un tiempo muy largo, incluso toda la vida del árbol. Ahora bien hay que tener en cuenta que los contaminantes pueden ser lavados.
- Algunos contaminantes, como metales, de la corteza pueden provenir del aire o por absorción del suelo.
- Para estudios comparativos, espaciales o temporales, es necesario homogeneizar el tipo de muestra: especie; estado sano, edad (individuos entre 40-50 cm de diámetro); altura (1-1.5 m); orientación (igual en todos los árboles); exposición (libres de obstáculos); grosor (igual, entre 2-3 mm); época (principio de primavera o final del otoño); índice de calidad de la parcela; y el esfuerzo de muestreo (igual número de árboles y de alícuotas por árbol). En zonas poco contaminadas las cortezas pueden estar cubiertas con epífitos (líquenes y briófitos) que pueden enmascarar las condiciones de exposición a los contaminantes.

Los niveles de concentración de los contaminantes en las cortezas pueden ser muy variables dependiendo de la especie, la localidad y el tipo de contaminante. Así, las concentraciones de algunos metales pesados en cortezas de varias especies de árboles fueron muy diferentes (Tabla 5.4.).

Especie	Pb	Cu	Zn	Cd
Roble (rural-industrial)	212-392	14-721	38-72	0.4-1.8
Fresno (rural-minero)	9-177	16-120	60-177	0.08-0.3
Haya (sitio limpio)	6	21	110	0.25
Olmo (entorno acería)	1720-3400	—	2250-12600	93-163
Varias caducifolias (parques urbanos)	240-680	—	—	—

Tabla 5.4. Rangos de concentración de varios metales en cortezas de árboles (ug/g.ps) observadas en localizaciones con diferentes niveles de contaminación.

Por último, en Izmir-Turquía (Türkan et al., 1995) se realizó un estudio comparativo de la capacidad de bioconcentración de seis metales (Pb, Cd, Zn, Cr y Mn) entre el musgo *H. cupressiforme* y las cortezas de *Pinus brutia*, en el entorno de una acería. Se observó que las concentraciones metálicas en el musgo fueron muy superiores al pino, indicando además que el musgo era más útil para la monitorización por su capacidad de discernir estados de contaminación en un radio de 2,5 km.

5.2.3.2. Estudios retrospectivos en árboles

Los árboles también permiten realizar biomonitorizaciones hacia el pasado, mediante el estudio de los anillos del crecimiento del tronco. Los anillos son archivos históricos de las condiciones ambientales de cuando se formaron. Mediante estudios dendrocronológicos se puede establecer las situaciones de estrés padecidas, fueran debidas a factores naturales o debido a la actividad humana.

Tanto los testigos de especies arbóreas (extraídos por medio de una barena), como las trozas de árboles, permiten el posterior análisis químico de los anillos de crecimiento, los cuales se pueden datar anualmente para posteriormente obtener una cronología de la acumulación de contaminantes. Esta práctica se denomina dendroquímica.

En algunas ocasiones se han encontrado claras relaciones entre la deposición atmosférica de determinados metales pesados y la concentración correspondiente de los mismos en los anillos de los árboles, para cada uno de los períodos de tiempo analizados (usualmente años, aunque en determinados estudios se utilizan grupos de años consecutivos, p.e 3, 5 o 10 años).

La clara ventaja de la dendroquímica sobre otro tipo de técnicas con biomonitores es la existencia de cronologías, y el conocimiento de los niveles preindustriales, que nos sirven de punto de partida para valorar la contaminación posterior. No obstante existe un serio problema metodológico, que de momento, pone en cuarentena la utilización de la dendroquímica como una herramienta adecuada para la biomonitorización; el problema es la traslocación radial a lo largo del xilema de los contaminantes.

Actualmente, se recomiendan para este tipo de estudios especies que minimicen la translocación radial de elementos para tener éxito en la biomonitorización con dendroanálisis químico. Estas características se relacionan con el tipo de hábitat, el tipo de xilema (humedad, permeabilidad, y naturaleza de la transición entre floema y xilema), y los elementos a estudiar.

Al respecto de la implantación de esta técnica en Galicia -si en el futuro el debate científico abierto sobre la translocación concluye con la validación de la técnica- la especie propuesta sería el *Quercus robur*, debido principalmente: i) su área de distribución por Galicia; ii) su distribución por el resto de Europa, que permitiría la intercomparabilidad de las series y; iii) que la práctica totalidad de las investigaciones realizadas en nuestro continente han sido sobre esta especie. Para realizar este tipo de estudios es de vital importancia la elección de un diámetro normal mínimo de los árboles, que usualmente supera los 60 cm, y el muestreo de los árboles en cubiertas cerradas y con buen estado de salud.

5.2.4. Animales

También los animales pueden ser utilizados como biomonitores por acumulación de la calidad del medio. El principal inconveniente para su utilización exclusiva en la evaluación de la calidad del aire es la difícil segregación, en la mayoría de los casos, entre el contaminante bioconcentrado vía atmosférica (inhalación, absorción cutánea) del biomagnificado (vía alimentaria).

5.2.4.1. Animales salvajes

Desde los años sesenta se han realizado una buena cantidad de trabajos con el ánimo de explicar los cambios en los niveles de polución en animales terrestres. La mayoría de los trabajos se centran en el uso de pequeños mamíferos y aves. En muchos casos es necesario sacrificar a los animales utilizados, con las implicaciones ecológicas y morales que esto puede traer, sobre todo si se trata de especies con algún grado de protección oficial. Existen métodos de estudio que evitan la muerte de los animales utilizados, como son el uso de plumas extraídas de aves vivas, cornamentas de ungulados que son mudadas periódicamente, empleo de cadáveres que derivan de Centros de Recuperación de fauna salvaje, etc.

MATERIAL BIOLÓGICO CON QUERATINA

PLUMAS

Fundamentalmente, las aves han sido las más utilizadas como monitores de contaminación en multitud de ambientes, sobre todo para el control de las emisiones a la atmósfera de metales pesados, PCBs y pesticidas. Existen una serie de ventajas y desventajas en cuanto al uso de las aves como biomonitores en control de contaminación ambiental. Como DESVENTAJAS podemos citar:

- La alta movilidad de estos animales. Este factor hace que estos animales integren contaminantes procedentes de un área extensa lo que hace que las áreas de control estén peor definidas.
- Elevada longevidad. Las cargas de contaminantes pueden, a lo largo del tiempo de vida del ave, integrarse en alguna vía metabólica compleja que enmascare el estado actual de la situación ambiental.
- Fisiología compleja. La existencia de mecanismos de detoxificación, para determinados contaminantes, hace que estos organismos posean una mejor regulación de los contaminantes que los invertebrados. Esto implica distorsiones importantes en los estudios comparativos entre niveles tróficos.
- Dificultad de muestreo. Debido a los hábitos de las aves el muestreo de ejemplares vivos es complicado, y como hemos comentado sacrificar aves para estos estudios puede ser contraproducente desde el punto de vista de conservación, además de tener implicaciones éticas negativas.
- Muda de las plumas. Algunos contaminantes se eliminan del torrente sanguíneo fijándose a la estructura queratínica de la pluma, por lo que una pluma para ser representativa de la concentración de contaminante tiene que estar completamente crecida; si una pluma se encuentra en crecimiento no puede ser usada para los análisis puesto que el proceso de detoxificación está aún incompleto, es decir, no todo el contaminante ha pasado a la pluma. Esto es algo a tener en cuenta especialmente con las plumas de revestimiento, dado que mudan muchas al mismo tiempo. De esta manera y en función del estado de muda del ave habrá más o menos muestra disponible. Por lo tanto, en este punto, se habrá de tener en cuenta, entre otras cosas, el tipo de muda (si es o no regular y si todas las plumas son mudadas o no en un solo período de muda) y la dinámica de ésta (cuáles son los centros de muda en las alas y a qué ritmo y en que dirección se realiza la muda). Esto ayudaría a mejorar y facilitar la interpretación de las concentraciones de contaminantes encontradas.

Entre las VENTAJAS podemos enumerar las que siguen:

- Menor esfuerzo de muestreo por unidad de área. Las aves pueden reflejar los niveles de contaminación atmosférica en todo el ecosistema o en un área extensa.
- La posición que ocupan las aves en la cadena trófica hace que éstas reflejen mucho mejor los riesgos de contaminación para el hombre que la mayor parte de los invertebrados empleados a tal efecto.

- El proceso de biomagnificación hace que los predadores acumulen una mayor concentración de compuestos lipofílicos (i.e. pesticidas organoclorados) que las especies pertenecientes a niveles tróficos inferiores. El uso de aves rapaces para este tipo de contaminantes es muy aconsejado.
- El hecho de que las aves sean animales considerablemente populares entre la gente (en mayor o menor medida en función del lugar) hace que tengan un mayor grado de atención que los invertebrados u otros grupos de organismos. Esto promueve que las aves aparezcan en un mayor número de estudios y por tanto haya más información disponible sobre ellas en la bibliografía.
- La utilización de plumas en vez de tejidos evita el sacrificio de aves vivas, es decir, es un método no-destructivo.

Las plumas de las aves son actualmente uno de los materiales más empleados en biomonitorización dadas las ventajas que conlleva su uso. A través de las plumas las aves eliminan los metales de su cuerpo (detoxificación); los metales pasan del sistema circulatorio a la pluma para fijarse a la queratina de éstas. Estas plumas cargadas con metales son renovadas durante mudas completas.

Aunque muchos contaminantes no entran en las plumas, gran parte de los metales pesados son integrados en la estructura queratínica de éstas. El muestreo de plumas es una interesante alternativa a la utilización de vísceras como hígado y riñón. Las plumas pueden ser obtenidas de aves vivas sin que esto suponga un efecto negativo para ellas, especialmente si se muestrean plumas de revestimiento en vez de plumas de vuelo (rérmiges). Además, se ha demostrado que entre aves adultas no hay variaciones significativas en el contenido de algunos metales en pluma en función de la edad, debido en gran medida a la renovación periódica del plumaje. Por otro lado, el hígado y los riñones de algunas especies pueden estar incrementando la concentración de metales de manera natural en ambientes limpios a lo largo del tiempo en las aves adultas, por lo que pueden surgir problemas en estudios comparativos de diferentes escenarios.

Las plumas pueden ser almacenadas sin necesidad de congelarlas, por lo que la logística de muestreo y manipulación se hace mucho más simple que en el caso de las vísceras, especialmente si las poblaciones que muestreamos están muy alejadas de nuestro lugar de trabajo. Además, los museos, y algunas colecciones privadas, contienen una buena cantidad de aves disecadas con la fecha y el lugar de recogida, lo que posibilita la realización de estudios de

tipo retrospectivo. La monitorización histórica con aves ha generado el suficiente interés entre los investigadores y los gobiernos de varios países como para que sean incluidas en los Bancos de Especímenes Ambientales. Desde el año 2001 el Banco de Especímenes Ambientales de Galicia, que está desarrollando el grupo de Ecotoxicología de la USC, viene recolectando órganos y plumas de diferentes especies de aves procedentes de los cinco centros de recuperación de fauna salvaje existentes en la región.

PELO

El pelo de los animales -incluido el hombre- constituye una herramienta muy útil para la biomonitorización de contaminantes y mediante su uso también podemos realizar estudios de tipo retrospectivo. Igual que en el caso anterior, además de no ser un método destructivo podemos obtener material suficiente en museos y colecciones públicas o privadas para realizar esta clase de trabajos retrospectivos.

El pelo es un material muy accesible y muy válido como bioindicador de la contaminación ambiental por metales pesados. Podemos realizar capturas controladas sin riesgos para el animal en cuestión (i.e. micromamíferos); puede ser suministrado por asociaciones de cazadores; podemos recurrir a explotaciones ganaderas; etc.

Los primeros estudios retrospectivos con pelo datan de los años sesenta intentando reconstruir series históricas más o menos recientes, por ejemplo analizando cobre y plomo en pelo de ratón procedente de colecciones, o remontándose cientos de años como un estudio realizado en 1978 en Dorchester (Inglaterra) que empleó pelo humano presente en excavaciones romanas, proporcionando una visión retrospectiva de las condiciones ambientales de hasta 2000 años de antigüedad. También existen estudios curiosos con pelo perteneciente a personajes históricos. Por ejemplo, la utilización del pelo del rey Carlos II de Inglaterra, muerto en 1685. En su pelo se encontró una alta concentración de mercurio; al parecer su muerte estuvo relacionada con la afición que este monarca sentía por la alquimia. Igualmente, el conocido caso del emperador Napoleón, muerto en 1821, en cuyo pelo se encontraron altísimas concentraciones de arsénico⁴.

Igualmente se puede proceder con otros materiales como las uñas, pezuñas y caparazones.

⁴ Esto apoya la hipótesis de que Napoleón fue asesinado mediante envenenamiento con arsénico (Smith et al., 1962; Forshufvud et al., 1964).

MATERIAL BIOLÓGICO ÓSEO

ASTAS DE CÉRVIDOS

Las cornamentas de los cérvidos constituyen un material muy interesante para este tipo de investigaciones puesto que es comparable con el material de muchas colecciones de cazadores y museos. Muchos trabajos coinciden en la idea de que las concentraciones de metales que se encuentran en las astas de corzos (*Capreolus capreolus*) y ciervos (*Cervus elaphus*) reflejan los cambios en los niveles de contaminación del ambiente por lo constituyen unas buenas unidades de monitorización no destructiva.

Los cérvidos renuevan sus astas anualmente y esto hace que se pueda disponer de una cantidad considerable de ellas en las áreas en donde habitan poblaciones de estos animales. En el caso del corzo, el crecimiento de las astas tiene lugar en invierno-principios de primavera durante aproximadamente 130 días. En este tiempo el animal se dedica a alimentarse y las astas acumulan los contaminantes (i.e. metales pesados) contenidos en la dieta, que pueden proceder vía deposición atmosférica sobre la vegetación. De esta manera tenemos un registro anual muy útil para los estudios históricos de biomonitorización.

HUESOS

Actualmente se realizan trabajos en los que se combina la utilización de vísceras, plumas, pelos, etc., con huesos del esqueleto. Esta combinación de materiales no es sólo de tipo comparativa; hay elementos que tienden a fijarse de manera preferencial en un determinado tejido del animal por lo que se hace necesario el empleo de distintos materiales que representen debidamente los elementos a medir. En aves y otros vertebrados, la relación de fijación preferencial de metales es la siguiente: Cd en riñón; Pb en hueso; Hg en hígado y riñón; y Zn, Cu y Fe en hígado.

El Pb es uno de los metales tóxicos más analizados en los trabajos que emplean hueso como material bioindicador dada la tendencia que tiene este elemento de fijarse en esta estructura en mayor proporción que otros elementos.

Otros elementos tóxicos que suelen acumularse en hueso son, principalmente, F y Zn y en menor proporción Hg, Cu, Cd y Ni. También se miden los niveles de radioactividad en los huesos de animales pertenecientes a áreas afectadas por catástrofes de este tipo (central nuclear de Chernobil).

La mayor parte de los trabajos se centran exclusivamente en el análisis de la concentración de metales en el hueso, pero otros relacionan esta con la presencia o ausencia de malformaciones óseas supuestamente debidas a la exposición tóxica.

OTROS MATERIALES

Con animales salvajes llaman la atención los estudios realizados sobre la contaminación -acumulación y sensibilidad- por pesticidas y los *murciélagos*. En los estudios se utiliza tanto los órganos como el guano de murciélago como monitor de la contaminación. Recientemente se intentó verificar si la decadencia de estos organismos en la segunda mitad del siglo XX, era debida al uso de plaguicidas como el DDT y otros organoclorados (PCBs, dieldrin, lindano), a través del análisis de los mismos en piel de especímenes de *Tadarida brasiliensis mexicana*, procedentes de diferentes colecciones del estado de Texas. Como se puede observar en la Tabla 5.5. la concentración de

Residuo	Año			
	1956	1965	1973	1988
DDT	19.5	31.8	1.85	2.19
DDE	23.3	85.5	89.8	22.5
Lindano	0.68	0.38	—	0.06
Dieldrin	3.03	1.19	—	9.30
Toxicidad acumulada de DDTs	21.1	37.7	7.9	3.9

Tabla 5.5. Concentración media ajustada ($\mu\text{g/g}$ de lípido) de DDT y otros residuos de organoclorados en ejemplares de murciélago procedentes de diferentes colecciones de Texas (USA).

DDT baja claramente en los años 1972 y 1988, respecto a la encontrada en 1956 y 1965. Esto coincide con que el pico de producción de este pesticida fue el año 1961 y su uso fue disminuyendo hasta 1972. El DDE como metabolito del DDT, también con alta persistencia, no se reduce tan drásticamente. El uso del lindano fue disminuyendo de 1956 a 1988 claramente, habiendo sido su pico de consumo en los años 1950s y prohibido su uso en 1983. Los resultados del dieldrin son más difíciles de explicar, pero quizás puedan ser debidos a una utilización paralela de compuestos emparentados (i.e. aldrin) y su persistencia.

Por último, la carga tóxica acumulada, expresada como $\mu\text{g/g}$ de DDT equivalente, demuestra que los efectos durante los años 1950 (probablemente superiores a los observados) y 1960s fueron muy superiores a los de las últimas décadas y podrían explicar el papel jugado por este tipo de compuestos en la declinación de la población de este murciélago en la zona.

Casos de declinación de este tipo de organismos fueron observados en otros escenarios, como la declinación de *Myotis grisescens* en Missouri debido a dieldrin.

Similares estudios de pieles de otras especies de mamíferos y aves procedentes de museos y colecciones –siempre y cuando exista una buena información sobre fecha y lugar de procedencia y tipos de tratamientos conservativos que se hayan aplicado a las colecciones (i.e. insecticidas)- pueden ofrecer una aproximación empírica-operativa para el estudio de efectos históricos de los contaminantes.

También estudios de testigos de guano pueden servir, previa datación, por ejemplo con Cesio-137, igual que los sedimentos, para realizar estudios retrospectivos de episodios de contaminación.

5.2.4.2. Animales domésticos

La deposición atmosférica sobre cultivos y pastos es la principal vía de entrada de contaminantes en las cadenas tróficas y afecta especialmente a los herbívoros domésticos. Una forma de controlar determinados contaminantes se puede realizar recurriendo a la toma de muestras corporales de estos organismos en los mataderos municipales. En un estudio extensivo (López Alonso, 1999) sobre la cabaña de vacuno de Galicia (438 individuos de 6-12 meses edad y 56 de 2-16 años) se comprobaron las diferencias de concentración de contaminantes (Cd, Pb, As, Cu, Zn) en los distintos órganos analizados (hígado, riñón, músculo y sangre) (Tabla 5.6.).

Los valores corporales de todos los elementos analizados estuvieron muy por debajo del máximo recomendado para el consumo humano. No se ob-

Órgano	Cd (µg/Kg)		Pb (µg/Kg)		As (µg/Kg)		Cu (µg/Kg)		Zn (µg/Kg)	
	J	A	J	A	J	A	J	A	J	A
Hígado	8	80	37	49	–	–	48	53	45	45
Riñón	397	55	59	41	–	–	3.6	4.2	20	14
Músculo	–	–	15	–	–	–	1.7	0.7	53	47
Sangre*	–	–	14	5	–	–	0.8	0.9	2.5	2.8

*µg/L o µg/L; – =por debajo del nivel de detección

Tabla 5.6. Niveles medianos de Cd, Pb, As, Cu y Zn en ganado vacuno joven (J = 6-12 meses) y adulto (A = 2-16 años) de Galicia.(Tomado de López Alonso, 1999).

servaron diferencias de bioacumulación entre sexos para ningún metal. Sin embargo, comparando las concentraciones encontradas con los diferentes grupos de edad se observó un comportamiento diferenciado (Fig. 5.8.) de los contaminantes analizados, de tal forma que estos tienden a acumularse, excretarse o regularse de diferente forma (Tabla 5.6.).

En base a la tendencia hacia la acumulación se debe utilizar preferentemente como órgano para la biomonitorización (órgano diana) el riñón para Cd y As, el hígado para Cu y Zn y ambos para el Pb (Tabla 5.7.).

La concentración de los elementos en los órganos del ganado no presentó relación con los de la capa superficial del suelo donde pastaban. Sin embargo, mediante superposición cartográfica se encontró una buena relación -para los elementos con tendencia acumularse- entre los niveles corporales del ganado joven y el del musgo *Scleropodium purum* recolectado en la zona.

Recientemente se planteó la creación de una red de vigilancia global basada en el análisis de contenidos de contaminantes orgánicos en la *mantequilla*. Los PCBs, dioxinas o pesticidas emitidos a la atmósfera se depositan sobre la hierba que come el ganado, se concentran en la leche y, como son liposolubles, se retiran con la mantequilla. Los primeros análisis realizados en 23 países muestran que la concentración en mantequilla de PCBs varía desde los 230 pg/g (Austria) hasta los 14100 pg/g (República Checa), resultados que están de acuerdo con las estimas sobre las emisiones de estos compuestos (Kalantzi et al, 2001).

Órgano	Acumulación	Excreción	Regulación
Hígado	Cd, Pb	Cu	As, Zn
Riñón	Cd, Pb, Zn	Cu	As
Músculo	Pb	—	As
Sangre	Pb	—	Cu

Tabla 5.7. Tendencia de los elementos a acumularse, excretarse o regularse con la edad en diferentes órganos del ganado vacuno. (op.cit).

Órgano	Cd (µg/Kg)	Pb (µg/Kg)	As (µg/Kg)	Cu (µg/Kg)	Zn (µg/Kg)
Hígado	14.4	74.7	46.4	85	53.2
Riñón	81.9	61.3	74	4.6	15.6

Tabla 5.8. Percentil 75 de Cd, Pb, As, Cu y Zn en ganado vacuno joven en Galicia (6-12 meses) (op. cit).

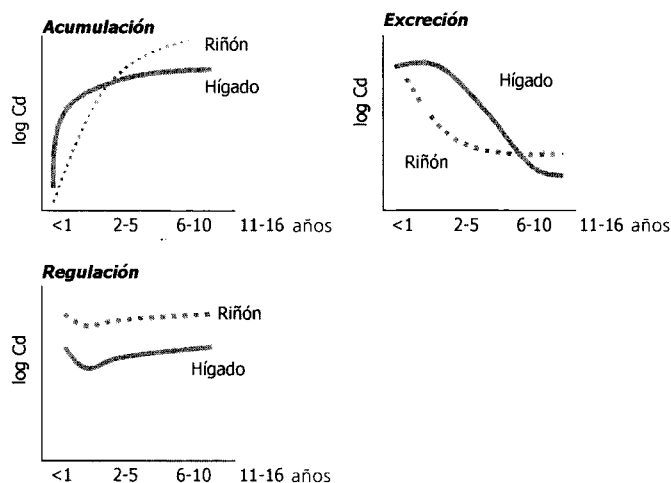


Fig. 5.8. Evolución de la concentración del contaminante con la clase de edad en ganado vacuno (Galicia).
(Elaborado a partir de López Alonso, 1999).

BIBLIOGRAFÍA

- ABOAL, J.R., FERNÁNDEZ, J.A. & CARBALLEIRA, A. 2001. Sampling optimization, at site scale, in contamination monitoring with moss, pine and oak. *Environmental Pollution* 115: 313-316
- BARGAGLI, R., BROWN, D.H. & NELLY, L. 1995. Metal biomonitoring with mosses: procedures for correcting for soil contamination. *Environmental Pollution* 89/2:169-175
- CARBALLEIRA, A., CARRAL, E., PUENTE, X. & VILLARES, R. 1997. Estado de Conservación de la Costa de Galicia. Nutrientes y metales pesados en sedimentos y organismos intermareales. USC- Xunta de Galicia.
- CARBALLEIRA, A., COUTO, J.A. & FERNÁNDEZ, J.A. 2002. Estimation of background levels of various elements in terrestrial mosses from Galicia (NW Spain). *Water, Air and Soil Pollution* 133: 235-252
- CONNELL, W. 1990. Bioaccumulation of xenobiotic compounds. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- FERNÁNDEZ, J.A. 1999. Biocontrol de la calidad del aire de Galicia mediante musgos terrestres. Tesis Doctoral. Universidad de Santiago de Compostela.

- FERNÁNDEZ, J.A. & CARBALLEIRA, A. 2001. Evaluation of contamination, by different elements, in terrestrial mosses. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 40: 461-468
- FERNÁNDEZ, J.A. & CARBALLEIRA, A. 2002. Biomonitoring metal deposition in Galicia (NW Spain) with mosses: factors affecting bioconcentration. *Chemosphere* 46: 535-542
- FERNÁNDEZ, J.A., REY, A. & CARBALLEIRA, A. 2000. An extended study of heavy metal deposition in Galicia (NW Spain) based on moss análisis. *The Science of the Total Environment* 254: 31-44
- KALANTZI O.I., ALCOCK, R.E., JOHNSTON, P.A., SANTILLO, D., STRINGER, R.L., THOMAS, G.O. & JONES, K.C. 2001. The global distribution of PCBs and organochlorine pesticides in butter. *Environ. Sci. Technol.* 35(6): 1013-1018
- LÓPEZ ALONSO, M. 1999. Estudio de los principales elementos contaminantes en ganado vacuno de Galicia. Tesis Doctoral. Universidad de Santiago de Compostela.
- MARTÍNEZ-CORTIZAS, A., PONTEVEDRA-POMBAL, X., NOVOA-MUÑOZ, J.C. & GARCÍA-RODEJA, E. 1997. Four thousand years of atmospheric Pb, Cd and Zn deposition recorded by the ombrotrophic peat bog of Penido Vello (NW Spain). *Water, Air and Soil Pollution* 100: 387-403
- MORIARTY, F. 1985. *Ecotoxicología : el estudio de contaminantes en ecosistemas*. Academia D.L., León.
- RHÜLING, Å. & STEINNES, E. 1998. Atmospheric heavy metal deposition in Europe 1995-1996. Nordic Council of Ministers. NORD 1998:15, Copenhagen.
- TÜRKAN, I., HENDEN, E., ÇELİK, Ü & KIVILCIM, S. 1995. Comparison of moss and bark samples as biomonitors of heavy metals in a highly industrialised area in Izmir, Turkey. *The Science of the Total Environment* 166: 61-67

6. EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DEL AIRE

6.1. TIPOS DE ESTUDIOS PARA LA EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DEL AIRE

Los efectos de los contaminantes atmosféricos se llevan estudiando desde los años 50, después de la simple observación de la aparición de manchas cloróticas sobre las hojas de las plantas con interés agrícola. Las investigaciones comienzan con las observaciones en campo y la descripción de los diferentes tipos de daños foliar y la búsqueda de la duplicación de este tipo de daños en el laboratorio tras bioensayos con fumigaciones. Los primeros estudios sobre ozono estudian las diferentes respuestas de varios cultivos frente a exposiciones controladas de ozono y en ambientes limpios, libres de ozono mediante filtración con carbón activo (charcoal-filtered), junto a tratamientos con antioxidantes para la prevención de los daños. Se analizan los mecanismos de acción de los oxidantes, la relación dosis-respuesta y su repercusión sobre la producción. Este tipo de estudios generalmente usan cámaras de fumigación controlada.

Posteriormente han sido desarrollados diferentes métodos específicos para el estudio de la contaminación atmosférica sobre los organismos en condiciones de laboratorio, con cámaras de fumigación, ensayos en invernaderos y bioensayos *in situ* con cajas especialmente diseñadas. A lo largo de los años se han ido desarrollado tecnologías cada vez más sofisticadas. Los nuevos sistemas de fumigación llevan incorporados controladores por ordenador de la dispersión de contaminante, lo cual hace posible una mejor simulación de las condiciones de campo. Estos estudios requieren la definición de una serie de variables, definición de las diferentes dosis del contaminante y la medida de la respuesta de la planta, por todo ello, se han desarrollado protocolos estandarizados. Los sistemas de fumigación desarrollados tienen características comunes: control de las condiciones del crecimiento de la planta (luz, temperatura, humedad, CO₂ y composición de suelo), mantenimiento de la dosis a lo largo del experimento en el entorno de la planta, replicabilidad de las condiciones, etc. Existen diferentes sistemas de fumigación cuyas características se resumen en la Tabla 6.1.

6.2. BIOMONITORIZACIÓN ACTIVA DE LA CALIDAD DEL AIRE

La biomonitorización activa se realiza a partir bioensayos/transplantes de especies nativas o exóticas. En ambos casos se puede medir la calidad del aire en función de los síntomas de estrés desarrollados en los organismos

Sistema de fumigación	Similitud con condiciones de campo	Replicabilidad	Posibilidad de diferentes niveles de tratamiento	Posibilidad de variabilidad por agentes externos
Cámaras ambientales controladas	Baja	Alta	Alta	Media
Invernaderos	Baja	Alta	Alta	Media
Cámaras cerradas en campo	Media	Media	Alta	Media
Cámaras abiertas en campo	Media-Alta	Media	Alta	Media
Cámaras de autoventilación	Alta	Baja-Media	Baja	Media
Exposiciones en campo	Alta	Baja	Baja	Alta
Protectores químicos	Media-Alta	Alta	Baja	Media-Alta

Tabla 6.1. Características de diferentes sistemas de fumigación.

expuestos. Las ventajas se derivan de la utilización de unos organismos con comportamientos ecológicos bien caracterizados, del conocimiento exacto de las condiciones vitales previas a la exposición -las cuales son homogéneas en todas las estaciones ecológicas y por lo tanto los resultados son perfectamente comparables-, del conocimiento exacto de la dosis recibida y, si fuera necesario, se pueden adecuar las condiciones ambientales en el entorno de los trasplantes (i.e. fertilización, regadío, sombra) para que no distorsionen los efectos de las toxinas a evaluar.

Se pueden realizar trasplantes de organismos procedentes de zonas limpias o de cultivos controlados (campo, invernadero o laboratorio) y exponerlos durante un tiempo determinado en condiciones naturales con el fin de caracterizar los efectos biológicos producidos por los contaminantes atmosféricos de una localidad. Los trasplantes se pueden realizar con plantas y animales, aunque los primeros por facilidad de manejo se utilizan mucho más. Entre los animales se usan insectos (i.e. abejas) y aves (i.e. palomas en ambientes urbanos) y entre las plantas: líquenes, musgos, herbáceas, arbustos y árboles. Se pueden utilizar plantas adultas o plántulas. Las plántulas son generalmente más sensibles, reducen los tiempos necesarios de exposición y son más fáciles y menos costosas de manejar (microtrasplantes).

Como representación de los diferentes tipos de bioensayos utilizados se proponen los siguientes: con *Sporobolomices* spp, de genotoxicidad con *Tradescantia* híbrida, con *Nicotiana tabacum*, con musgos trasplantados, con especies cultivadas, con especies forestales, con animales y on-line.

6.2.1. Bioensayo con *Sporobolomices* spp

El control de la polución del aire puede realizarse mediante la levadura de las hojas (*Sporobolomices* spp). Se trata de un hongo microscópico (hongo rosa), ampliamente distribuido por las superficies foliares de los árboles caducifolios y también sobre hojas de gramíneas, arbustos y herbáceas. Estas levaduras -no necesitan dañar las hojas para sobrevivir pues utilizan los exudados (azúcares y nutrientes) depositados en su superficie- son sensibles a atmósferas con contaminantes gaseosos (SO_2 , NO_x , etc.) de tal forma que exposiciones del orden de seis horas son suficientes para reducir su importancia significativamente (Salanki et al., 1994). En pruebas experimentales se obtuvo una buena relación entre dosis y número de colonias, independiente del pH de la deposición en un amplio intervalo (pH entre 3 y 8,9).

La levadura de las hojas permite realizar una inspección de la calidad del aire con una buena resolución -del orden de km^2 - con una periodicidad o integración semanal, a bajo coste. El procedimiento que requiere un mínimo de tecnología es válido para hábitats rurales y urbanos.

Entre los inconvenientes del bioensayo está la estacionalidad de la esporulación potencial y, por tanto, de la densidad de las colonias; la sensibilidad de las poblaciones locales de levaduras a los contaminantes y de los hospedadores a corto plazo; las condiciones atmosféricas particulares de una localidad pueden variar cuantitativamente las respuestas, lo que supone una puesta a punto regional. En estudios comparados, como gradientes de contaminación, esto se puede autocontrolar en el experimento (individuos procedentes de vivero, incluso inoculados específicamente, de igual edad, porte y vigor).

6.2.2. Bioensayo de genotoxicidad con *Tradescantia* híbrida

El aumento indiscriminado en la utilización y liberación al medio de compuestos químicos xenobióticos, para uso agrícola, industrial, farmacológico, alimentario, etc., amplifican cada día el riesgo ambiental a que están sometidos los ecosistemas y la salud humana. Como la analítica convencional es incapaz de controlar y predecir -y menos in situ- los efectos biológi-



Fig. 6.1. Test de genotoxicidad de *Tradescantia* híbrida (clon 4430). El riesgo ecológico es proporcional al grado de clastogenicidad o frecuencia de células con micronúcleos (izquierda) frente a células normales (derecha).

cos de tal cantidad de compuestos y sus mezclas sobre todo tipo de sistemas biológicos, es necesario disponer de bioensayos sencillos y eficientes en la detección de la toxicidad y genotoxicidad de los agentes ambientales.

El test de micronúcleos de *Tradescantia* se basa en la capacidad clastogénica de algunos contaminantes. Los fragmentos de cromosoma que son inducidos por los contaminantes en la etapa de meiosis temprana se convierten en micronúcleos en la etapa de tétradas (Fig. 6.1.). La frecuencia de micronúcleos en las tétradas es un indicador sensible y fiable del grado de mutagenicidad que los tóxicos producen en las células germinales de los organismos eucariotas.

La prueba de micronúcleos de *Tradescantia* es un sistema desarrollado en 1976 y muy bien probado -el protocolo está estandarizado por el IPCS⁵- para la biomonitorización de mutágenos gaseosos y radiación, así como para la determinación de toxicidad y clastogenicidad de contaminantes en estado líquido, fármacos, aditivos alimentarios, agua de bebida, etc.

En condiciones de campo ha sido utilizado para la monitorización de la calidad del aire de interiores, urbano o industrial; aguas residuales; emisiones de basureros e incineradoras; suelos contaminados con metales pesados o con pesticidas; y aguas subterráneas.

El método de MCN- Trad fue comparado con otros bioensayos de genotoxicidad en plantas y con ensayos de ecotoxicidad estándar dando buenos resultados frente a otros tests de mutagenicidad. Además, este bioensayo puede informar sobre sinergismos entre compuestos químicos y entre compuestos químicos, y otros agentes genotóxicos como radiación, lo que lo adecua para evaluaciones de riesgos ecológicos complejos.

⁵ Uno de los principales objetivos del International Programme on Chemical Safety (IPCS) es minimizar los riesgos para la salud humana y los ecosistemas debidos a la exposición de compuestos químicos genotóxicos.

6.2.3. Bioensayo con *Nicotiana tabacum*

Para la biomonitorización del ozono troposférico se pueden utilizar plantas vasculares, siendo los sistemas más comunes los que utilizan plantas de tabaco o de trébol.

Con *Nicotiana tabacum* L, el método consiste en exponer las plantas al aire que se quiere monitorizar durante un período de tiempo determinado y cuantificar los daños al final del mismo. Los síntomas del daño sufrido se manifiestan rápidamente ($O_3 > 40$ ppb a las 36 h) en forma de manchas (necrosis) en cotiledones y hojas, de diferente color, desde blanco a negro-marrón, bifaciales y con un tamaño entre 1-3 mm.

El sistema más sensible consiste en trabajar con plántulas muy jóvenes, de aproximadamente 1 cm la primera hoja. Estas plántulas cultivadas en ausencia de ozono son trasplantadas a las estaciones de control donde son expuestas durante un período variable (5-14 días) según el nivel de contaminación estimado. Se trasladan al laboratorio y se siguen cultivando unas 36 h más en ausencia de ozono para que desarrollen en su totalidad los posibles síntomas de daños. A partir de ahí se mide el porcentaje frente al control de superficie afectada en hojas o cotiledones (más sensibles) cuyo valor nos indicara la situación de la estación.

Se deben utilizar conjuntamente al menos dos variedades de tabaco una muy sensible (clon Bel-W3) y otra poco sensible (clon Bel-B) a los oxidantes, con el objeto de poder eliminar -a modo de control interno- el efecto de otros contaminantes u otros factores de estrés (Fig. 6.2.).

Los trasplantes realizados en localidades donde, simultáneamente, se miden los contaminantes atmosféricos, permiten validar y ajustar la técnica a las condiciones ambientales de una región y después poder hacer trasplantes de manera extensiva y económica por todo el territorio. Es el caso del ozono, un contaminante de lata y costosa medición. En la Fig. 6.3. se puede observar como los daños foliares observados en plántulas de tabaco sensible al ozono (Bel W3) se correlaciona con los niveles de este tóxico en el aire, expresados como la AOT40 (sumatorio de la concentraciones de ozono por encima de 40 ppm). Esta es una variable integradora de los niveles de ozono en una localidad, en este caso situada en el entorno de una central térmica emisora de precursores (NO_x). Posteriormente se pudieron estimar los niveles de ozono en otra localidad a partir de los daños observados en los microtrasplantes realizados (Fig. 6.4.).

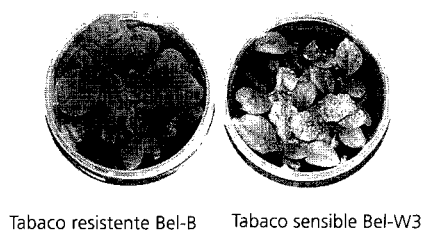


Fig. 6.2. Daño foliar en plántulas de *Nicotiana tabacum* debido a ozono. Diferencia de comportamiento entre el clon resistente (izquierda) y el clon sensible (derecha).

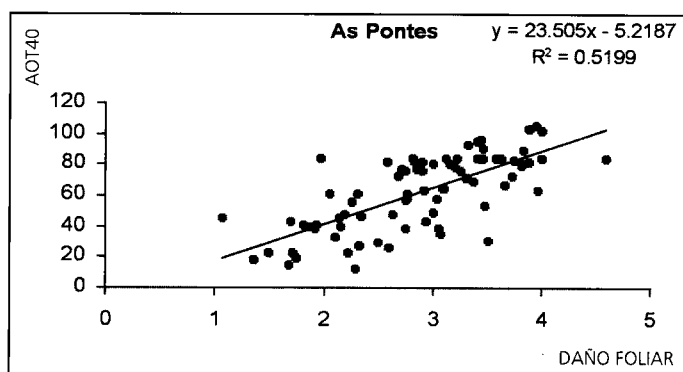


Fig. 6.3. Correlación entre daño foliar medido en microtransplantes de un clon sensible de tabaco y los niveles de ozono (AOT40 en ppm) en el entorno de la Central Térmica de As Pontes de García Rodríguez (A Coruña). (Datos no publicados. Grupo de Ecotoxicología, USC)

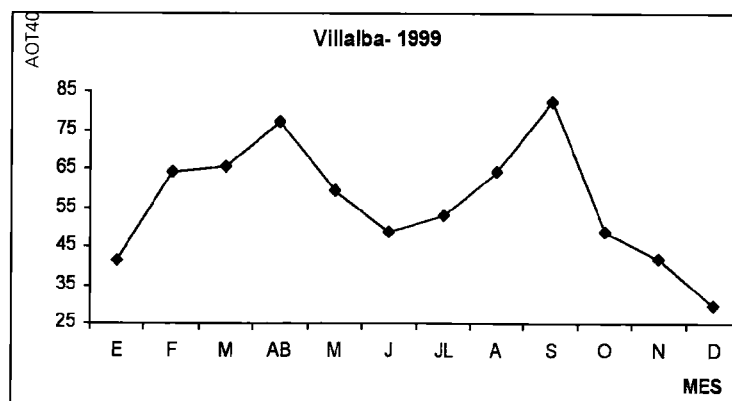


Fig. 6.4. Evolución anual de la concentración de ozono predicha (AOT40 en ppm) en Villalba (Lugo) en función de los daños observados en plántulas de tabaco (clon sensible). (Datos no publicados. Grupo de Ecotoxicología, USC)

6.2.4. Bioensayos con musgos transplantados

La biomonitorización activa utilizando trasplantes de musgos está ampliamente recogida en la literatura científica. La razón de su utilización son las ventajas que presentan en algunos aspectos respecto a la utilización de musgos nativos. Los trasplantes consisten en:

1. La colección de musgo en zonas limpias (no contaminadas) que se corresponden usualmente a zonas rurales alejadas de todos los posibles focos contaminantes (industrias, asentamientos, vías de comunicación, etc.).
2. Tras la recolección se procede a su preparación (limpieza y separación de ápices) e introducción en mallas plásticas, configurando lo que será propiamente el trasplante.
3. Posteriormente, se exponen en condiciones controladas (localización geográfica, tiempo de exposición, altura sobre el suelo, etc.) para la evaluación de la deposición atmosférica en zonas adyacentes a focos contaminantes.
4. Finalmente, tras el periodo de exposición, el trasplante es conducido de nuevo al laboratorio, donde se analizarán las cargas bioconcentradas por el musgo, y se calculará el aumento de las mismas respecto a sus niveles de carga corporal previos a la exposición.

Este tipo de técnica no se utiliza nunca para la evaluación de la deposición a escalas geográficas grandes (regionales, estatales, etc.), dado el alto esfuerzo que supone respecto a la biomonitorización pasiva.

Los principales motivos que han llevado a la utilización de este tipo de técnicas son principalmente:

1. *La inexistencia de musgo nativo en las inmediaciones de los focos de inmisión.* Existen dos motivos principales para la ausencia de musgo: i) en algunas ocasiones, debido al efecto tóxico de la deposición sobre la vegetación, se crean los denominados desiertos industriales, en los cuales desaparece la vegetación; ii) en otras ocasiones debido a la localización del foco de inmisión en zonas de alta antropización no existe vegetación natural.
2. *Estandarización del material.* La biomonitorización activa nos permite estandarizar la carga contaminante inicial y controlar el tiempo de exposición, de esta forma, se puede expresar la bioconcentración como una tasa.
3. *Confección de una malla de muestreo regular perfecta.* Al trabajar con musgos nativos la red de muestreo se tienen que adecuar a la realidad, en el caso de los trasplantes esto no es necesario.

4. *Eliminación de las adaptaciones del musgo a la toxicidad.* El musgo, a pesar de su bajo grado de especialización puede presentar mecanismos fisiológicos que le permiten adaptarse a la contaminación (detoxificación). Por ejemplo, en el entorno de la C. T. de As Pontes hemos comprobado (Fernández & Carballeira, 2000) como el selenio disminuye la bioconcentración de mercurio en *S. purum* nativo frente a los trasplantados. Al utilizar trasplantes, con tiempos de exposición relativamente cortos, impediremos que estos mecanismos se pongan en marcha de forma que la bioacumulación y los efectos de la misma (estrés y daños) sean más realistas y más fácilmente cuantificables. Es decir, el musgo trasplantado tendrá una mayor capacidad de bioconcentración sin interferencias y será mucho más sensible que el musgo nativo.

Además, con los trasplantes podemos homogeneizar las condiciones de bioacumulación y eliminar las interferencias de otros estresores ambientales distintos a los contaminantes mediante la técnica de trasplante utilizada. Entre las diferentes técnicas de trasplante, cabe destacar varias opciones diferentes: con o sin irrigación; sombreados o no; segregando la deposición seca de la total; con o sin activación del trasplante mediante lavado ácido; con varias réplicas; etc.

EJEMPLO: UTILIZACIÓN DE TRASPLANTES DE MUSGO PARA LA BIOMONITORIZACIÓN DE UNA INDUSTRIA DE CLORO-SOSA

En este estudio (Fernández et al., 2000) se han empleado musgos terrestres como biomonitores activos (trasplantes no irrigados en bolsa de malla de la especie *Scleropodium purum*). El objetivo fue comprobar la utilidad de la técnica para el estudio en detalle de la distribución espacial de mercurio en el entorno de una industria de cloro-sosa situada en la Ría de Pontevedra (Galicia, NW España) (Fig. 6.5.).

Con el fin de recoger las diferentes condiciones meteorológicas, durante 1999 se realizaron dos campañas de trasplantes (febrero y septiembre) de 30 días de exposición. Los trasplantes se realizaron con musgos recogidos en una zona rural alejada de carreteras y núcleos urbanos e industriales. Después de eliminar restos vegetales y lavar el material, se separaron los ápices (3-4 cm) de cada tallo, que serían los empleados en el trasplante. Los ápices (1 g peso seco) se colocaron en una bolsa (25 x 5.5 cm) realizada con una malla de plástico, previamente descontaminada, de 1 mm de luz de malla.

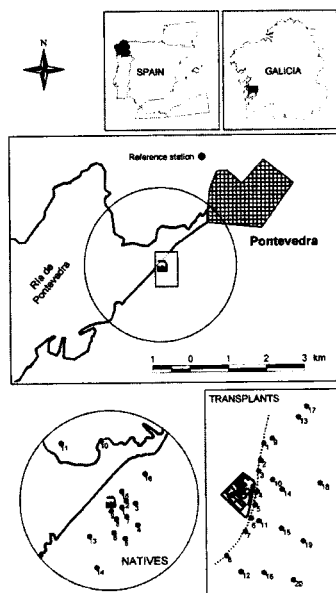


Fig. 6.5. Localización del área de estudio y situación de los trasplantes sin irrigación de *Scleropodium purum* en el entorno de una planta de cloro-sosa (ELNOSA, Pontevedra). El área sombreada indica la situación de las cubas electrolíticas. (Fernández et al, 2000)

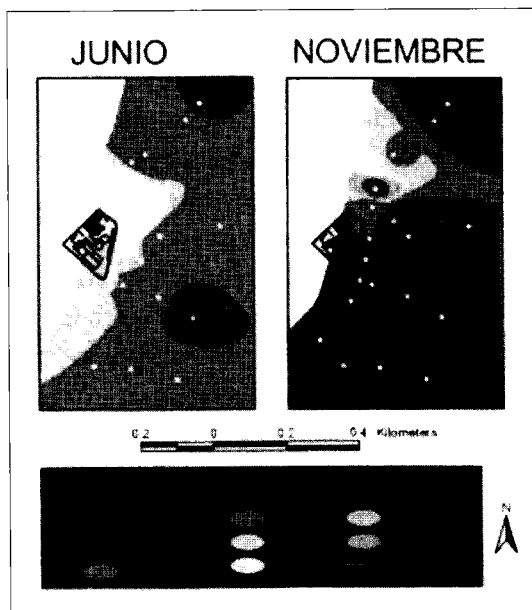


Fig. 6.6. Mapa de interpolación (Inverse Distance Weight) de los factores de enriquecimiento para los dos periodos de trasplante realizados. (op. cit.)

Se seleccionaron las localidades (20) en las que iban a colocarse los trasplantes: a lo largo del perímetro exterior de la planta y en 4 transectos (de 300 m) perpendiculares a éste (Fig. 6.5.). La localización precisa de cada estación de muestreo (nativos y trasplantes), se determinó con un GPS.

En el campo las bolsas con el musgo se suspenden de arbustos y árboles a una altura de 1,5-2 m. Tras el periodo de exposición el musgo de los trasplantes era lavado, digerido y en los extractos obtenidos se determinaba el contenido en Hg mediante fluorescencia atómica (PSA Merlin Plus).

Los 20 puntos de exposición de los trasplantes seleccionados se encuadran en un área de 0.5 km², lo que equivale a una densidad de 40 estaciones por km². Se observaron claras diferencias entre los factores de enriquecimiento (EF) -la concentración de Hg inicial fue 0,04 mg g⁻¹- correspondientes a los trasplantes de junio y los de noviembre. Mientras que en junio el valor medio de los EF es de 26.81, en noviembre este valor es dos veces menor (12.94). La Fig. 6.6. muestra los mapas de interpolación obtenidos, para cada uno de los trasplantes, a partir de los valores de EF correspondientes. En los dos mapas se observa claramente cómo la deposición de Hg es mayor en las zonas más próximas a la planta, disminuyendo rápidamente con la distancia, pues en apenas 400 m el valor de los EF disminuye 4 veces, siendo esto mucho más evidente en noviembre.

Tras estudiar las relaciones entre la distancia al foco emisor (recinto donde se localizan las cubas electrolíticas) y los valores de los EF de los trasplantes (en las dos exposiciones), se observaron en todos los casos respuestas potenciales (Tabla 6.2.). Las tendencias de las curvas, son casi paralelas en los respectivos muestreos, pero más altas en los muestreos de junio.

Comparando nuestros resultados con los de trabajos similares, encontramos que en un estudio realizado en Finlandia, en el que se colocaban trasplantes de *Sphagnum sp.* a 200 m de una cloro-sosa, el incremento neto de Hg en

	a	b	r ²	Sig.
Media trasplantes	1712.5	-0.8645	0.26	**
Trasplantes junio	1424.8	-0.7562	0.60	***
Trasplantes noviembre	23848	-1.6122	0.27	**

Tabla 6.2. Parámetros de las ecuaciones que relacionan los factores de enriquecimiento (EF) de musgos trasplantados frente a la distancia al foco de emisión ($y = a x^b$; $y = EF$; $x = \text{Distancia (m)}$), coeficientes de determinación y significación de los mismos (*** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$). (op. cit.)

un mes era de $0.13 \pm 0.02 \text{ mg g}^{-1}$. Si en el presente estudio consideramos sólo los trasplantes localizados a más de 200 m del foco, los incrementos registrados serían de $0.51 \pm 0.13 \text{ mg g}^{-1} \text{ mes}^{-1}$ en junio y $0.014 \pm 0.02 \text{ mg g}^{-1} \text{ mes}^{-1}$ en el de noviembre, 4 veces más altos y 9 más bajos, respectivamente, que en el trabajo anterior. En Brasil con trasplantes del musgo *Tillandsia usneoides* situados a 100 m de las cubas electrolíticas de otra cloro-sosa, los incrementos netos de Hg tras un mes de exposición oscilaban entre 1.8 y 8 mg g^{-1} . Si se analiza lo que ocurre con nuestros trasplantes localizados a una distancia de no más de 100 m, se obtienen valores que oscilan entre 0.75 y 2.8 $\text{mg g}^{-1} \text{ mes}^{-1}$. Las diferencias de bioconcentración entre los distintos trabajos pueden deberse a: diferencias en las tasas de emisión de Hg de las instalaciones estudiadas; diferencias en la capacidad de captación y acumulación de Hg de las especies utilizadas, y por último, diferencias en las condiciones ambientales (meteorológicas, etc.) de las distintas zonas de estudio.

6.2.5. Bioensayos con especies cultivadas

Especies pratenses

Lolium perenne junto con varias especies de trébol –fundamentalmente *Trifolium pratensis* y *Trifolium repens*- forman parte de los ecosistemas de pradera y juegan un papel básico como vía de entrada de los contaminantes a la cadena trófica debido a su uso como forraje para el ganado. Diversos estudios han puesto de manifiesto su capacidad bioacumuladora de contaminantes vía atmosférica, como Hg y F. Microtrasplantes de *L. perenne* también son usados como bioacumuladores de contaminantes atmosféricos y están incluidos en redes fijas de control ambiental (Fig. 6.7.).

Estas especies pratenses también son sensibles a contaminantes gaseosos, como SO_2 , lo que se pone de manifiesto con pérdidas de producción aérea, disminución en el peso seco del sistema radicular y necrosis foliar.

La más utilizada en este sentido es *T. repens* especie constituyente de praderas naturales y artificiales. Diversos estudios certifican su uso como biomonitor sensible frente a diversos contaminantes atmosféricos. En el caso del ozono se trabaja con dos variedades de *T. repens* una sensible y otra resistente (clones NC-S y NC-R). En la actualidad está en desarrollo una red de biomonitorización de ozono en Europa y Norte de América dirigida por la IPC-Vegetation usando estas dos variedades de trébol con trasplantes de plántulas de 28 días y períodos de exposición de 4 semanas. Las estimas se basan en

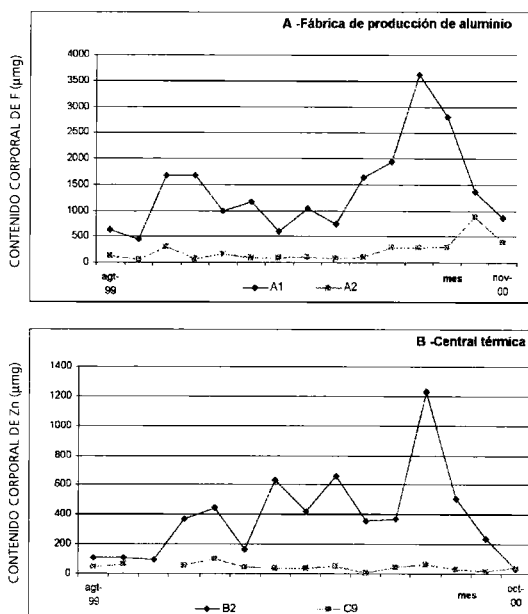


Fig. 6.7. Evolución mensual del contenido de flúor y zinc en microtrasplantes irrigados de *Lolium perenne* (30 días de exposición), localizados: A) en el entorno de una fábrica de producción de aluminio (Alcoa Europe, San Ciprián, Lugo) y B) de una central térmica de lignito (As Pontes, A Coruña). (Datos no publicados. Grupo de Ecotoxicología de la USC)

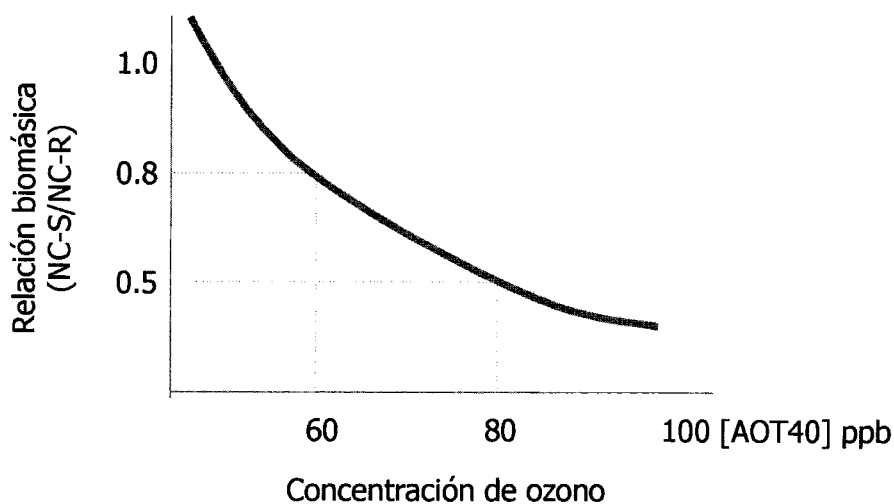


Fig. 6.8. Efecto del ozono (expresado como AOT40) frente a la relación biomásica epígea entre clones (NC-S/ NC-R) de trébol blanco.

comparar los niveles atmosféricos de ozono, expresados como la AOT40, frente a pérdida de biomasa expresada como la relación entre la biomasa producida por el clon sensible frente a la producida por el resistente (Fig. 6.8.).

CULTIVOS HORTÍCOLAS

La pérdida de producción de cultivos por niveles dañinos de polucio- nantes, especialmente oxidantes, se viene observando recientemente en cier- tas especies con importancia económica. La mayor parte de los estudios ha- cen referencia ha observaciones poco precisas de daños generales en cultivos y pérdidas de producción. En la actualidad existen muy pocas referencias de estudios minuciosos con la ayuda de trasplantes de especies cultivadas que incluyan el análisis de la respuesta de los mismos frente a diferentes dosis de contaminantes. Según la IPC- Vegetation de 650 referencias buscadas sobre daños en cultivos de interés comercial solo un 5% son estudios de campo con trasplantes y la mayor parte utilizan las especies siguientes: *Zea mais*, *Brassica* (especialmente *B. juncea* y *B. hirta*), *Lactuca sativa* y *Phaseolus vulgaris*, en los que se observaron daños foliares característicos y pérdidas de producción (Tabla 6.3.).

En estos casos como en los anteriores se utilizan plantas en etapas de desarrollo y los daños se visualizan en las hojas primarias o secundarias en función de la época del año y del crecimiento. Tras períodos de exposición de pocos días, las plantas expuestas en condiciones de campo pueden presentar claras manchas debidas a la acción de la contaminación (Fig. 6.9.). Para de- terminar si el agente causal es uno o la combinación de varios factores, es nece- sario disponer de numerosa información sobre los niveles de contaminantes

	a	b	r ²
Cebada	0.9739	-0.0003	0.002
Maíz	1.1078	-0.0031	0.634
Colza	0.9829	-0.0037	0.380
Patata	1.0529	-0.0039	0.581
Soja	1.1302	-0.0053	0.838
Trigo	1.0667	-0.0052	0.553

Tabla 6.3. Respuestas de campo –experiencias en EU y USA recogidas por el IPC-Vegetation- de varias especies cultivadas frente al ozono. [Y= a+bx; Y= producción relativa frente a la media (±1); a= ordenada en el origen; b= pendiente de la recta, que puede ser tomada como un índice de sensibilidad del cultivo al ozono; x= concentración media ozono (7 horas) en ppb].

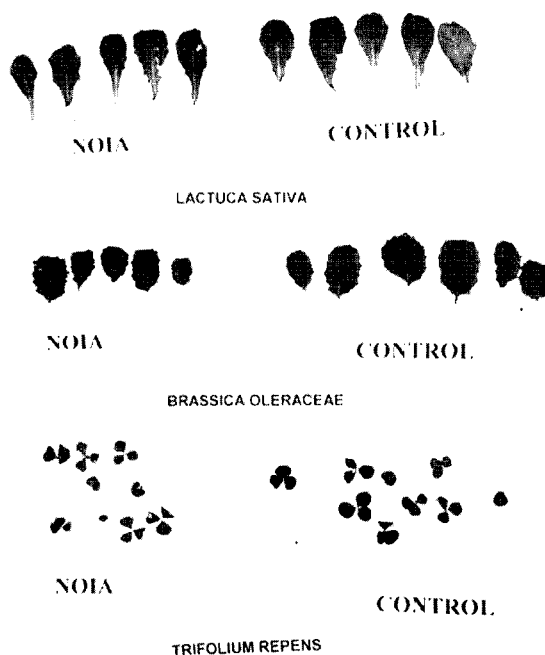


Fig. 6.9. Pérdidas de producción y aparición de daños foliares característicos en hojas de *Brassica*, *Lactuca* y *Trifolium* debidos a la contaminación atmosférica (Control: Estación de Noia- A Coruña).

bioconcentrados y de las variables climáticas. En la actualidad está por desarrollar este tipo de bioensayos con más especies de interés comercial como cultivos de girasol, uva y de cereales.

6.2.6. Bioensayos con especies forestales

Dadas las grandes y extensas pérdidas de productividad de las masas forestales de Europa y Norte América –fenómeno conocido como “declive forestal”- debido entre otras causas a la contaminación atmosférica se han realizado muchos esfuerzos, por un lado, evaluar el daño y su origen y, por otro lado, seleccionar variedades resistentes. Los estudios de laboratorio con cámaras de fumigación sirven para describir cierto tipo de daños debido a la acción de uno o varios contaminantes pero no dan una visión realista de las diferentes situaciones de campo. Mediante microtransplantes de plántulas de especies forestales (i.e. pino, abeto, haya, roble, etc.) de corta edad, ya que estos son mucho más sensibles a la contaminación, podemos tener una respuesta integrada de las condiciones climáticas y ambientales de una localidad.

Para controlar el efecto de una central térmica en las masa forestales de su entorno se preparó un bioensayo de este tipo. Se utilizaron plántulas (3 meses de edad) pertenecientes a tres especies de pino -*Pinus pinaster*, *P. radiata* y *P. sylvestris*- con diferente sensibilidad frente a contaminantes gaseosos característicos de este tipo de contaminación industrial. Para observar la evolución anual de la toxicidad del aire los transplantes se encadenan a lo largo del año, de tal forma, que el período de exposición de cada tanda de transplantes fluctuó entre 4-6 semanas. Tras la exposición se estudió la respuesta de cada especie anotando la reducción de crecimiento, los daños visibles en acículas (Fig. 6.10.), analizando el contenido pigmentario y de nutrientes y los metales pesados bioconcentrados.

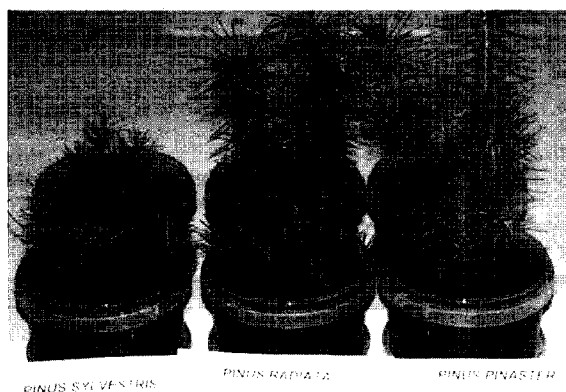


Fig. 6.10. Reducción del crecimiento y acículas con daños visibles, en plántulas de diferentes especies de pino, debidos a la contaminación en el entorno de una central térmica.

6.2.7. Bioensayos con animales

Bioensayo con *Apis mellifera*

Los bioensayos de contaminación atmosférica realizados con animales son muy escasos en comparación con las plantas. Se ha planteado la realización de biomonitorizaciones con especies de invertebrados, sobre todo con *Apis mellifera* y diferentes especies del género *Bombus*, por ser especies ubiquestas que juegan un papel importante como agentes polinizadores de plantas cultivadas o salvajes y están en claro decaimiento en muchas zonas de Europa, lo que se asocia a la presencia de insecticidas y a la reducción de hábitats favorables.

Metal	Concentración			Niveles de fondo	
	Máxima	Media	Minima	Bibliografía	Galicia
Cobre	0.40	0.24	0.20	0.50	0.05
Zinc	3.40	0.80	0.10	1.00	0.05
Plomo	1.00	0.52	0.20	0.10	0.20
Cadmio	0.40	0.23	0.20	0.03	0.05
Cromo	8.20	3.17	0.20	0.01	0.10
Hierro	2.00	0.71	0.20	0.05	0.05

Tabla 6.4. Estadística elemental de las concentraciones metálicas y niveles de fondo (ppm), encontradas en mieles procedentes de 120 estaciones distribuidas por toda Galicia. (Carballeira y Retuerto, 1992)

$$[Zn] = -10,77 + (1,79 \ln ALT - 0,007 ALT) + 0,96 DIS - 0,49 \sin AZ + 0,26 EXP$$

para $n=26$, $r^2 = 0,61$, $p < 0,05$
donde:

- [Zn]** concentración de Zn (ppm) en miel
- ALT** altitud (m)
- DIS** distancia al foco (km) en este caso la Central Térmica de Meirama (A Coruña) de 600 MW de potencia, hasta 40 km como distancia máxima que admite el modelo.
- AZ** acimut en grados respecto al foco
- EXP** grado de exposición (1,2 o 3) cara al foco

Tabla 6.5. Modelo predictivo de la concentración metálica en miel en el entorno de un foco emisor. (op. cit.)

Las abejas se han utilizado como biomonitores de la contaminación metálica y como prospectores biogeoquímicos, tanto mediante los análisis corporales como de la miel producida (Tabla 6.4.). Además, con técnicas de regresión múltiple (Carballeira & Retuerto, 1992) se pueden construir modelos predictivos de la contaminación enfrentando la distribución de las concentraciones metálicas en miel (variable dependiente) con las características geotopográficas de las localizaciones (variables independientes). El ajuste de los modelos puede tomarse como una ratificación del origen de los contaminantes. Un ejemplo de las ecuaciones obtenidas se recoge en la Tabla 6.5.

La actividad de las abejas por término medio -pues depende de su vitalidad, época del año, disponibilidad de recursos, etc.- se circunscribe a unos 7 km², en donde colectan néctar y polen de las flores (importantes desde el punto de vista energético), recogen mielatos (derivados de la actividad de los áfidos y esencias botánicas), toman agua de pozas y charcas, se posan en

el suelo y sobre las hojas, y su cuerpo piloso intercepta partículas atmosféricas en suspensión durante el vuelo.

Se han encontrado buenas correlaciones entre el contenido metálico corporal en los insectos y en las flores que liban (i.e. *T. pratense*). Aunque debido a la baja concentración corporal y su inherente variabilidad —debido a recursos florales diferentes y litologías, capacidad o tiempo de pecoración dependiente de las condiciones climáticas, etc.— algunos autores limitan su uso como biomonitores.

Cada día se utilizan más como biomonitores de pesticidas, fundamentalmente insecticidas, para la evaluación de riesgo ecológicos. En este caso se miden los residuos químicos corporales, en abejas muertas o vivas, pero también la presencia de biomarcadores y, lo más habitual, los efectos explícitos como tasas de mortalidad de adultos y/o de viabilidad larvaria.

La utilización de colmenas de abejas localizadas estratégicamente, tanto espacial como temporalmente, permiten realizar biomonitorizaciones activas muy específicas. Habitualmente se localiza en cada estación de muestreo al menos dos colmenas, unidas por una red de recolección de abejas muertas, que se retiran al menos una vez por semana. Si se supera un nivel crítico de mortalidad, dependiente del tamaño de las colmenas y de las características de la zona, entonces se procede al análisis químico y polinológico. Con el análisis del polen se puede obtener una indicación del tipo de cultivo fumigado y del pesticida que ha provocado el apicidio. De esta forma se facilita el análisis químico de los residuos del pesticida en las abejas muertas.

BIOENSAYOS DE DESCOMPOSICIÓN DE LA MATERIA ORGÁNICA

El ensayo clásico para medir la velocidad de descomposición de material vegetal directamente recolectado o sustrato elaborado (i.e. celulosa) e inoculado, confinado en redes de malla fina suspendidas de un soporte y expuestas al aire puede ser utilizado para biomonitorizar la calidad del aire. La actividad de los microorganismos descomponedores está condicionada por el tipo sustrato, las condiciones ambientales y la presencia o ausencia de compuestos inhibidores que alcanzan el material vía deposición atmosférica.

Con fines parecidos se diseña el bioensayo de comportamiento de colémbolos sobre hojarasca. Los colémbolos constituyen una fracción importante del componente micro-artropodológico del suelo y la hojarasca, y desarrollan un papel fundamental en la desintegración de los restos vegetales y

en la formación del humus. La especie *Folsomia candida* es muy utilizada en este tipo de ensayos de laboratorio. Para la ejecución de un test de comportamiento con colémbolos se prepara la matriz vegetal (corteza, hoja, etc.) en forma de pastillas y se disponen en una placa de Petri, en donde posteriormente, se introducen individuos adultos de la especie de colémbolo elegida. Después de 24-48 horas se examina con un binocular la placa petri y se cuentan los individuos presentes en la vecindad de cada pastilla, para conocer el grado de “rechazo” por el material contaminado.

BIOENSAYOS CON VERTEBRADOS

Las biomonitorizaciones con vertebrados son muy escasas. En contaminación urbana, se ensayó con aves confinadas en jaulas (i.e. paloma) situadas en diferentes localizaciones para evaluar la contaminación atmosférica mediante el análisis de sangre y pulmón.

6.2.8. Bioensayos on-line

Los bioensayos para el control en tiempo real de la calidad del aire son testimoniales. Se ha utilizado pares de colmenas -control con aire filtrado y problema sin filtrar- de *Apis mellifera* videomonitorizadas, para detectar la presencia de contaminantes mediante la alteración del comportamiento de las abejas dentro de la colmena.

También se puede plantear la medida del flujo de savia, como expresión de la actividad metabólica en árboles y arbustos, para monitorizar la calidad del aire. La medida en continuo, por ejemplo mediante conductividad térmica, de pequeñas leñosas cultivadas en macetas irrigadas dispuestas en forma de gradientes de contaminación permitirían deslindar el efecto debido a los contaminantes frente a los derivados de otros factores ambientales.

BIBLIOGRAFÍA

- CARBALLEIRA, A. & RETUERTO, R. 1992. Honey as a potential indicator of atmospheric metal pollution: modelling on the basis of geotopographical location with respect to principal pollutant sources. En: *Environmental Contamination* 5: 210-213. Ed. J.P. Vernet, Edimburgo.
- FERNÁNDEZ, J.A. & CARBALLEIRA, A. 2000. Differences in the responses of native and transplanted mosses to atmospheric pollution. A possible role of selenium. *Environmental Pollution* 110/1: 73-78
- FERNÁNDEZ, J.A., ABOAL, J.R. & CARBALLEIRA, A. 2000. Use of native and transplanted mosses as complementary techniques for biomonitoring mercury around an industrial facility. *The Science of the Total Environment* 256/2-3: 151-161
- SALANKI, J., JEFFREY, D., HUGHES, G.M. 1994. Biological monitoring of the environment. A manual of methods. IUBS –CAB International.