



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS

**EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD BIOACUMULADORA DE
CONTAMINANTES EN LÍQUENES, UTILIZADOS EN EL
MONITOREO DE LA CALIDAD DEL AIRE DE LA PARROQUIA
SAN CARLOS, CANTÓN LA JOYA DE LOS SACHAS, PROVINCIA
DE ORELLANA.**

TRABAJO DE TITULACIÓN
TIPO: PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Presentado para optar al grado académico de:

INGENIERA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL

AUTORA: ANDREA ESTEFANÍA GONZÁLEZ GORDON

TUTORA: ING. MARÍA RAFAELA VITERI UZCÁTEGUI

Riobamba-Ecuador

2018

© 2018, Andrea Estefanía González Gordon

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA CIENCIAS QUÍMICAS

El Tribunal del trabajo de titulación certifica que: El trabajo de investigación: **Evaluación de la capacidad bioacumuladora de contaminantes en líquenes, utilizados en el monitoreo de la calidad del aire de la parroquia San Carlos, cantón La Joya de los Sachas, provincia de Orellana**, de responsabilidad de la señorita Andrea Estefanía González Gordon, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del trabajo de titulación, quedando autorizada su presentación.

FIRMA

FECHA

Ing. Rafaela Viteri Uzcátegui

**DIRECTORA DE TRABAJO DE
TITULACIÓN**

Dra. Jenny Moreno Mora

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, Andrea Estefanía González Gordon soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en el presente documento y el patrimonio intelectual del Trabajo de Titulación pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Los textos constantes en el documento que provienen de otra fuente están debidamente citados y referenciados.

Como autor, asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este trabajo de titulación.

Riobamba, 21 de junio del 2018

Andrea Estefanía González Gordon

C.I. 210052162-0

DEDICATORIA

Dedico mi tesis con todo mi amor y cariño a mi amado esposo Roberth Álvarez por su sacrificio y esfuerzo para lograr esta meta, por sentar en mí los deseos de superación, por creer en mi capacidad y brindarme su comprensión, cariño y amor.

A mi amada hija Cielo Valentina por ser mi fuente de inspiración y motivación para concluir con éxito este trabajo de titulación.

A mis amados abuelos por hacer de mí una mejor persona a través de sus consejos, enseñanzas y amor.

A mi madre que con sus palabras de aliento no me dejo decaer para que cumpla con mis ideales.

A mi padre por ser el principal cimiento para la construcción de mi carrera y por estar a mi lado apoyándome y aconsejándome siempre.

A todo el resto de mi familia que de una u otra manera me han llenado de sabiduría y mostrado su apoyo para terminar mi carrera.

A mis compañeros y amigos que compartieron sus conocimientos durante mi vida académica.

Andrea

AGRADECIMIENTO

A mi directora de tesis Ingeniera Rafaela Viteri y miembro Doctora Jenny Moreno por su asesoría, orientación y apoyo logístico brindados para la realización del trabajo de titulación.

Al Ingeniero Enrique Morales Coordinador General y el Ingeniero Augusto Córdova Subcoordinador de la Coordinación General de Gestión Ambiental del Gobierno Autónomo Descentralizado de la Provincia de Orellana, por la colaboración prestada, contribuyendo de gran manera a la presente investigación.

El más sincero agradecimiento a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, por darme la oportunidad de obtener una profesión y ser una ayuda para la sociedad.

Andrea

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN.....	xiii
ABSTRACT	xv
INTRODUCCIÓN	xvi

CAPÍTULO I

1	MARCO TEÓRICO REFERENCIAL	21
1.1	Antecedentes de la investigación.....	21
<i>1.1.1</i>	<i>Líquenes como bioindicadores de la calidad atmosférica.....</i>	<i>21</i>
<i>1.1.2</i>	<i>Líquenes como bioacumuladores de metales pesados</i>	<i>22</i>
<i>1.1.3</i>	<i>Líquenes en el monitoreo activo (trasplante)</i>	<i>23</i>
1.2	Marco teórico.....	24
<i>1.2.1</i>	<i>Contaminación</i>	<i>24</i>
<i>1.2.2</i>	<i>Contaminación atmosférica.....</i>	<i>24</i>
<i>1.2.3</i>	<i>Contaminante atmosférico.....</i>	<i>24</i>
<i>1.2.4</i>	<i>Contaminación atmosférica en San Carlos de la provincia de Orellana.....</i>	<i>24</i>
<i>1.2.5</i>	<i>Contaminantes atmosféricos de la industria petrolera y la salud humana.....</i>	<i>26</i>
<i>1.2.5.1</i>	<i>Monóxido de carbono</i>	<i>26</i>
<i>1.2.5.2</i>	<i>Dióxido de azufre</i>	<i>26</i>
<i>1.2.5.3</i>	<i>Óxidos de nitrógenos.....</i>	<i>26</i>
<i>1.2.5.4</i>	<i>Hidrocarburos.....</i>	<i>27</i>
<i>1.2.5.5</i>	<i>Metales pesados</i>	<i>27</i>
<i>1.2.6</i>	<i>Bioindicador atmosféricos</i>	<i>29</i>
<i>1.2.7</i>	<i>Características generales de los líquenes</i>	<i>30</i>
<i>1.2.7.1</i>	<i>Simbiosis líquénica.....</i>	<i>30</i>
<i>1.2.7.2</i>	<i>Estructura.....</i>	<i>30</i>

1.2.7.3	<i>Biología</i>	31
1.2.7.4	<i>Fisiología de los líquenes</i>	32
1.2.7.5	<i>Morfología de los líquenes</i>	33
1.2.8	<i>Bioquímica de los Líquenes</i>	35
1.2.8.1	<i>Sustancias liquénicas</i>	35
1.2.8.2	<i>Funciones de las sustancias liquénicas</i>	36
1.2.8.3	<i>Test microquímicos</i>	36
1.2.9	<i>Metabolismo de los líquenes</i>	37
1.2.9.1	<i>Nutrición</i>	37
1.2.9.2	<i>Crecimiento y duración de los líquenes</i>	37
1.2.9.3	<i>Reproducción de los líquenes</i>	38
1.2.10	<i>Ecología</i>	40
1.2.11	<i>Líquenes como bioindicadores</i>	41
1.2.11.1	<i>Ventajas del uso de líquenes como bioindicadores</i>	41
1.2.11.2	<i>Desventajas del uso de líquenes como bioindicadores</i>	42
1.2.12	<i>Biomonitoreo atmosférico con líquenes</i>	42
1.2.13	<i>Líquenes del Ecuador</i>	43

CAPÍTULO II

2	METODOLOGÍA	44
2.1	Tipo y diseño de la investigación	44
2.2	Toma de muestra	44
2.2.1	<i>Población de estudio</i>	44
2.2.2	<i>Tamaño de la muestra</i>	45
2.2.3	<i>Selección de la muestra</i>	46
2.3	Técnicas de recolección de datos	47
2.3.1	<i>Procesos metodológicos</i>	47
2.3.1.1	<i>Fase de campo</i>	47

2.3.1.2	<i>Fase de laboratorio</i>	48
2.4	Instrumentos	51
2.4.1	<i>Material de campo</i>	51
2.4.2	<i>Material de laboratorio</i>	52
2.5	Análisis estadístico	52

CAPÍTULO III

3	RESULTADOS Y DISCUSIONES	53
3.1	Identificación de especies	54
3.1.1	<i>Diversidad Liquélica</i>	55
3.1.2	<i>Factor de tolerancia de las especies (Qi)</i>	57
3.1.3	<i>Frecuencia líquénica</i>	59
3.2	Índice de Pureza Atmosférica	60
3.3	Cuantificación de metales pesados	62
3.3.1	<i>Comportamiento de metales acumulados por líquenes</i>	64
3.4	Prueba de hipótesis	65
3.5	<i>Parmotrema dominicanum</i> como posible agente removedor de metales pesados en agua.....	66

CAPÍTULO IV

4	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	68
4.1	Conclusiones	68
4.2	Recomendaciones, ¡Error! Marcador no definido.	

BIBLIOGRAFÍA

GLOSARIO

ANEXOS

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-0:	Operacionalización de variables.....	20
Tabla 1-1:	Descripción de recursos naturales bajo presión o degradación	25
Tabla 2-1:	Bioindicadores forestales de contaminación atmosférica.....	29
Tabla 1-2:	Distribución de área petrolera en la parroquia San Carlos	44
Tabla 2-2:	Estaciones de monitoreo.....	45
Tabla 3-2:	Valores de IPA para la zonificación.....	50
Tabla 1-3:	Listado de las especies encontradas según su clasificación morfológica.	55
Tabla 2-3:	Factor de tolerancia	58
Tabla 3-3:	Niveles de IPA.....	60
Tabla 4-3:	Valor de IPA.....	61
Tabla 5-3:	Concentración de los metales analizados	63
Tabla 6-3:	Comparación de las concentraciones halladas con los límites máximos permisibles para emisiones gaseosas.....	64
Tabla 7-3:	Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales en cada metal.....	66

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-1:	Mapa mundial de los países que han realizado estudios con líquenes	22
Figura 2-1:	Estructura interna de un líquen. (A) Córtex superior, (B) Capa algal, (C) Medula o capa central, (D) Córtex inferior	31
Figura 3-1:	Líquen de talo gelatinoso	33
Figura 4-1:	Líquen de talo crustáceo	34
Figura 5-1:	Líquen de talo foliáceo.....	34
Figura 6-1:	Líquen de talo fruticulosos.....	35
Figura 7-1:	Soredios.	39
Figura 8-1:	Isidios. Propágulos corticados de forma cilíndrica o ramificada	39
Figura 9-1:	El picnidio.....	40
Figura 10-1:	Morfología del peritecio.	40
Figura 1-2:	Dibujo esquemático de árbol de ensayo con rejilla (a), según la norma VDI-3799. (b) Fotografía del árbol y la rejilla en la estación de monitoreo.....	47
Figura 2-2:	Ejemplo de colocación de la rejilla sobre el tronco	49

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1-2:	Gráfico de la zona de estudio (provincia, cantón, parroquia).....	45
Gráfica 2-2:	Mapa de las estaciones dentro del Bloque 60 EP-PETROAMAZONAS.....	46
Gráfica 1-3:	Frecuencia de los forófitos	53
Gráfica 2-3:	Distribución de los tipos de líquenes encontrados.....	54
Gráfica 3-3:	Número de especies de líquenes por estaciones de monitoreo.....	56
Gráfica 4-3:	Factor de tolerancia Qi	58
Gráfica 5-3:	Frecuencia liquénica por tipo morfológico.....	59
Gráfica 6-3:	Valores de IPA por estación.....	61
Gráfica 7-3:	Relación del IPA y distancia a la plataforma o mechero.....	62
Gráfica 8-3:	Comparación de la concentración de cromo, cadmio, plomo, arsénico y mercurio en mg/kg.....	63

ÍNDICE DE RESUMEN

Anexo A: Hoja de campo para el monitoreo

Anexo B: Mapa de infraestructura petrolera de la parroquia San Carlos

Anexo C: Catálogo de líquenes

Anexo D: Monitoreo biológico

Anexo E: Cálculo de IPA

Anexo F: Resultado de análisis de laboratorio

RESUMEN

El objetivo de este trabajo de titulación es evaluar la calidad del aire usando líquenes como bioindicadores y correlacionándolos con la concentración de metales pesados, demostrando así su capacidad de bioacumulación. En la primera aproximación de la investigación se estableció 15 estaciones de monitoreo dentro de Bloque 60 EP-PETROAMAZONAS, en cada estación se recolectó 5 árboles de la especie *Cedrela odorata* aplicando el método de cartografía de líquenes combinado con el cálculo del Índice de Pureza Atmosférica (IPA). Los valores de IPA registrados fueron 16,55 en la Estación N°12 (contaminación muy alta) y el valor más alto 290,62 en la Estación N°5 (sin contaminación). En la identificación de líquenes se encontró un total de 18 especies de las cuales 9 son de tipo foliosas, 6 crustosas y 3 frutulosas. Los de tipo folioso presentaron mayor frecuencia de especies liquénicas por lo que *Parmotrema dominicanum* se utilizó como bioindicador de la contaminación por metales pesados. Los elementos se cuantificaron por espectrometría de absorción atómica y se determinó que el cromo (3,58 mg/kg), cadmio (2,26 mg/kg), arsénico (0,071 mg/kg) y mercurio (0,075 mg/kg) del liquen de la estación con IPA bajo se encuentran en mayor concentración que los de la estación con IPA alto. Por lo que se concluye que la contaminación del aire en la parroquia San Carlos está determinada por la actividad petrolera principalmente por los mecheros en los pozos de extracción, expulsando contaminantes a la atmósfera y bioacumulados por los líquenes.

Palabras clave: <BIOTECNOLOGÍA>, <ÍNDICE DE PUREZA ATMOSFÉRICA (IPA)>, <LÍQUENES EPÍFITOS>, <METALES PESADOS>, <INDUSTRIA PETROLERA>, <ORELLANA (PROVINCIA)>.

ABSTRACT

The objective of this degree work is to evaluate the air quality using lichens as bio-indicators and correlating them with the concentration of heavy metals; thus, demonstrate their bioaccumulation capacity. In the first approach of the research, 15 monitoring stations were established within the 60 EP-PETROAMAZONAS block. At each station, 5 trees of the *Cedrela odorata* species were collected applying the lichen mapping method combined with the calculation of the Index of Atmospheric Purity (IAP). The recorded IAP values were 16,55 in the Station N° 12 (very high pollution) and the highest value 290,62 in the Station N° 5 (no pollution). In the identification of lichens, a total of 18 species was found, of which 9 are foliose, 6 crustose and 3 fructose. The leafy types presented a higher frequency of lichen species, so *Parmotrema dominicanum* was used as a bio-indicator of heavy metal contamination. The elements were quantified by atomic absorption spectrometry and it was determined that the chromium (3,58 mg / kg), cadmium (2,26 mg/kg), arsenic (0.071 mg / kg) and mercury (0,075 mg / kg) of lichen in the station with low IPA are in higher concentration than those from the station with high IPA. Therefore, it is concluded that the air pollution in the San Carlos parish is determined by the oil activity; mainly, by the burners in the extraction wells, which expel pollutants into the atmosphere and are bio-accumulated by the lichens.

Keywords: EXACT AND NATURAL SCIENCES, BIOCHEMISTRY, INDEX OF ATMOSPHERIC PURITY (IAP), EPIPHYTIC LICHENS, HEAVY METALS, OIL INDUSTRY, SAN CARLOS (PARISH).

INTRODUCCIÓN

Identificación del problema

Según el Plan Nacional de la Calidad del Aire de Ecuador, la contaminación atmosférica se ha convertido en uno de los principales problemas ambientales de los últimos tiempos, tanto en zonas urbanas como rurales (MAE, 2010), a consecuencia del aumento de la producción industrial, el uso de tecnologías deficientes, el flujo intenso de vehículos, mala calidad de combustibles, crecimiento poblacional y actividades antropogénicas en general (Cango, 2015, p.3).

En la parroquia San Carlos, cantón La Joya de los Sachas, ubicado en la provincia oriental amazónica de Orellana, se llevan a cabo actividades antrópicas de diferente naturaleza, las cuales alteran el sistema ambiental produciendo en ciertos casos contaminación.

El sector petrolero es uno de los más extensos en la provincia de Orellana y uno de los que más ha aportado al desarrollo económico, mediante la contratación de mano de obra no calificada, tanto para colonos como para comunidades indígenas. Sin embargo, esta situación ha puesto en riesgo la calidad ambiental en la zona, provocando inconformidad en los moradores, pues, la actividad petrolera para su exploración y operación depende de aperturas de carreteras, construcción de plataformas y campamentos al interior de bosques naturales, alterando de forma directa e indirecta elementos como el agua, aire y suelo (GADPO, 2012, p. 26). Un ejemplo evidente son los mecheros o quemadores que tienen la finalidad de convertir los gases a otras formas menos contaminantes y en los cuáles se queman aproximadamente miles de pies cúbicos diarios de gas asociado de petróleo que tiene entre sus elementos, metano, butano, etano y monóxido de carbono.

Dentro de la parroquia se ubican tres campos petroleros, éstos ocupan casi la totalidad de su área, en ella se han perforado aproximadamente 76 pozos, de los cuales más del 97,37% se encuentran en producción y el 2,63% corresponde a pozos reinyectores (GADPO, 2012, p. 27). En efecto, el Gobierno Autónomo Descentralizado de la Provincia de Orellana, ha realizado el monitoreo de los mecheros de las diferentes instalaciones hidrocarburiíferas como los principales

fuentes de emisión; para el año 2015 se reportaron los siguientes valores en la estación Sacha Sur de San Carlos: Material Particulado ($MP_{10}=1049,19\mu\text{g}/\text{m}^3$), Dióxido de azufre ($\text{SO}_2=220,16\mu\text{g}/\text{m}^3$), Dióxido de nitrógeno ($\text{NO}_2=158,36\mu\text{g}/\text{m}^3$), Monóxido de Carbono ($\text{CO}=965,60\mu\text{g}/\text{m}^3$), Compuestos Orgánicos Volátiles ($\text{COV}=772,48\mu\text{g}/\text{m}^3$) y Ácido sulfhídrico ($\text{H}_2\text{S}=772,48\mu\text{g}/\text{m}^3$). Presentando niveles de emergencia en el parámetro de Material Particulado₁₀, cuyo límite es de $500\mu\text{g}/\text{m}^3$; como también supera el límite establecido del Dióxido de Azufre cuyo valor límite es $200\mu\text{g}/\text{m}^3$ (GADPO, 2015, p.31).

Las mediciones de contaminantes por métodos físico-químicos, se podría aseverar que de alguna manera no revelan resultados que nos describan los efectos de los contaminantes en los ecosistemas, por ese razón la utilización de bioindicadores es un método que complementa la evaluación del aire (Segura, 2013, p.3). En el estudio de la calidad del aire los líquenes han sido ampliamente estudiados y utilizados en el monitoreo ambiental como bioindicadores (Hawksworth, Iturriaga y Crespo, 2005; Lijteroff, Lima y Prieri 2009). A lo largo de los años se ha demostrado que los líquenes pueden considerarse como evaluadores de la calidad del aire, a través del daño que sufren debido a las emisiones; para ello se ha utilizado los talos de líquenes de determinadas especies como indicadores, correlacionándolos con la concentración de metales pesados medidos en el aire, demostrando así su capacidad de bioacumulación (Díaz Rivas, 2006, p.1).

Formulación del problema

¿Qué concentración de contaminantes provenientes de la industria hidrocarburífera bioacumulan los líquenes utilizados en el monitoreo de la calidad del aire de la parroquia San Carlos?

Justificación de la investigación

La actividad hidrocarburífera ha afectado de manera progresiva el equilibrio entre los procesos naturales y la biodiversidad de la parroquia San Carlos, en consecuencia, es conveniente contar con un sistema de monitoreo confiable y complementario, de bajo costo comparado con los métodos químicos y físicos, que permita empezar a establecer indicadores en la calidad atmosférica. Según el Plan de Desarrollo y Ordenamiento Territorial del Gobierno Autónomo Descentralizado Parroquial de San Carlos (GADPO, 2012, p.54), no existen datos estadísticos que den una visión del estado actual de la parroquia en cuanto a la contaminación del aire.

El presente trabajo de titulación, está encaminado a obtener datos reales de calidad atmosférica mediante bioindicadores; debido a que la región amazónica por su geografía incluye áreas con alto grado de vegetación, es posible expandir la investigación en otras zonas de la provincia.

Los líquenes se comportan como recolectores de contaminantes atmosféricos de larga vida, específicamente aquellos asociados a las partículas de metales (Díaz, 2006, p. 2). Muchos estudios a lo largo de treinta años, confirman que los líquenes debido a su naturaleza simbiote poseen características esenciales, entre ellas: crecen en una gran variedad de hábitats, absorben grandes cantidades de contaminantes a través de toda su superficie y viven durante periodos de tiempo considerables (Hawksworth et al., 2005 citado Cango, 2015, p. 4), por lo que se encuentran dentro del grupo de los acumuladores de contaminantes inorgánicos más importantes. La importancia de esta investigación no sólo radica en el conocimiento que proporcionan éstos sobre la calidad del aire, sino que la obtención de datos tales como la predicción de posibles efectos ambientales, la transferencia de los contaminantes a otros organismos superiores y cambios climáticos, son información adicional trascendental (Díaz, 2006, pp. 1-2).

En una primera aproximación del presente trabajo, se identificarán y seleccionarán las especies de líquenes como principales bioacumuladores, en base al método de cartografía de líquenes, combinado con el cálculo del Índice de Pureza Atmosférica (IPA) propuesto por García y Rubiano en 1984, método ampliamente utilizado en países latinoamericanos como Bolivia (Canseco, Anze y Franken, 2006), Perú (Quispe, Ñique y Chuquilin, 2015), Guatemala (Cohn-Berger y Quezada, 2016) entre otros. Luego se continuará con el análisis de la concentración de metales pesados por espectrometría de absorción atómica.

El aporte científico del presente trabajo radica en que proporcionará información base para futuras investigaciones que permitan la creación de redes de vigilancia de la contaminación a través de líquenes, como también la posibilidad de usar a los líquenes como herramientas biológicas en procesos de biorremediación, en la remoción de metales pesados del agua.

Objetivos de la investigación

Objetivo general

Evaluar la capacidad bioacumuladora de contaminantes en líquenes, utilizados en el monitoreo de la calidad del aire de la parroquia San Carlos, cantón La Joya de los Sachas, provincia de Orellana.

Objetivos específicos

- Caracterizar la calidad del aire de la parroquia San Carlos, usando el método de cartografía de líquenes.
- Evaluar las especies de líquenes pertinentes para el caso mediante el uso de manuales-guías.
- Cuantificar las concentraciones de contaminantes en los líquenes, posterior al proceso metodológico.
- Proporcionar información base para futuras investigaciones que requieran estudiar a los líquenes como agentes biológicos en procesos de remoción de metales pesados en el agua.

Hipótesis

Hipótesis Alternativa:

Existe diferencia entre las concentraciones de metales pesados en líquenes localizados en la estación con contaminación, que en la estación sin contaminación.

Hipótesis Nula:

No existe variación en las concentraciones de metales pesados en las estaciones de monitoreo.

Identificación de variables

- **Variable dependiente:** Capacidad bioacumuladora de los líquenes.
- **Variable independiente:** Concentración de contaminantes.
- **Variable interviniente:** Índice de Pureza Atmosférica

Operacionalización de variables

Tabla 1-0: Operacionalización de variables

Variables	Conceptualización	Indicador	Instrumentos y procedimientos de medición
Dependiente: Capacidad bioacumuladora de los líquenes	Reflejan el contenido químico de un ambiente que ha sufrido alteraciones, retenidos en la estructura de los líquenes.	Ausencia Presencia Cambios morfológicos (coloración)	<ul style="list-style-type: none"> • Análisis del contenido de contaminantes en los líquenes.
Independiente: Concentración de contaminantes	Cantidad de contaminantes contenidos en un organismo.	Alto Bajo	<ul style="list-style-type: none"> • Espectrometría de masa. • Espectrometría UV-visible.
Intervinientes: Índice de Pureza Atmosférica (IPA)	Niveles de contaminación del aire que determina si este es apto para el desarrollo un ecosistema.	Muy alta Alta Media Baja Muy baja Sin contaminación	<ul style="list-style-type: none"> • Reportes de monitoreo de la calidad del aire de la parroquia. • Cálculo del Índice de Pureza Atmosférica. • Cartografía de líquenes.

Realizado por: González, Andrea, 2018

CAPÍTULO I

1 MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

1.1 Antecedentes de la investigación

1.1.1 *Líquenes como bioindicadores de la calidad atmosférica*

Los líquenes epífitos (que crecen sobre la corteza de los árboles) fueron reconocidos en 1886 como bioindicadores de aire (Nylander 1866 citado en Rincón 2012, p. 29). En varios países del mundo se han realizado estudios que utilizan a los líquenes como bioindicadores para valorar el estado de contaminación del aire de un área específica, pues ellos responden con cambios de su morfología o comportamientos biológicos ante ciertos niveles de contaminantes (Méndez y Monge, 2011, p. 52), tales como: Canseco et al. (2006); Anze, Franken, Zaballa, Pinto, Zeballos, Cuadros y Del Granado, (2007); Lijteroff et al., (2009); Ghirardi, Fosco, Gervasio, Imbert, Enrique y Pacheco (2010); Mateus, Aguirre y Lucking, (2012); Hurtado, Gomez, Fernández, Galarraga, Hernández y González (2013); Ochoa y Cueva (2015); Cohn-Berger y Quezada (2016).

En la investigación realizada en la ciudad de San Luis, Argentina se muestrearon líquenes por el centro, Noreste, Sureste y el Control en la ciudad de Juana Koslay, el contaminante estudiado fue el SO₂ emitido por la combustión interna del tráfico vehicular de dicha ciudad y se obtuvieron los siguientes resultados: los valores más bajos en el IPA se encontraron en la ciudad de San Luis y los más altos en el área control en Juana Koslay. La ausencia casi total de líquenes en la ciudad de San Luis refleja la baja calidad del aire en el espacio urbano y la eficacia de los líquenes como bioindicadores de la contaminación aérea (Lijteroff et al., 2009 citado en Rincón, 2012, pp.30-31).

El estudio realizado en Ecuador, donde se evaluó la calidad del aire en siete parques de la ciudad de Loja, y se registró la presencia y la cobertura de líquenes epífitos sobre árboles de *Salix humboldtiana*. También se determinaron los niveles de contaminación con el Índice de Pureza Atmosférica (IPA). Los resultados mostraron la existencia de una mayor calidad

ambiental en las zonas norte y sur de la ciudad, mientras en los parques ubicados en la zona central de la urbe mostraron lo contrario, muy relacionados con un aumento de tráfico vehicular. Las comunidades de líquenes epífitos resultaron ser excelentes indicadores biológicos para la determinación de la contaminación del aire en la ciudad (Ochoa et al., 2015, p.333).

Son muchos los estudios realizados a nivel mundial que emplean los líquenes para biomonitorizar la calidad del aire, utilizándolos como bioindicadores cuando manifiestan síntomas particulares como respuesta a los cambios ambientales o como bioacumuladores cuando por medio de ellos, se logran medir químicamente las sustancias acumuladas en sus tejidos. Su uso tan generalizado se debe a que su estructura está formada por un alga y un hongo que le confieren al líquen características particulares: mayor longevidad, todos los nutrientes los obtienen de la atmósfera y presentan requerimientos mínimos para sobrevivir (Méndez, 2011, p.64).



Figura 1-1: Mapa mundial de los países que han realizado estudios con líquenes

Fuente: Méndez, 2011

1.1.2 Líquenes como bioacumuladores de metales pesados

En Perú, Díaz (2006, p.154) realizó su tesis de posgrado donde demuestra la utilización de los líquenes como bioindicadores de contaminación por presencia de metales pesados en áreas andinas ubicadas en los alrededores de las unidades mineras, se tomaron como referencia elementos como: cobre, zinc, plomo, cadmio, plata, arsénico y manganeso. La concentración de metales fue medida utilizando espectrometría de masa con fuente acoplada de plasma inducida (ICP-MS), instalado en el laboratorio de análisis elemental del Field Museum de Chicago. Los resultados mostraron que definitivamente existe una carga de metales en el ambiente,

específicamente en los cursos de agua aledaños a las zonas muestreadas. Se demostró también que los líquenes funcionan como bioacumuladores sumamente eficientes, especialmente los líquenes foliosos *Xanthoparmelia sp* y *Paraparmelia sp*. Finalmente, probó que los líquenes no liberan los metales pesados que acumulan extracelularmente, lo cual el autor propone dejar inicios para posteriores investigaciones con el fin de utilizarlos como posibles agentes de limpieza en agua.

Bosch, Barca, Mirocle y Lalli (2012, pp.25-26), reportaron en su estudio “los líquenes como bioindicadores del contenido de metales pesados en el entorno de la Iglesia de los Santos Juanes de Valencia”, que los líquenes bioacumulan contaminantes de la industria agrícola, cerámica, automovilística y de la construcción que son abundantes en la ciudad en Valencia. El análisis de las cantidades de metales pesados, expresadas en ppm, se realizó mediante la técnica de ICP-MS tras ataque ácido. Los metales pesados que se analizaron fueron: Vanadio, Cromo, Magnesio, Cobalto, Níquel, Cobre, Zinc, Arsénico, Rubidio, Estroncio, Molibdeno, Cadmio, Antimonio, Bario, Plomo, Bismuto y Uranio. Finalmente se concluye que en la ciudad de Valencia existe contaminación principalmente de Cd, Cu, Mo y Sb, encontrando en los líquenes valores mucho mayores a los normales en el aire urbano.

1.1.3 Líquenes en el monitoreo activo (trasplante)

Brodo (1968) fue el primero en realizar el método de trasplante donde recolectó especies de *Parmelia caperata* en Long Island en New York en un lugar apartado de las emisiones de azufre para luego ser adaptados en diferentes lugares la ciudad o donde se apreciaba focos de contaminación por azufre, mostrando cambios en su coloración de amarillo a blanco (Rincón, 2012, p.40).

El estudio de Hurtado et al., (2013, pp.5-8) se realizó en el estado de Aragua, Venezuela, en donde se utilizó *Parmotrema sancti angelii* (Lynge) Hale, como biomonitor activo de la contaminación por metales provenientes de las emisiones asociadas a la mina Loma de Níquel, Estado Aragua, estas especies fueron trasplantadas de una zona sin contaminación a la zona en estudio, ubicándolas a lo largo de un transecto de los alrededores de la mina. Adicionalmente, se colectaron muestras de suelo superficial con la finalidad de determinar el factor de enriquecimiento de los metales entre ellos: Al, Co, Hg, Fe, Mg, Mn, Ni y Ti. *Parmotrema sancti angelii* (Linge) Hale fue expuesta por tres meses a la contaminación por la actividad minera, resultando ser un potencial bioacumulador luego de que se hicieran los respectivos análisis en el laboratorio mediante el uso de Espectrometría de Emisión Óptica por Plasma Inductivamente Acoplado ICP-OES.

1.2 Marco teórico

1.2.1 Contaminación

Según el Acuerdo Ministerial 061, lo define como:

La presencia en el medio ambiente de uno o más contaminantes o la combinación de ellos, en concentraciones tales y con un tiempo de permanencia tal, que causen en estas condiciones negativas para la vida humana, la salud y el bienestar del hombre, la flora, la fauna, los ecosistemas o que produzcan en el hábitat de los seres vivos, el aire, el agua, los suelos, los paisajes o los recursos naturales en general, un deterioro importante. (Acuerdo Ministerial 061, 2015)

1.2.2 Contaminación atmosférica

Según el Acuerdo Ministerial 050 de Norma de Calidad del Aire Ambiente define como contaminación atmosférica:

La presencia de sustancias en la atmósfera, que resultan de actividades humanas o de procesos naturales, presentes en concentración suficiente, por un tiempo suficiente y bajo circunstancias tales que interfieren con el confort, la salud o el bienestar de los seres humanos o del ambiente. (Acuerdo Ministerial 050, 2015)

1.2.3 Contaminante atmosférico

El Registro oficial No. 464 del 7 de junio del 2011 Acuerdo Ministerial No 050 del 4 de abril de 2011, la define como “cualquier sustancia o material emitido a la atmósfera, sea por actividad humana o por procesos naturales, y que afecta adversamente al hombre o al ambiente”

1.2.4 Contaminación atmosférica en San Carlos de la provincia de Orellana

El Gobierno Autónomo Descentralizado Parroquial Rural de San Carlos, durante la realización de su PDOT (2015) estableció que, los principales impactos ambientales en el territorio, se deben a la fragmentación de los ecosistemas por la intervención de las empresas petrolera, ya que en todas las etapas de aprovechamiento del recurso hidrocarburífero se generan emisiones que alteran y contaminan el recurso natural del aire (GADPRSC, 2015, pp.43-44).

Tabla 1-1: Descripción de recursos naturales bajo presión o degradación

Recurso	Descripción del recurso bajo presión	Causa de degradación	Nivel de afectación
Flora	Fragmentación de los ecosistemas que presenta el territorio parroquial. Alteración y cambio de la flora natural. Áreas destinadas a conservación presentan altos índices de deforestación para el aprovechamiento de sus recursos.	Deforestación. Explotación de los recursos naturales. Construcción de infraestructura petrolera. Apertura de vías de acceso al interior	Alto
Fauna	Alteración de los hábitats naturales Disminución del área de abastecimiento alimenticio de la fauna del sector.	Caza indiscriminada Aperturas de vías de acceso al interior Construcción de infraestructura petrolera	Alto
Agua	Microcuencas sistemas hídricos internos de la parroquia. Río Huamayacu, Río Yanayacu, Quebrada Basura, Estero Sapito y Drenajes menores que discurren hacia el Río Napo Ubicación de minas de áridos y pétreos	Minería ilegal, deforestación. Evacuación de residuos por medio de los drenajes naturales. Contaminación con residuos especiales productos de la explotación petrolera.	Alto
Aire	En todas las etapas de aprovechamiento del recurso hidrocarburífero se generan emisiones que alteran y contaminan el recurso natural del aire.	Polvo en el ambiente Emisiones de gases Emisiones de ruidos	Alto
Suelo	Alteración en todos los ámbitos y estratos debido a todas las actividades antropogénicas que se desarrollan dentro del territorio parroquial.	Existencia de pasivos ambientales que no reciben ningún tratamiento especial y que se encuentran a la intemperie.	Alto

Fuente: Gobierno Autónomo Descentralizado Parroquial Rural San Carlos, 2015

1.2.5 Contaminantes atmosféricos de la industria petrolera y la salud humana.

Dentro de la industria petrolera se determinan diferentes contaminantes del aire, muchos de ellos afectan a la salud humana, desde irritaciones leves, hasta el desarrollo de graves enfermedades. Entre los contaminantes que pueden causar repercusiones son:

1.2.5.1 Monóxido de carbono

Es un producto más común en la combustión de materiales fósiles como el petróleo. Se forma por proceso incompleto de combustión de carbono o de sus compuestos.

Efectos: A los niveles de concentración en que se encuentran en el aire urbano, no afecta a las plantas, pero es venenoso para los humanos, por lo interviene en el transporte de oxígeno en la sangre. Los efectos en la salud se hacen más graves conforme aumente la cantidad de monóxido de carbono en el aire y el tiempo de exposición (Ramírez, 2015, p.57).

1.2.5.2 Dióxido de azufre

El dióxido de azufre es el derivado de azufre que más frecuentemente contamina el aire. Es un contaminante de tipo primario que se produce en la combustión de carbono y petróleo que lo contiene. Algunos procesos industriales emiten trióxido de azufre (SO₃), el cual se forma también en la atmósfera en pequeñas cantidades.

Efectos: Los efectos tóxicos de los óxidos de azufre para el ser humano son: dificultad para respirar, debido al espasmo o contracción de los bronquios, irritación de la garganta, de los ojos y tos, en cantidades elevadas puede llegar a ser mortal (Ramírez, 2015, p.57).

A pesar de que no existen pruebas concluyentes de que este gas provoque enfermedades respiratorias, se ha encontrado una correlación específica entre la presencia de óxidos de azufre en la atmosfera y el aumento de muertes por enfermedades crónicas, cardiovasculares y respiratorias (Ramírez, 2015, p.57).

1.2.5.3 Óxidos de nitrógenos

El monóxido de nitrógeno (NO) y dióxido de nitrógeno (NO₂) son contaminantes primarios del aire. El NO, también llamado óxido nítrico, es un gas incoloro e inodoro, en tanto que el NO₂ es un gas color rojizo, de olor fuerte y asfixiante, parecido al del cloro.

El óxido nítrico se forma mediante la reacción de oxígeno con el nitrógeno en el aire. Esta reacción ocurre a altas temperaturas durante el uso de combustibles fósiles. El dióxido de nitrógeno se forma a su vez, por la reacción del monóxido de nitrógeno con el oxígeno.

Efectos: No se conoce con certeza los efectos de los óxidos de nitrógeno. Sin embargo, algunos de los contaminantes secundarios que se forman a partir de ellos son mortales para las plantas (Ramírez, 2015, p.57).

El dióxido de nitrógeno afecta los pulmones y es tóxico. Actualmente se investiga qué daños produce en la población humana que está expuesta durante largos periodos a bajas concentraciones de estos óxidos (Ramírez, 2015, p.57).

1.2.5.4 Hidrocarburos

Se consideran como contaminantes primarios; su importancia radica en la gran cantidad de fuentes y volumen de sus emisiones al aire.

Efectos: Algunos hidrocarburos son tóxicos para las plantas y animales a elevadas concentraciones, pero no se ha demostrado qué efectos tóxicos y daños provoca en las vías respiratorias en los humanos en concentraciones bajas. Otros contaminantes muy importantes son elementos como el plomo, el cadmio y el flúor, de origen industrial y los que se ha relacionado con afecciones cardíacas, hipertensión arterial, arterioesclerosis, cáncer broncopulmonar, anomalías en los huesos y afección de los riñones (Ramírez, 2015, p.58).

1.2.5.5 Metales pesados

Cromo. - Frecuentemente son acumulados en ambientes acuáticos, por lo que existe probabilidades de ingerir pescado contaminado. Los niveles bajos de exposición pueden provocar irritación de la piel y úlceras, mientras que la exposición prolongada puede causar daños hepáticos y renales, al tejido nervioso y al sistema circulatorio (Schinitman, 2004).

Plomo. - El plomo es un metal que se presenta de forma natural en pequeñas cantidades. La mayor parte de la concentración de plomo en el medio ambiente proviene de la actividad humana que incluye quema de combustibles fósiles, minería y procesos de manufactura. El plomo tiene varias aplicaciones diferentes, ya sea en estado elemental, en aleaciones o formando compuestos. Se usa en la manufactura de baterías; aleaciones de plomo son utilizadas en la fabricación de municiones, productos metálicos como tuberías y soldadoras y pigmentos; compuestos de plomo son usados en la producción de vidrios, cerámicas, estabilizadores de plásticos y pinturas. El uso de plomo en gasolinas (tetraetilo de plomo), 26 en tuberías, latas de

comida y pinturas, fue eliminado y prohibido hace más de 20 años debido a efectos tóxicos para el medio ambiente y el hombre (ATSDR, 2007a).

Cadmio. - Es un elemento escasamente distribuido en la corteza terrestre, está asociado a minerales de cobre, plomo y zinc. Es liberado al suelo, agua y aire durante la extracción y refinación de metales no ferrosos, manufactura y aplicación de abonos de fosfato, combustión de combustibles fósiles y la disposición e incineración de basura. Efectos: Es persistente en el ambiente y si es absorbido por el organismo humano puede persistir por décadas antes de ser excretado. En humanos, la exposición prolongada se relaciona con la disfunción renal. También puede llevar a enfermedades pulmonares, se la ha relacionado con el cáncer de pulmón y puede provocar osteoporosis en humanos y animales. El ingreso medio diario, para humanos se estima en 0,15 µg proveniente del aire y 1 µg del agua. Fumar unos 20 cigarrillos puede provocar la inhalación de unos 2 a 4 µg (Schinitman, 2004).

Mercurio. - Es un contaminante global. Proviene principalmente de la degasificación de la corteza terrestre, las emisiones volcánicas y la evaporación de las masas de agua. Es utilizado en pilas, lámparas y termómetros. Efecto: Es tóxico y no se lo encuentra naturalmente en organismos vivos. Las intoxicaciones con mercurio pueden provocar temblores, gingivitis, alteraciones psicológicas y aborto espontáneo. Algunos procesos biológicos naturales pueden generar compuestos metilados de mercurio que se bioacumulan en los organismos vivos, especialmente en peces. El mono y el dimetilmercurio son muy tóxicos y provocan enfermedades neurológicas. La principal ruta de ingreso son los seres humanos por la cadena alimentaria y no por inhalación (Schinitman, 2014).

Arsénico. - Metal con un elevado peso atómico que puede causar daños en los seres vivos y tienden a acumularse en la cadena alimenticia (Schinitman, 2014). Se encuentra principalmente en la naturaleza en minerales, como tetra sulfuro de arsénico (As_4S_4), trisulfuro de arsénico (As_2S_3) y arsenolita (As_2O_3), y solo se encuentra en su forma elemental en una pequeña medida. Hay más de 150 minerales que contienen arsénico (Budavari y otros 2001; Carapella 1992). Mientras que el arsénico se libera al medio ambiente a partir de fuentes naturales tales como el suelo y los volcanes arrastrados por el viento, las liberaciones de fuentes antropogénicas superan con creces las de fuentes naturales. Las fuentes antropogénicas de arsénico incluyen la extracción y fundición de metales no ferrosos, aplicación de plaguicidas, combustión de carbón, combustión de madera e incineración de desechos. La mayoría de los antropogénicos las emisiones de arsénico son a la tierra o al suelo, principalmente en forma de pesticidas o desechos sólidos. Sin embargo, cantidades sustanciales también se liberan al aire y al agua. (ATSDR, 2007b).

1.2.6 Bioindicador atmosféricos

Hawksworth (1992), señala que un Bioindicador o indicador biológico se define como organismo cuyas funciones vitales se relacionan con efectos medioambientales ya sean naturales o antropogénicos, de tal forma que pueden ser utilizados para señalar la presencia de alguno de estos factores. Los bioindicadores ambientales pueden responder a contaminaciones ambientales mediante los cambios fisiológicos y morfológicos o a través de su capacidad de acumulación. En el caso de los bioindicadores de contaminación atmosférica, su utilidad radica en medir directamente el impacto de los contaminantes sobre organismos vivos principalmente los vegetales (Riquelme, 2008, p.3).

Tabla 2-1: Bioindicadores forestales de contaminación atmosférica.

Indicadores	Tipo de indicación
Anillos (Xilema) de <i>Cupressus macrocarpa</i>	Acumulación de Cd y Cr en anillos de crecimiento.
Corteza de árboles de varias especies	Acumulación de polvo y/o el complejo de contaminantes con preferencia por gases ácidos.
Hojas de especies de hoja grande como <i>Drimys sp.</i> y <i>Populus sp.</i>	Acumulación de polvo en hojas.
Musgos	Reacción visible al complejo de contaminantes con preferencia por gases ácidos; acumulación de metales pesados.
Líquenes	Reacción visible al complejo de contaminantes con preferencia por gases ácidos (SO ₂), amoníaco y fluoruros; acumulación de metales pesados y radioactivos. También reaccionan visiblemente a los rayos U.V.
<i>Abies sp.</i> (Abeto)	Acumulación de S en acículas, medición de los efectos del O ₃ en los cloroplastos.
<i>Acer pseudoplatanus</i> (Arce blanco)	Acumulación de HF.
<i>Eucalyptus sp.</i> (Eucalipto)	Reacción visible a los policíclicos aromáticos carbonados (PAC).
<i>Pinus sp.</i> (Pinos)	Reacción visible al SO ₂ y acumulación de PAC
<i>Populus sp.</i> (Álamo)	Acumulación de polvo y SO ₂
<i>Prunus domestica</i> (Ciruelo)	Reacción visible por HF y metales pesados
<i>Taxus baccata</i> (Tejo negro)	Acumulación de HF.
<i>Tilia sp.</i>	Acumulación de metales pesados
Vegetales en general	Reacción visible al polvo.

Elaborador por: González, Andrea, 2018

Fuente: Riquelme, 2008

1.2.7 Características generales de los líquenes

Rivera (2012) define a los líquenes como: “el resultado de la combinación simbiótica de un hongo (filamentos tabicados, no clorofílicos) y un alga (células con clorofila)”.

1.2.7.1 Simbiosis líquénica

El término "simbiosis" hace referencia a la interacción de dos organismos diferentes que viven juntos.

En una simbiosis se da un tipo de interacción entre dos especies diferentes que se influyen la una a la otra de forma positiva como resultado de una coexistencia. Si las dos especies resultan beneficiadas de la coexistencia, en el modo en que sus vidas independientes serían mucho más difíciles o imposibles, hablamos de "mutualismo". Si los dos organismos se asocian para beneficiarse a un mismo y no a un fin recíproco, hablamos de "antagonismo". Y si en la relación solo se beneficia uno de los componentes, es decir el otro ni se beneficia ni se perjudica, entonces hablaríamos de "comensalismo" (López, 2012).

El componente fúngico (micobionte) de una simbiosis líquénica está formado por hongos "liquenzados" que no se encuentran libres en el ambiente porque necesitan el aporte de azúcares que obtienen de las algas. Por otro lado, el componente algal (ficobionte) puede vivir de forma independiente, o sea, que en realidad el micobionte explota al ficobionte quien vive favoreciendo el crecimiento y la reproducción del micobionte. Por lo que se puede decir que la simbiosis líquénica es del tipo comensalista (López, 2012).

1.2.7.2 Estructura

La estructura del líquen por lo general “está formada por un talo (ver Figura 2-1), compuesto por un córtex superior, una capa algal, que contiene todas las células del alga, una medula y un córtex inferior” (Díaz Rivas, 2006, p.5).

Los órganos reproductores tienen distintas formas y estructuras adicionales como cilios y rizinos. En el córtex superior e inferior es donde se acumulan las partículas de la contaminación ambiental o los metales pesados a los que están expuestos los líquenes. En algunos casos, los contaminantes, pueden penetrar hasta la capa algal y perjudicar el aparato fotosintético de ella. (Díaz Rivas, 2006, p.5)

El talo de los líquenes está conformado por hifas tejidas entre sí que rodean y protegen al alga. El talo puede ser homómero, lo que quiere decir, sin estratificación apreciable y las algas se hallan repartidas de manera uniforme entre las hifas. Si el talo es heterómero los estratos se pueden apreciar y el alga se halla en una capa próxima a la superficie, llamada capa gonidial. La medula se encuentra debajo de la capa y formado por hifas. La zona que está en contacto directo con el sustrato tiene el nombre de córtex inferior y pueden aparecer hifas que tiene la función fijar el líquen al soporte (Díaz Rivas, 2006, p.5).

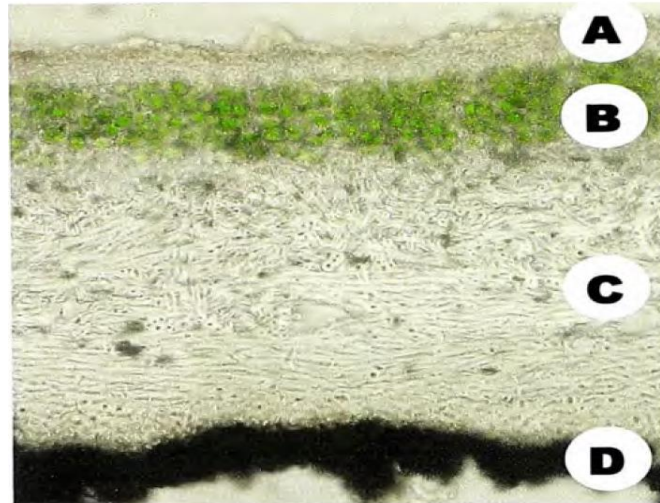


Figura 2-1: Estructura interna de un líquen. (A) Córtex superior, (B) Capa algal, (C) Medula o capa central, (D) Córtex inferior

Fuente: Díaz, 2006

1.2.7.3 Biología

Los líquenes son un grupo especial de hongos denominados “hongos liquenizados”. Algunos de estos hongos pertenecen al grupo de los Basidiomycetes (hongos que forman cuerpos reproductores produciendo basidias y basidiosporas) y una gran mayoría al grupo de los Ascomycetes llamados así porque dentro de las estructuras reproductoras (apotecios) se encuentran las estructuras reproductoras “ascas” que a su vez contiene ascosporas (Díaz, 2006, pp.3-7).

De los hongos liquenizados identificados, hay solo unas 100 parejas fotosintéticas de algas verdes y cianobacterias, un ejemplo muy común el alga verde del género *Trebouxia*, la cual es encontrada en muchos líquenes de regiones templadas y árticas / alpinas, incluyendo todas las especies del género *Cladonia*. Las especies de *Trebouxia* son encontradas muy pocas veces como células de vida libre en la naturaleza, estas parecen haberse especializado en la simbiosis

liquénica. Otro fotobionte muy común es el alga filamentosa del género *Trentepohlia*, especialmente en regiones tropicales y del Mediterráneo (Díaz Rivas, 2006, p.7).

En general, los líquenes que se utilizado en estudiados sobre la capacidad de bioindicadores de metales pesados, son las que tienen *Trebouxia* como fotobionte, porque son los líquenes de mayor abundancia en zonas de alto impacto ambiental (Díaz Rivas, 2006, p.8).

Los líquenes se distribuyen en todo el mundo, se lo puede encuentran desde los círculos polares hasta las zonas desérticas, desde las playas hasta las selvas y bosques húmedos. Son muchos los factores que interfieren en su distribución, entre ellos; el agua, la temperatura, la luz y la humedad. Los líquenes tienen la capacidad de vivir en diferentes sustratos, por ejemplo: sobre las rocas, madera o árboles, tierra, hojas e inclusive sobre el estiércol de ciertos animales. (Ribera et al., 2012, p.39).

1.2.7.4 Fisiología de los líquenes

Los líquenes son considerados dentro del *Reino Fungi* (hongos) a pesar que tiene organismo de dos reinos como es el *Reino Plantae*, los que crecen sobre la corteza de los árboles se conoce como líquenes epífitos; epi – sobre; fito – planta. (Kett, Dong, Andrachuk, y Craig, 2010, p.3) y se han identificado alrededor de 20,000 especies liquénicas (Ribera et al., 2012, p.39). Las especies de algas encontradas en los líquenes puede ser clorofitas o cianofitas y los hongos que intervienen en la asociación son Ascomycetes, Basidiomycetes o Phicomycetes. Teniendo una extensa distribución desde los polos al ecuador, creciendo en las superficies con más diversos sustratos inertes u orgánicos (Lijteroff et al., 2009 citado en Ricón, 2012, p.18).

La simbiosis liquénica es una interacción fisiológica que se da entre el hongo y el alga, lo cual es necesario saber para comprender como los líquenes, reaccionan a la presencia de contaminantes en el ambiente, como explica Díaz (2006, p.8) en su estudio

El micobionte tiene dos roles principales en la simbiosis liquénica:

- Proteger al fotobionte de la exposición a la luz intensa y la pérdida extrema de humedad.
- Absorber nutrientes minerales de la superficie subyacente o de metales traza o contaminantes atmosféricos.

El fotobionte, tiene también dos roles principales:

- Sintetizar nutrientes orgánicos a partir de dióxido de carbono.
- En el caso de las cianobacterias, es la producción de amonio principalmente (y luego compuestos nitrogenados orgánicos), por la fijación del Nitrógeno. En algunos ecosistemas como los suelos desérticos y brezales tándricos los líquenes pueden proveer el ingreso de nitrógeno en mayor cantidad al hábitat, lo cual es el soporte de otras formas de vida.

1.2.7.5 *Morfología de los líquenes*

Por la morfología de sus talos, hay varias clases de líquenes:

Gelatinosos: tienen consistencia de gelatina (Figura 3-1), su forma la componen las algas (Ribera et al., 2012, p.39), tiene un talo no estratificado que puede absorber una cantidad grande de agua y tomar esa consistencia (Campos et al., 2008, p.127).



Figura 3-1: Liqueen de talo gelatinoso

Fuente: González, Andrea, 2018

Crustáceos: se presentan como costras irregulares (Figura 4-1), que crecen en el suelo, las rocas o el tronco de los árboles y adhiriéndose al sustrato (Ribera et al., 2012, p.39). Mantienen estrecho contacto con el sustrato del cual al separarse puede ser destruidos. Carecen de córtex inferior o de órganos de sujeción: se sostienen al sustrato por medio de un hipotalo. (Bungartz et al., 2013).

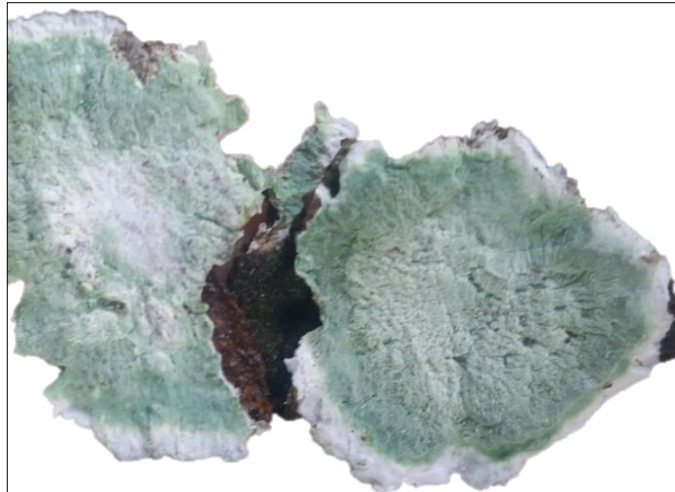


Figura 4-1: Liquen de talo crustáceo

Fuente: González, Andrea, 2018

Foliáceos: posee un talo laminar por lo general lobulado (Figura 5-1), se fijan por medio de grupos de hifas alargadas llamadas rizinas, con las que le ayudan a absorber agua y sales minerales (Ribera et al., 2012, p.39). Son laminares, generalmente se encuentran sobre el sustrato con organización dorsiventral y cara inferior diferenciada. Sus lóbulos se pueden separarse del sustrato al cual pueden estar muy o levemente adheridos (Bungartz et al., 2013).



Figura 5-1: Liquen de talo foliáceo

Fuente: González, Andrea, 2018

Fruticulosos: “Tienen posición erecta y ramificaciones como las de un arbusto (Figura 6-1). Se fijan en el sustrato mediante una base estrecha” (Ribera et al., 2012, p.39). Sobresalen en el sustrato, al que sujetan, discos basales o hapterios. En ocasiones son cortos y casi simples. Pueden ser erectos, colgantes, ascendentes, resupinados o reptantes. Los ejes de las ramificaciones o los lóbulos pueden ser cilíndricos o aplastados y de organizados. “Existen

talos fruticulosos dimorficos, por ejemplo, las especies de *Cladonia* o de *Stereocaulon* que tienen un talo primario crustoso o escuamuloso y un talo secundario fruticulado”. (Bungartz et al., 2013).



Figura 6-1: Liqueen de talo fruticulosos
Fuente: González, Andrea, 2018

1.2.8 Bioquímica de los Líquenes

1.2.8.1 Sustancias liquénicas

Las sustancias contenidas en los líquenes se pueden dividir en primarias y secundarias

Sustancias metabólicas primarias, las cuales se encuentran en el citoplasma y las membranas tanto del hongo como del alga; y son relativamente semejantes entre diferentes organismos. (Díaz, 2006, p.10)

Entre las contenidas en las células se encuentran las siguientes:

- Sustancias inorgánicas, sales minerales.
- Sustancias orgánicas, proteínas, polisacáridos, lípidos, ácidos nucleicos.
- Vitamina C, producida por el hongo.
- Vitaminas del grupo B, producidas por el alga.
- Pigmentos fotosintéticos.
- Pigmentos carotenoides en forma de gotas aceitosas en partes específicas del liquen.
- Lípidos que a menudo se acumulan en las hifas.
- Azúcares: almidón (sólo en el alga), glucógeno (sólo en el hongo o cianofitas).

Sustancias secundarias, las que se encuentran depositadas en las paredes celulares, particularmente del micobionte. Estas varían de acuerdo a la especie, género, familia o nomenclatura superior. Representan un conjunto muy heterogéneo, en su mayoría específicas de los líquenes. Muchas de ellas tienen características ácidas y por ello son denominadas ácidos liquénicos. La función de esas sustancias incluye protección contra la radiación solar e insectos cuya principal fuente alimenticia son líquenes y del mismo modo, juegan un papel importante en la fijación de partículas resultantes de la contaminación, especialmente metales pesados. (Díaz, 2006, pp.10-12)

La mayoría son incoloras, excepto las derivadas del ácido pulvínico y la antraquinona; son insolubles en agua, pero solubles en alcohol, éter, acetona y cloroformo y cristalizan por evaporación del solvente. Algunas dan reacciones coloreadas con el hidróxido de potasio (KOH), el hipoclorito de calcio o sodio (HCL), los ácidos nítrico y clorhídrico, el cloruro férrico y la parafenildiamina (PD). Estas reacciones son de un gran valor taxonómico (Bungartz et al., 2013).

1.2.8.2 Funciones de las sustancias liquénicas

Las funciones de las sustancias liquénicas, se sabe que actúan como antiherbívoros, antibióticos o antifúngicos contra bacterias, musgos y otros hongos respectivamente. También, se conoce que son favorables para el aumento de la absorción del agua, ya que, estas sustancias aumentan la permeabilidad de las algas que facilite el intercambio de nutrientes (glucosa). Tienen función protectora contra la alta radiación de la luz. Se ha dicho que algunas sustancias liquénicas, como el ácido nostictico, importante en la absorción de metales pesados, formando quelatos insolubles que ayudan a extraer los metales de la solución a la que sean expuestos como también del ambiente (Díaz Rivas, 2006, pp. 13-14).

1.2.8.3 Test microquímicos

Muchas sustancias liquénicas pueden ser detectadas microscópicamente gracias a los colores que adquieren al ser puestas en contacto con diversos reactivos químicos, o a la fluorescencia que producen bajo las radiaciones UV de longitud de onda (λ) 254 nm. Estos caracteres no son suficientes para la separación entre especies, pero son de gran valor en la identificación de las mismas. Bungartz et al., (2013) nos menciona algunas de los test químicos más utilizados en los líquenes:

- K (solución 10% de hidróxido de potasio en agua. Reaccionando desde amarillo

hasta el rojo (no confundirse con una reacción pardo que podría ser causada por el daño de células con KOH después una aplicación por mucho tiempo).

- C (solución de hipoclorito; lejía de cloro comercial sin diluir). Dando coloraciones rosas, rojas, naranjas o verdes.
- KC o CK. En este caso se aplica primero un reactivo y a continuación el otro. Se puede observar reacciones similares a los con C o K, pero típicamente más fuertes.
- PD (cristales de parafenilendiamina disueltos en alcohol; o como solución de Steiner). Reaccionando desde amarillo al rojo ferruginoso. Es muy volátil y mancha la piel, la ropa y el papel, y causa cáncer. Por eso hay que tener mucha precaución en el uso.
- I (solución iodada, 0,5-1,5 de IKI = Solución de Lugol). Da coloraciones azuladas, verdosas o rojizas; es especialmente útil para la diferenciación de las estructuras del asco (paredes, tholus, capa periascal) o de la gelatina del himenio. Típicamente aplicado una vez antes (hemiamiloide) y después de la aplicación de K (holoamiloide). Cuando la coloración es muy intensa se debe pasar agua para diluirla y poder observar mejor las estructuras. También se usa como *test* reactivo de la médula o de las esporas.
- UV. se aplica fluorescencia bajo las radiaciones UV a una longitud de onda (λ) 254 nm.

1.2.9 Metabolismo de los líquenes

1.2.9.1 Nutrición

Los líquenes pueden absorber agua por toda su superficie, a pesar de que no todas tienen corteza, el agua es retenida durante mucho tiempo y en mayor cantidad. El polvo atmosférico se adhiere al talo y el agua cae sobre él lo disuelve poco a poco y la corteza absorbe la solución salina. En la vida común es sin duda el alga la que proporciona las sustancias orgánicas indispensable para la vida algunas especies epiflorales las obtienen también de las células muertas de la corteza (Ribera et al., 2012, p.39).

1.2.9.2 Crecimiento y duración de los líquenes

Los líquenes son plantas perennes, casi todas de crecimiento lento que continúa durante mucho tiempo. En general es el hongo el que inicia y dirige el tipo de crecimiento. La posición y desarrollo de las algas dependen de las hifas y de las necesidades de asimilación. En algunas

especies se combina el crecimiento horizontal con el vertical, pues tienen una porción foliosa y otra frutuosa. La velocidad de crecimiento en los líquenes no es siempre igual, en las estaciones húmedas y cálidas, su crecimiento es comparativamente rápido, mientras que en las épocas secas y frías se reduce al mínimo (Ribera et al., 2012, p.39). Los líquenes crecen muy lentamente y en general tienen vidas sumamente largas. En líquenes crustosos saxícolas, como *Buellia aethalea* y *Rhizocarpon geographicum*, encontradas en el estudio de Díaz (2006, p.14) se estima un crecimiento radial de 1 mm por año. Eso significa que un talo de 20 cm de diámetro tiene una edad de más o menos 100 años. El crecimiento lento también significa que los líquenes expuestos a contaminación pueden acumular partículas resultantes de la misma durante tiempos prolongados.

El crecimiento lento de los líquenes y el hecho de que hasta en el estado deshidratado pueden absorber sustancias pasivamente en sus espacios extracelulares, hace que los talos liquénicos a través de largos periodos de tiempo puedan acumular grandes cantidades de contaminantes, aunque la tasa de acumulación relativa al tiempo sea pequeña. Esto es aplicable especialmente para líquenes andinos, ya que estos crecen en un ambiente en donde las temperaturas dominantes son bajas, lo cual solamente permite un crecimiento lento, y además muchos líquenes de esta región son crustosos y ellos crecen con mayor lentitud que los líquenes foliosos y los fruticosos. (Díaz, 2006, p.15)

1.2.9.3 Reproducción de los líquenes

En la gran mayoría de los líquenes, el micobionte u hongo posee estructuras reproductoras llamadas cuerpos fructíferos que tienen forma de disco (apotecios). Igualmente, interesantes son las estructuras para la reproducción vegetativa, que permiten la dispersión de las hifas del hongo y las células del alga en forma conjunta (Ribera et al., 2012, p.40).

Reproducción vegetativa: el tipo más simple son granos finos, llamados soledios (Figura 7-1) o bien por isidios (Figura 8-1) que son proyecciones en forma de dedo o coral. Los cuales se prenden ya sea por acción de los insectos, agua, viento y otros; y es llevado a otros sitios donde las condiciones de temperatura, humedad, luminosidad y sustrato son idóneas para que comience a crecer otro talo liquénico. Los soledios e isidios llevan tanto al alga como al hongo, es la forma de reproducción más ventajosa e importante para los líquenes, permitiendo colonizar sitios que otros organismos no podrían hacerlo. (Ribera et al., 2012, p.40).

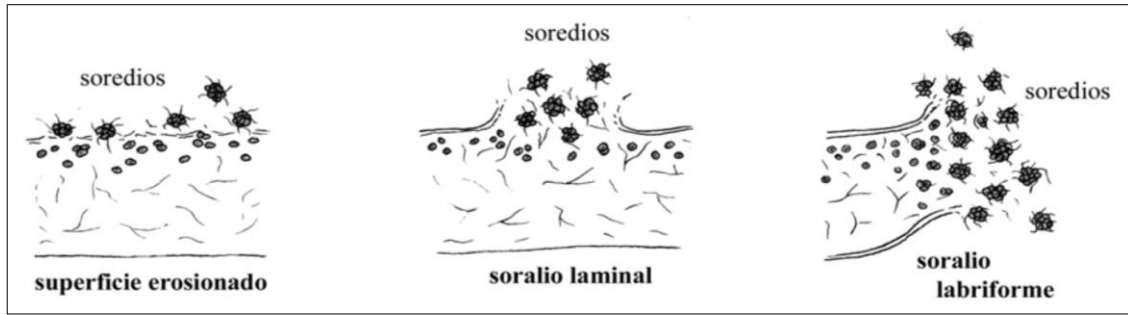


Figura 7-1: Soredios.

Fuente: Ryan et al. (2002), citado en Bungartz et al. (2013).

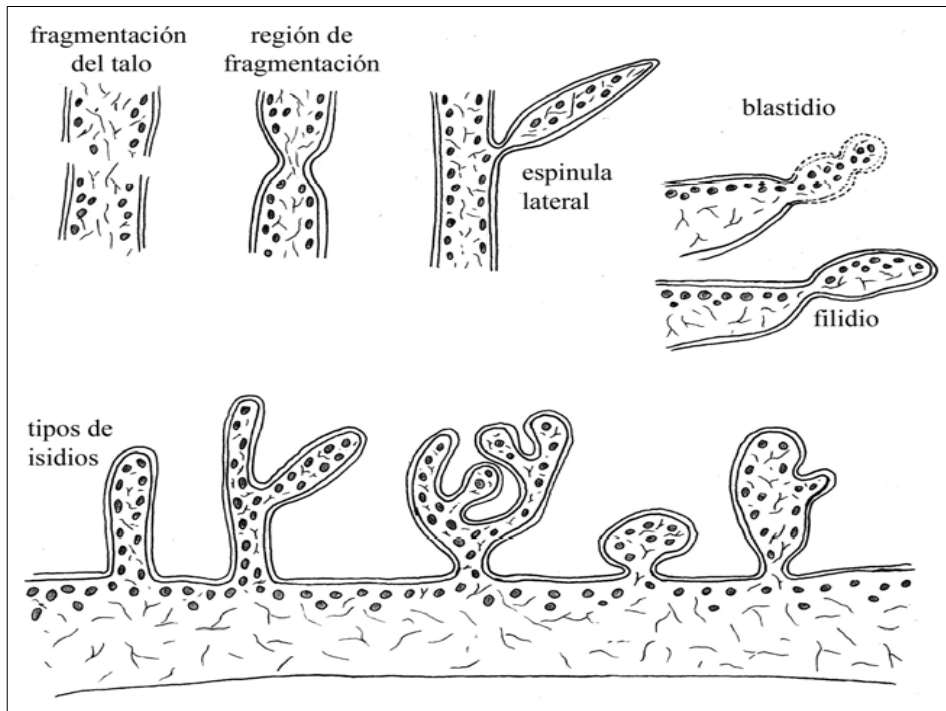


Figura 8-1: Isidios. Propágulos corticados de forma cilíndrica o ramificada

Fuente: Ryan et al. (2002), citado en Bungartz et al. (2013).

Reproducción sexual: se da por unas estructuras llamadas picnidios (Figura 9-1), con filamentos llamados conidióforo, estos producen esporas unicelulares llamadas picnidio poras o pinoconidias donde estas salen por un orificio del talo llamado ostiolo (Aguirre y de Valencia, 1995 citado en Rincón, 2012, p.25).

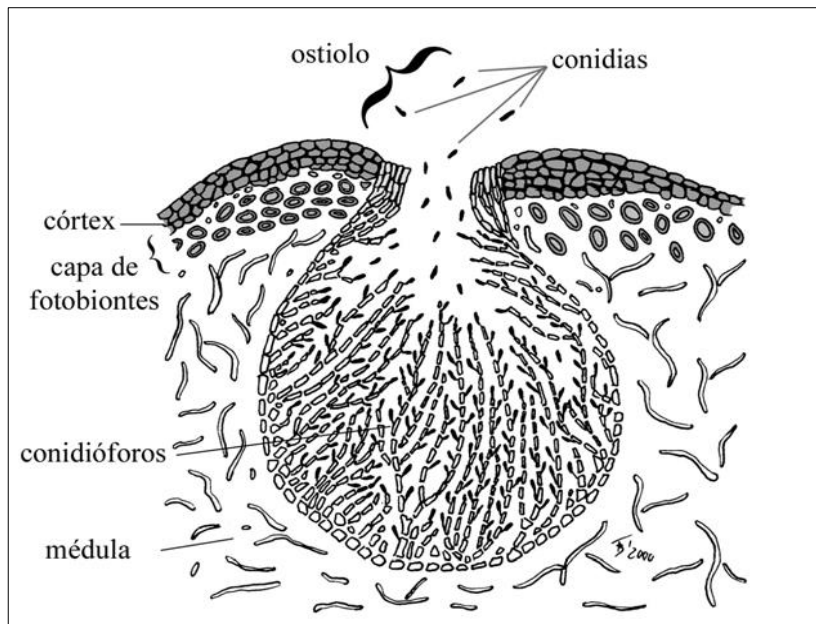


Figura 9-1: El picnidio

Fuente: Bungartz, 2002

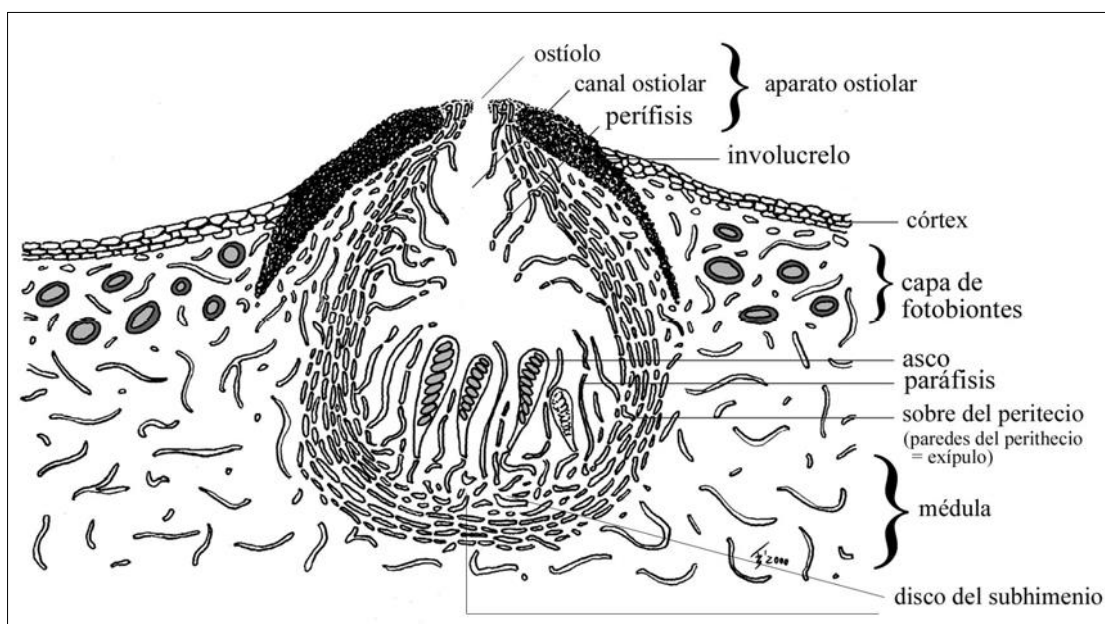


Figura 10-1: Morfología del peritecio.

Fuente: Bungartz, 2002

1.2.10 Ecología

Los líquenes se encuentran desde los niveles más bajos de la costa hasta los más altos de las montañas y desde el ártico hasta las regiones tropicales. Colonizan cualquier superficie que no se desprenda con facilidad y donde haya suficiente luz para que el alga o cianobacteria haga la

fotosíntesis y suficiente humedad para que el hongo permanezca metabólicamente activo por periodos significativos durante distintos periodos de tiempo y de este modo permitir al liquen crecer en tamaño. La humedad y la temperatura no son factores exigentes, pero si son específicos en cuanto al sustrato en el que se desarrollan, ya que los líquenes que crecen en los arboles no son los mismo que viven sobre las rocas. La capacidad de absorber y acumular fácilmente diversas sustancias del ambiente ocasiona que algunos líquenes no soporten niveles altos de contaminación, especialmente las especies de tipos foliosas y fruticosas. (Díaz Rivas, 2006, p.17).

1.2.11 Líquenes como bioindicadores

Existen diferentes razones por las cuales los líquenes están siendo utilizados con tanto éxito en este campo, así lo menciona Hawksworth et al. (2005, p.72) en su estudio:

- Son ubicuos y actualmente se encuentran en aumento en muchos centros urbanos, sobre todo en países desarrollados, gracias a la disminución en la concentración de dióxido de azufre en la atmósfera de las ciudades.
- No poseen una cutícula protectora y absorben nutrientes y contaminantes a través de gran parte de su superficie.
- Su naturaleza simbiótica, ya que, si cualquiera de los simbiontes se ve afectado por algo, ambos organismos mueren.
- Son relativamente longevos, permaneciendo expuestos al efecto nocivo por largos períodos, por lo que proporcionan una imagen de estados crónicos y no de variaciones puntuales del medio ambiente.
- Son organismos perennes que pueden ser muestreados durante todo el año.

1.2.11.1 Ventajas del uso de líquenes como bioindicadores

Los líquenes al ser usados como bioindicadores presentan tanto ventajas como desventajas según Díaz (2006, pp.29-30).

- Los líquenes tienen una amplia distribución geográfica.
- La morfología de los líquenes no muestra variaciones estacionales.
- No existen diferencias en cuanto a disponibilidad o aplicabilidad estacional.

- Los líquenes acumulan radionúclidos del aire, de hecho, la vitalidad de los simbiontes no se ve afectada por ellos siempre y cuando los elementos no ingresen a espacios intracelulares.
- Utilizando a los líquenes, es posible realizar el monitoreo pasivo y activo.
- Existen métodos de exposición estandarizados para los líquenes.
- Existe una correlación entre la acumulación de elementos en el líquen y el ingreso de elementos extraños a los ecosistemas.
- Una gran parte de las especies de líquenes son muy fáciles de muestrear.
- No producen ningún tipo de problema que exija control de enfermedades infecciosas.
- Establecer un programa de monitoreo con líquenes es de bajo costo.
- Las muestras de líquenes proveen una información sumamente confiable en relación a eventos recientes, y por su crecimiento lento, provee información sobre fuentes previas de contaminación o contaminación antigua.
- Es sencillo identificar la presencia o ausencia de líquenes con relación a las condiciones ambientales con elementos tan sencillos como las guías de campo.

1.2.11.2 Desventajas del uso de líquenes como bioindicadores

- Es sumamente difícil cultivar líquenes bajo condiciones controladas o de laboratorio y, por lo tanto, todo el material expuesto debe ser obtenido de la naturaleza.
- Es difícil determinar la fecha exacta del inicio de la contaminación.
- Es un poco complicado saber la edad del líquen.

1.2.12 Biomonitoreo atmosférico con líquenes

Biomonitoreo es la utilización de biomonitores en series definidas de medición con la finalidad de evaluar la calidad del aire en un sitio determinado, para un contaminante específico presente en dicha zona. Anze et al. (2007, p.55) en su trabajo de investigación nombra a los tipos de monitoreo como:

- Biomonitoreo Activo: Cuando los biomonitores son especies que se introducen (trasplantes) y/o se utilizan sistemas de exposición controlada.
- Biomonitoreo Pasivo: Cuando los biomonitores que se utilizan son aquellas especies que se encuentran presentes en los ecosistemas a evaluar.

1.2.13 Líquenes del Ecuador

El “Ecuador es considerado uno de los países más ricos en cuanto a diversidad biológica se refiere. Sin embargo, la flora líquénica del país ha sido muy poco estudiada hasta el momento, a excepción de las Islas Galápagos” (Cevallos, 2012, p.37), en donde Bungartz et al. (2013) reportaron 570 especies del archipiélago.

Actualmente ningún trabajo recoge un listado completo de especies presentes y colectadas en Ecuador, como menciona Cevallos (2012, p.37) en sus tesis de maestría, donde elaboró una Checklist de líquenes y hongos liquénicos de Ecuador continental, revisó todas las referencias bibliográficas con datos de líquenes de Ecuador, dando como resultado en un total de 930 especies en el país.

CAPÍTULO II

2 METODOLOGÍA

2.1 Tipo y diseño de la investigación

La investigación fue de tipo Correlacional-Descriptiva; Correlacional ya que se utilizan determinadas especies de líquenes como bioindicadores relacionándolos con la concentración de metales pesados medidos en el aire, demostrando así su capacidad de bioacumulación y Descriptiva debido a que se describen los niveles de contaminación mediante la medición de los factores de Cobertura, Frecuencia y Diversidad de líquenes. En cuanto al diseño de la investigación fue No Experimental puesto que no se manipulan las variables, sino más bien se las observa los distintos contaminantes presentes en los líquenes de la parroquia San Carlos provincia de Orellana.

2.2 Toma de muestra

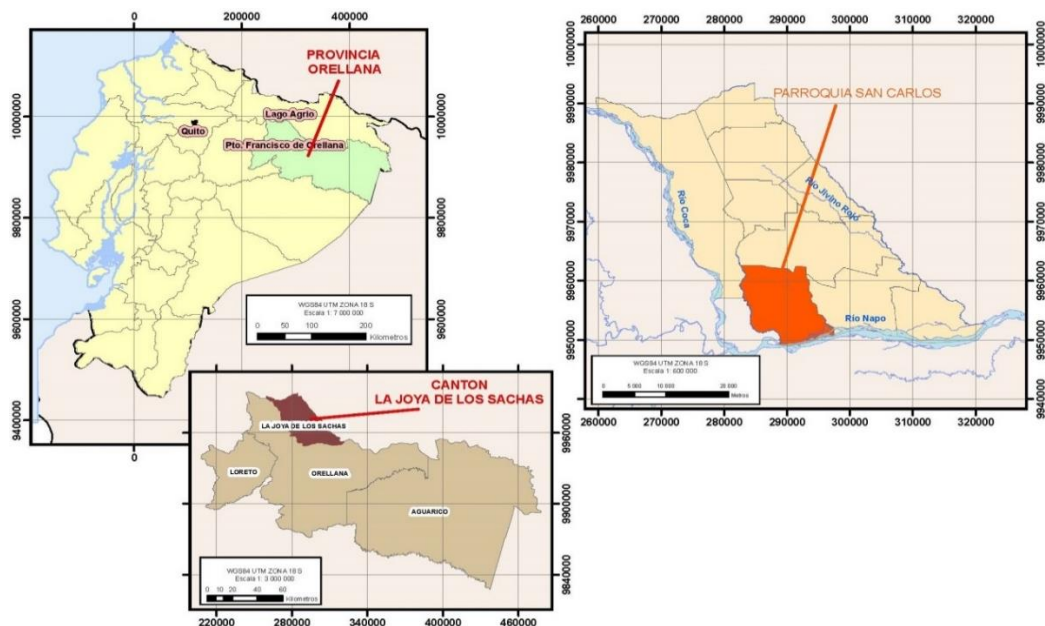
2.2.1 Población de estudio

La parroquia de San Carlos está ubicada al sur del cantón la Joya De los Sachas, provincia de Orellana, en las coordenadas X= 290461 Y= 9958006 (GADPRSC, 2015, p.10-33), su altitud va de 240 a 320 metros sobre el nivel del mar. La humedad relativa media anual es de 83,5%, la cual permanece relativamente constante. Tiene una superficie total de 13.347,41 ha., residen 2.846 habitantes, según el censo del INEC del 2010. (GADPRSC, 2015, p.10-33). En San Carlos debido a la abundante existencia de petróleo en su subsuelo “es una de las parroquias en la cual se ubican tres bloques” (ver tabla 1-2) petroleros que ocupan la totalidad del área de la parroquia (GADPO, 2012, p.36)

Tabla 1-2: Distribución de área petrolera en la parroquia San Carlos

Bloque	Nombre	Operadora	Área en San Carlos (Ha)	% Área
46	MDC	ENAP SIPEC	1.717,23	12,78
47	PBH	ENAP SIPEC	1.347,92	10,03
60	SACHA	EP-PETROECUADOR	10.238,05	76,19

Fuente: PDOT Orellana, 2011 y ARCH (ex DNH, Reporte de Exploración y explotación), 2009



Gráfica 1-2: Gráfico de la zona de estudio (provincia, cantón, parroquia)

Fuente: GADPO, 2012

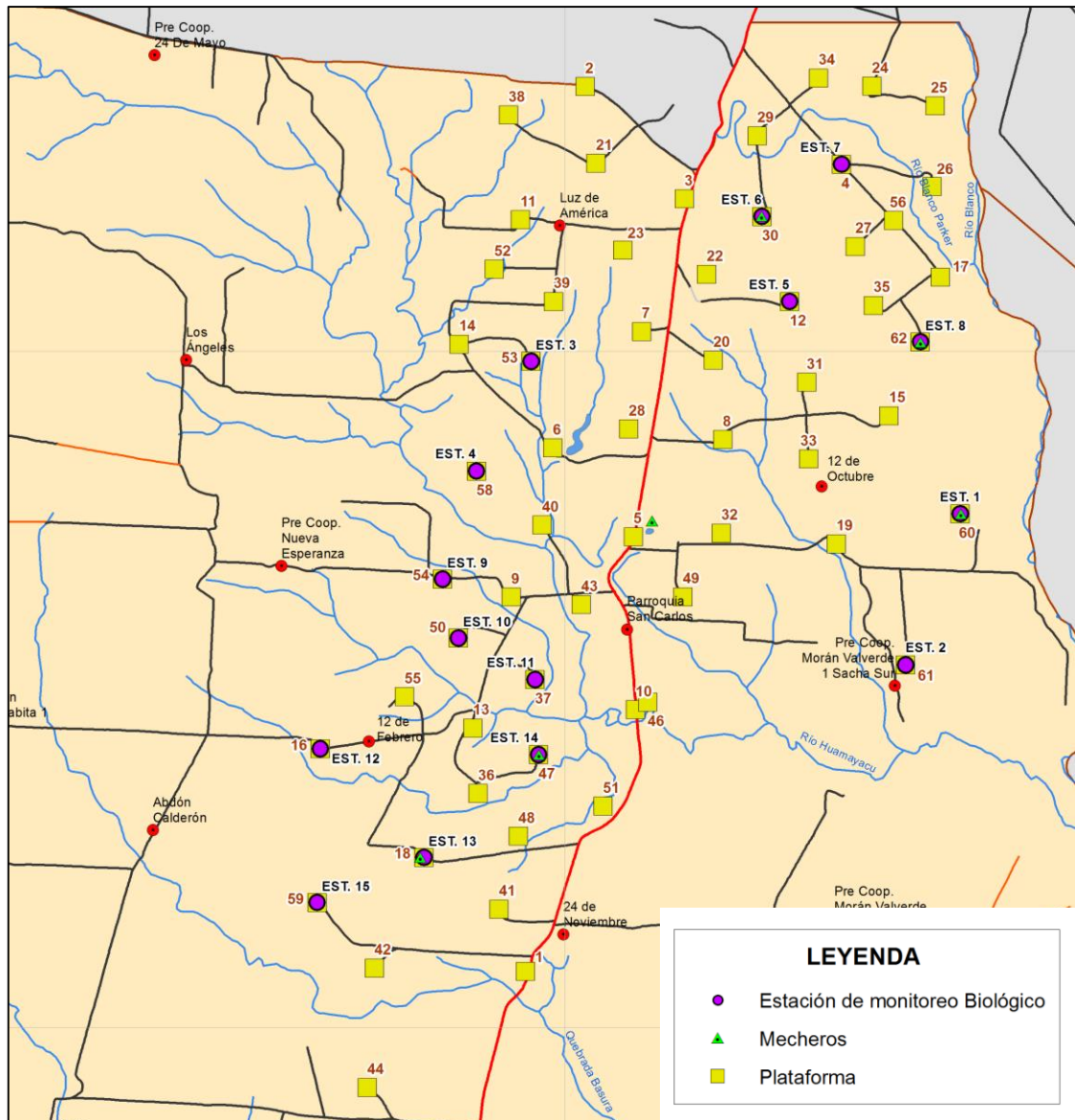
2.2.2 Tamaño de la muestra

El área de monitoreo fue de 1.928,46 ha dentro del Bloque 60 EP-PETROAMAZONAS de la parroquia San Carlos, estableciendo 15 estaciones de monitoreo (Tabla 2-2) y por cada estación 5 árboles de especie maderero Cedro (*Cedrela odorata*) o con características similares.

Tabla 2-2: Estaciones de monitoreo

Nº	Estaciones	Coordenadas X	Coordenadas Y
1	Plataforma 189	292924,25	9958798,86
2	Plataforma 350	292518,31	9957682,54
3	Plataforma 183	289750,48	9959926,27
4	Plataforma 184	289345,04	9959115,75
5	Plataforma 47	291661,90	9960367,97
6	Plataforma 108	291458,46	9960996,61
7	Plataforma 28	292045,05	9961383,06
8	Plataforma 400	292635,00	9960059,38
9	Plataforma 185	289096,25	9958316,64
10	Plataforma 159	289211,76	9957881,49
11	Plataforma 124	289779,21	9957573,11
12	Plataforma 62	288192,50	9957060,22
13	Plataforma 67	288958,28	9956258,25
14	Plataforma 153	289805,07	9957016,51
15	Plataforma 193	288167,98	9955922,60

Realizado por: González, Andrea, 2018



Gráfica 2-2: Mapa de las estaciones dentro del Bloque 60 EP-PETROAMAZONAS.

Realizado por: González, Andrea, 2018

2.2.3 Selección de la muestra

Para la selección de la muestra se considera la presencia de árboles aptos para el muestreo en las estaciones, adultos sanos con tronco uniforme con un mínimo de 50 cm de diámetro y de una misma especie o características similares con la finalidad de obtener una muestra homogénea, por otra parte, se excluyen árboles inclinados, dañados, cortados, pintados y de corteza lisa (Canseco et al., 2006, p.288). Las muestras son retiradas de la corteza del árbol (sustrato) con ayuda de machete y posteriormente colocadas en papel film con su correspondiente identificación. Finalmente, las muestras son transportadas en un cooler térmico, hasta la ciudad del Coca para su posterior caracterización taxonómica en el Laboratorio la Coordinación

General de Gestión Ambiental del Gobierno Autónomo Descentralizado de la Provincia de Orellana.

2.3 Técnicas de recolección de datos

2.3.1 Procesos metodológicos

2.3.1.1 Fase de campo

Dentro de 15 estaciones de monitoreo establecidas, se seleccionan 5 forófitos de características similares por cada estación. Para evaluar la calidad del aire de la parroquia San Carlos se aplica el método de cartografía de líquenes, que consiste en colocar una rejilla verticalmente de 0.1 m² (20cm x 50cm), dividida en 10 cuadrantes de 0,01 m² (10cm x 10cm) sobre el tronco del árbol a 1,50 m sobre el suelo (ver Figura 1-2) y se procede a calcular el Índice de Pureza Atmosférica, propuesto por García y Rubiano (1984) y reformulado por Steubing y Fangmeier (1992). (Canseco et al., 2006, p.289)

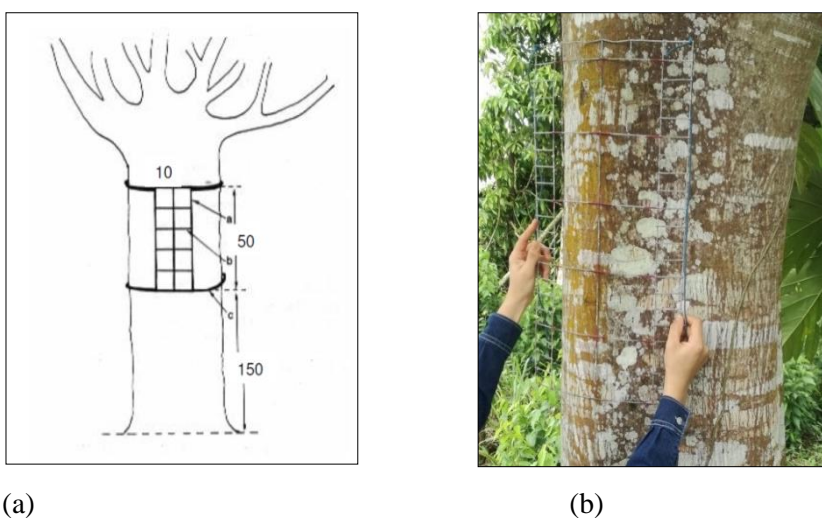


Figura 1-2: Dibujo esquemático de árbol de ensayo con rejilla (a), según la norma VDI-3799. (b) Fotografía del árbol y la rejilla en la estación de monitoreo.

Fuente: Canseco et al., 2006

Los parámetros medidos en cada árbol fueron:

- frecuencia (número de cuadrados en los que se encuentra una especie en estudio);
- cobertura (porcentaje de dicha especie en la superficie cubierta) y
- presencia de la especie en los 5 árboles estudiados.

La frecuencia liquénica, el grado de cobertura y números de especies encontradas por estación son datos tomados en una hoja de campo (Anexo A) elaborada para el estudio como también

datos ecológicos de las especies encontradas, registro de las condiciones ambientales del área y coordenadas geográficas de las estaciones monitoreadas para el mapeo, parámetros que permitirán calcular el factor de resistencia de cada especie.

Los valores de IPA obtenidos son agrupados en seis rangos (Tabla 3-2) con su respectiva clasificación de nivel de contaminación (IPAmín. –Contaminación muy alta; IPAmáx. –Sin contaminación) como lo plantea Canseco (2006, p.289) en su estudio ‘Indicadores de la calidad del aire en la ciudad de La Paz, Bolivia’.

2.3.1.2 Fase de laboratorio

Las muestras de los líquenes son transportadas al laboratorio la Coordinación General de Gestión Ambiental del Gobierno Autónomo Descentralizado de la Provincia de Orellana, para su posterior identificación de especies.

Análisis morfológico y anatómico. – Para la identificación de cada líquen en los niveles de familia, género y especie es necesario la ayuda de un Microscopio Estereoscopio, que permita observar estructuras de importancia taxonómica. Los manuales-guías existentes en bibliografía Bungartz *et al.* (2013); Sipman (claves internet); Campos *et al.*, (2008), también son materiales importantes para este procedimiento. Con las especies encontradas se realiza un catálogo de líquenes (ver Anexo C).

Se recolectan los datos de frecuencia y cobertura de líquenes registrados en la fase de campo, durante noviembre, diciembre del 2017 y enero 2018, meses que presentan precipitación media mensual de 296.4, 260.9 y 187.9 mm respectivamente, según datos de la Dirección de Aviación Civil, DAC. Con estos datos se procede a calcular el IPA (Ecuación 1) y la obtención los niveles de contaminación de la zona, como se describe a continuación:

- Cálculo del IPA:

$$IPA_j = \sum(Q_i x f_i) \quad (1)$$

Dónde:

IPA_j = Índice de Pureza Atmosférica de la estación j.

f_i = Valor total de: Grado de frecuencia de la presencia (frecuencia) más grado de cobertura, más el número de los árboles examinados cubiertos por la especie en cuestión.

Nota: El valor f se modifica de estación a estación.

La rejilla determina el valor de frecuencia y cobertura liquénica cuando esta se coloca sobre el tronco (Figura 2-2), es decir, el número de cuadros cubiertos por cada especie es el resultado de la frecuencia, por ejemplo:

Especie 1 se presenta en 6 de los cuadros (A1, A2, B2, A3, A4 y B4)

Especie 2 se presenta en 7 de los cuadros (A1, A2, A3, A4, B4, A5, y B5)

Especie 3 se presenta en 9 de los cuadros (todos excepto B5)

Especie 4 se presenta en 8 de los cuadros (todos excepto A1 y B5)

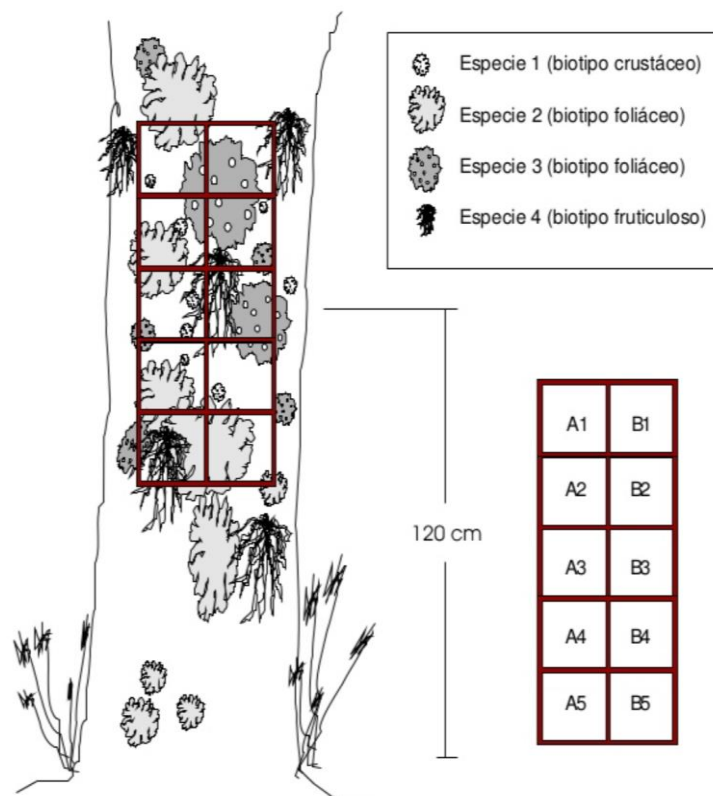


Figura 2-2: Ejemplo de colocación de la rejilla sobre el tronco

Fuente: SSF, Manual Red Ce De Nivel II. Parte VII. Inventario de Líquenes Epífitos, 2016

Para calcular el grado de cobertura se multiplica el número de frecuencia por el número de la especie en común encontrada dentro de la rejilla, siguiendo el ejemplo de anterior sería:

Especie 1 presente 6 veces ocupando 6 de los cuadrados, el % de cobertura es: 36%

Especie 2 presente 4 veces ocupando 7 de los cuadrados, el % de cobertura es: 28%

Especie 3 presente 6 veces ocupando 9 de los cuadrados, el % de cobertura es: 54%

Especie 4 presente 3 veces ocupando 8 de los cuadrados, el % de cobertura es: 24%

Los cálculos se realizan en una hoja de cálculo de Excel, ver Anexo E.

- Cálculo del factor de resistencia:

Q_i = Factor de tolerancia (Ecuación 2) de la especie i , se determina comprobando la cantidad promedio de líquenes asociados a la especie i en cada lugar de muestreo. El valor Q_i resulta ser una constante para cada especie, en el área de investigación, siendo indirectamente proporcional a la contaminación.

Se lo determina con la relación:

$$Q_i = \sum_j \frac{A_j - 1}{N_j} \quad (2)$$

Dónde:

Q_i = Factor de tolerancia de la especie i .

A_j = Número de especies presentes en cada estación (j) donde se encuentra la especie i .

N_j = Número de estaciones (j) donde se encuentra la especie i .

Con el IPA calculado se realiza la agrupación de los rangos y su respectiva clasificación de nivel de contaminación.

Tabla 3-2: Valores de IPA para la zonificación

Rangos	Clasificación
IPA min –	I Contaminación muy alta
–	II Contaminación alta
–	III Contaminación media
–	IV Contaminación baja
–	V Contaminación muy baja
– IPA max. observado	VI Sin contaminación

Fuente: Canseco et al., 2006

- Análisis de concentración de contaminantes por espectrometría:

Para evaluar la capacidad bioacumuladora de contaminante, se selecciona la especie de líquen que tuvo mayor factor de resistencia en el monitoreo, obteniendo una muestra de la estación que presenta un IPA más bajo y una muestra de un lugar sin contaminación aparente como “estación de control”, los análisis se realizan por triplicado, por espectrometría de absorción atómica para metales pesados como: plomo, mercurio, arsénico, cadmio y cobre.

La muestra de líquen es transportada en un cooler térmico hasta la ciudad del Coca y se guardan en refrigeración para luego ser llevadas al Laboratorio AQLAB (Laboratorios de Análisis y Evaluación Ambiental) ubicado en la misma ciudad, para su respectivo análisis. Técnica determinación de metales en líquenes: Norma EPA 200.3 para tejidos biológicos.

1. Lavar la muestra con agua destilada
2. Secar 500 mg de las muestras en una estufa a 80°C durante 5 horas. Después de este tiempo almacenar en bolsas plásticas con cierres herméticos libres de metales y guardar en refrigeración.
3. Colocar la muestra pesada en un erlenmeyer de 125ml. Agregar 10ml de ácido nítrico (HNO_3) concentrado y calentar en un plato calefactor.
4. Incrementar la temperatura hasta que la solución se torne color marrón.
5. Retirar del plato calefactor, enfriar a temperatura ambiente y agregar 5ml de ácido nítrico concentrado.
6. Volver a colocar en el plato calefactor hasta que la solución se torne marrón nuevamente.
7. Retirar y enfriar nuevamente, agregar 2ml de ácido nítrico y colocar en el plato calefactor donde se calienta hasta que el volumen se reduzca a 5-10ml.
8. Enfriar las soluciones y agregar 2 ml de peróxido de hidrogeno (agua oxigenada, H_2O_2) al 30%.
9. Calentar las muestras hasta que reduzca su volumen a 5-10ml. La operación anterior se repite hasta que las soluciones se tornen claras
10. Enfriar y agregar 2ml de ácido clorhídrico concentrado (HCl) y volver a evaporar hasta reducir el volumen a 5ml.
11. Transferir el contenido de los erlenmeyers a forma cuantitativa a bolones aforados de 50ml y se afora con agua destilada. Dar lectura en el espectrómetro.

2.4 Instrumentos

2.4.1 Material de campo

- Termómetro/Higrómetro; Indoor Outdoor Thermometer with Hygrometer Clock TA298
- GPS Ashtec MobileMapper 10
- Cámara fotográfica; Sonny Cyber-shot 14.1 Megapíxeles
- Rejilla de 0.1 m² (20cm x 50cm)
- Papel film
- Fundas ziplop

- Machete
- Flexómetro
- Cooler Térmico

2.4.2 Material de laboratorio

- Microscopio Estereoscopio marca LUXEO 4D con cámara integrada marca Labomed.

2.5 Análisis estadístico

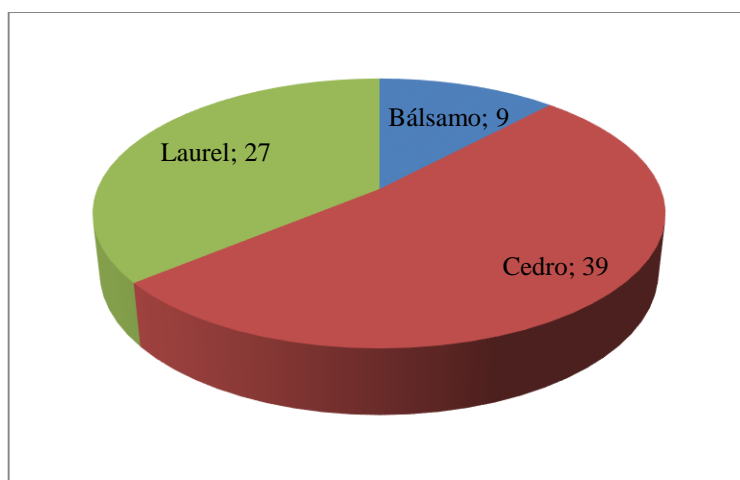
Mediante el análisis estadístico se requiere demostrar que existen diferencias entre los valores de concentración de metales pesados (Cr, Cd, Pb, As y Hg) de la estación sin contaminación y la estación con contaminación, identificadas mediante el método de cartografía de líquenes. Para ello se realiza una prueba de hipótesis para dos tratamientos T de Student, con un *valor p* y un nivel de significancia de 5% ($\alpha = 0,05$), realizado en Excel 2010 con la herramienta análisis de datos.

CAPÍTULO III

3 RESULTADOS Y DISCUSIONES

La metodología empleada para esta investigación en lo que respecta al monitoreo, utilizada también por Canseco et al., (2006) en su estudio “Comunidades de líquenes: indicadores de calidad de aire en la ciudad de La Paz, Bolivia” pudo aplicarse de manera efectiva en la parroquia San Carlos, ya que gracias al factor de tolerancia (Qi) se pudo establecer la especie de líquen de mayor resistencia a contaminantes, factor importante que determinó la especie bioacumuladora logrando medir químicamente los metales pesados acumulados en su estructura.

La determinación de las estaciones de monitoreo dependió principalmente de la presencia de forófitos maderables, se hizo lo posible para utilizar una misma especie de árbol, sin embargo no pudo ser posible en totalidad debido a la inexistencia de árboles comunes en la zona, por lo que se consideró las especies de Cedro (*Cedrela odorata*), Laurel (*Cordia alliodora*) y Bálsamo (*Myroxylon balsamum*), aún con esta dificultad, el Cedro se hace presente en 12 de las 15 estaciones (ver Gráfica 1-3), considerándose una muestra representativa en el cálculo y comparación de valores de IPA.

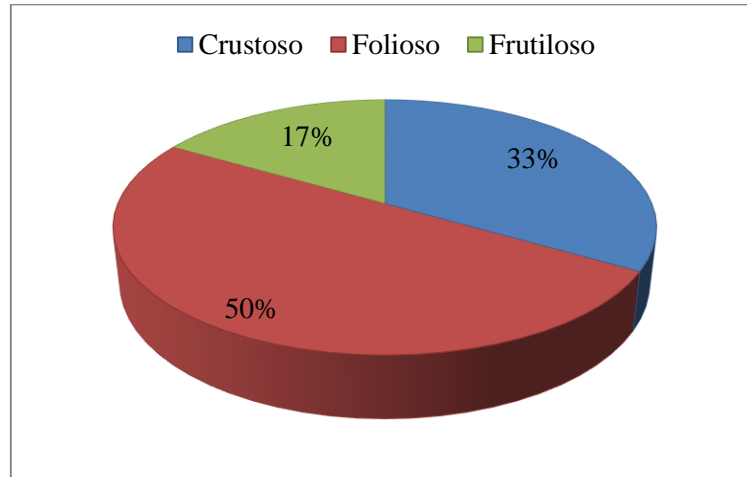


Gráfica 1-3: Frecuencia de los forófitos

Realizado por: González, Andrea, 2018

3.1 Identificación de especies

En el monitoreo se encontraron 18 especies de líquenes, de las cuales 9 son de tipo foliosas, 6 son costrosas, y 3 fruticosas (ver Tabla 1-3). Los registros fotográficos se encuentran en el Anexo C.



Gráfica 2-3: Distribución de los tipos de líquenes encontrados

Realizado por: González, Andrea, 2018

Relacionando estos resultados con otros muy similares como el de Canseco et al. (2006, p.291), donde muestreó 21 puntos y encontró 17 especies liquénicas, de las cuales 12 especies son foliosas, 4 son costrosas y 1 es fruticosa, los líquenes de tipo folioso en ambas investigaciones destacan.

El trabajo realizado por Ochoa et al., (2015, p.338) en la ciudad de Loja-Ecuador, registró un total de 21 especies de líquenes epífitos en 70 árboles muestreados, de las cuales la mayoría foliosas.

Otros autores como Segura (2013, pp.37-38) en la ciudad de Quito-Ecuador encontró 42 especies, de las cuales 30 foliosas, 11 fruticosas, 1 escuamuloso y 2 dimorfos, se excluyeron en la investigación las costrosas. Los resultados difieren en el número de especies encontradas con el presente trabajo de investigación, esto debido a factores climáticos como la temperatura, la humedad o luz e incluso por el tipo de árbol muestreado.

Las 18 especies liquénicas encontradas pertenecen a 10 diferentes familias, donde *Parmeliaceae* tiene mayor predominancia.

Tabla 1-3: Listado de las especies encontradas según su clasificación morfológica.

ESPECIE	FAMILIA
LÍQUENES CRUSTOSOS	
<i>Cryptothecia striata</i> Thor	<i>Arthoniaceae</i>
<i>Cryptothecia effusa</i>	<i>Arthoniaceae</i>
<i>Caloplaca microphyllina</i> (Tuck.) Hasse	<i>Teloschistaceae</i>
<i>Caloplaca epiphora</i>	<i>Teloschistaceae</i>
<i>Chrysothrix</i> sp.	<i>Chrysothricaceae</i>
<i>Bacidia schweinitzii</i> (P. ex E. Michener) A. Schneider	<i>Ramalinaceae</i>
LÍQUENES FOLIOSOS	
<i>Coccocarpia Palmicola</i> (Sprengel) Arv. Y DJ Galloway	<i>Coccocarpiaceae</i>
<i>Leptogium punctulatum</i>	<i>Collemataceae</i>
<i>Leptogium phyllocarpum</i>	<i>Collemataceae</i>
<i>Leptogium marginellum</i>	<i>Collemataceae</i>
<i>Parmotrema tinctorum</i>	<i>Parmeliaceae</i>
<i>Parmotrema reticulatum</i>	<i>Parmeliaceae</i>
<i>Parmotrema ultralucens</i> (Krog) Hale	<i>Parmeliaceae</i>
<i>Parmotrema dominicanum</i> (Vainio) Hale	<i>Parmeliaceae</i>
<i>Physcia atrostriata</i> Moberg	<i>Physciaceae</i>
LIQUENES FRUTILOSOS	
<i>Cladonia confusa</i> R. Sant	<i>Cladoniaceae</i>
<i>Cladonia sphacelata</i> Vain	<i>Cladoniaceae</i>
<i>Coenogonium leprieurii</i> (Mont.) Nyl.	<i>Coenogoniaceae</i>

Realizado por: González, Andrea, 2018

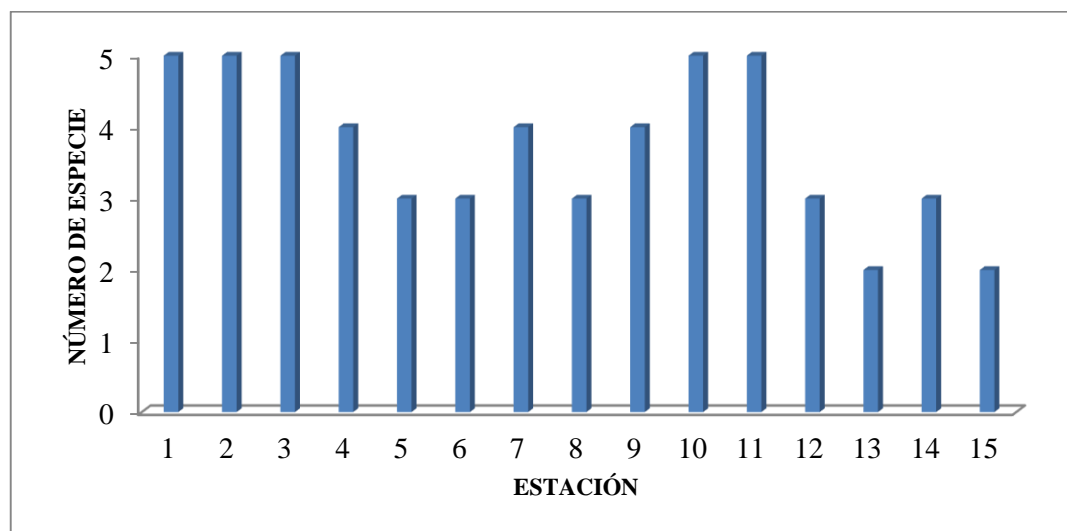
3.1.1 Diversidad Liquélica

La diversidad líquénica (ver Gráfica 3-3) hace referencia al número de especies encontrados en cada estación de monitoreo. En la investigación éste valor no superó las 5 especies por estación, lo que indica poca diversidad líquénica en San Carlos. Esto a consecuencia de las altas concentraciones de contaminantes en la parroquia debido a la actividad petrolera, como menciona el informe de monitoreo de Provincia de Orellana efectuado en el 2015, donde el dióxido de azufre superó los niveles de alerta ($200 \mu\text{g}/\text{m}^3$). Se ha comprobado en muchos estudios que la exposición en un tiempo prolongado al SO_2 puede causar daños en las estructuras del líquen y en algunos casos la ausencia de estos en el ambiente, ya que este contaminante es un subproducto común durante la combustión de combustibles fósiles e

interrumpe la fotosíntesis y la transferencia de carbohidratos del alga (o cianobacteria) al hongo. El dióxido de azufre es uno de los componentes de la lluvia ácida, la cual provoca que la corteza de los árboles sea menos apta para el desarrollo de los líquenes. Mientras más aumenta la concentración de dióxido de azufre, disminuye la abundancia de los líquenes. A pesar de esto, las poblaciones de líquenes no desaparecen por completo. Existen especies con diferentes niveles de tolerancia a contaminantes. Algunas pueden sobrevivir en ambientes que están contaminados en forma severa, mientras que otros mueren si las condiciones son drásticas (Kett et al., 2010, p.2).

Con un total de 5 especies se considera, para este estudio, la mayor diversidad liquénica y con tan solo 2 especies las estaciones de menor diversidad. Esta información permite definir que existe mayor diversidad en las estaciones cuyas plataformas petroleras no cuentan con mecheros o quemadores de gas y poca diversidad en las estaciones con si tienen (N°6, N°8, N°13 y N°14). En la estación N°1, donde existe la presencia de mechero se encuentra mayor diversidad, pero esto como efecto de una barrera ecología que rodea la plataforma petrolera e impide el paso de contaminantes, logrando el crecimiento de los líquenes sobre los árboles.

En el caso de Canseco et al. (2006, p.294), encontró mucha más diversidad liquénica con un total de 16 especies en las zonas con mejores condiciones climáticas y bajo tráfico vehicular y con una diversidad media en las zonas donde la intensidad del tráfico vehicular también era media, demostrando así que la contaminación en esa zona de estudio se relaciona con el tráfico vehicular. En el estudio de Segura (2013, pp.40-41), el número más alto de especies encontradas por estación fue de 19 y el más bajo de 4. La diferencia significativa al comparar los resultados con la presente investigación puede corresponder a que el tamaño de muestra fue mayor.



Gráfica 3-3: Número de especies de líquenes por estaciones de monitoreo.

Realizado por: González, Andrea, 2018

3.1.2 Factor de tolerancia de las especies (Q_i)

El valor Q_i es constante para cada especie, está relacionada con el número de especies asociadas en cada estación y el número de estaciones donde está presente la especie en estudio (Segura, 2013, p.42). Q_i es inversamente proporcional a la contaminación. En esta investigación los datos obtenidos (Tabla 2-3) revelan que las especies *Cryptothecia striata* Thor, *Cryptothecia effusa*, *Chrysothrix sp.* y *Leptogium punctulatum* Nyl son más tolerantes a la contaminación, ya que muestran valores bajos de Q_i de 0,28 a 0,72. Entre las especies con potencial bioindicador y sensibles a contaminantes *Physcia atrostriata* Moberg, *P. ultralucens* (Krog) Hale, *P. tinctorum*, *P. reticulatum*, *P. dominicanum* (Vainio) Hale, *L. marginellum*, *L. phyllocarpum*, *Cladonia sphacelata* Vain y *Caloplaca microphyllina* (Tuck.) Hasse, presentando valores de Q_i altos entre 1,00 y 3,00, para este estudio.

Según los resultados de Canseco et al. (2006, p.305), en la ciudad de La Paz las especies altamente tolerantes a la contaminación: *Candelaria concolor*, *Physciella chloantha*, *Physcia undulata* y *Candelariella reflexa*. Entre las especies más sensibles se han registrado a *Punctelia subrudecta*, *Lepraria sp2*, *Phaeophyscia adiastrata* y *Teloschistes chrysophthalmus*. No se halló coincidencia con este estudio.

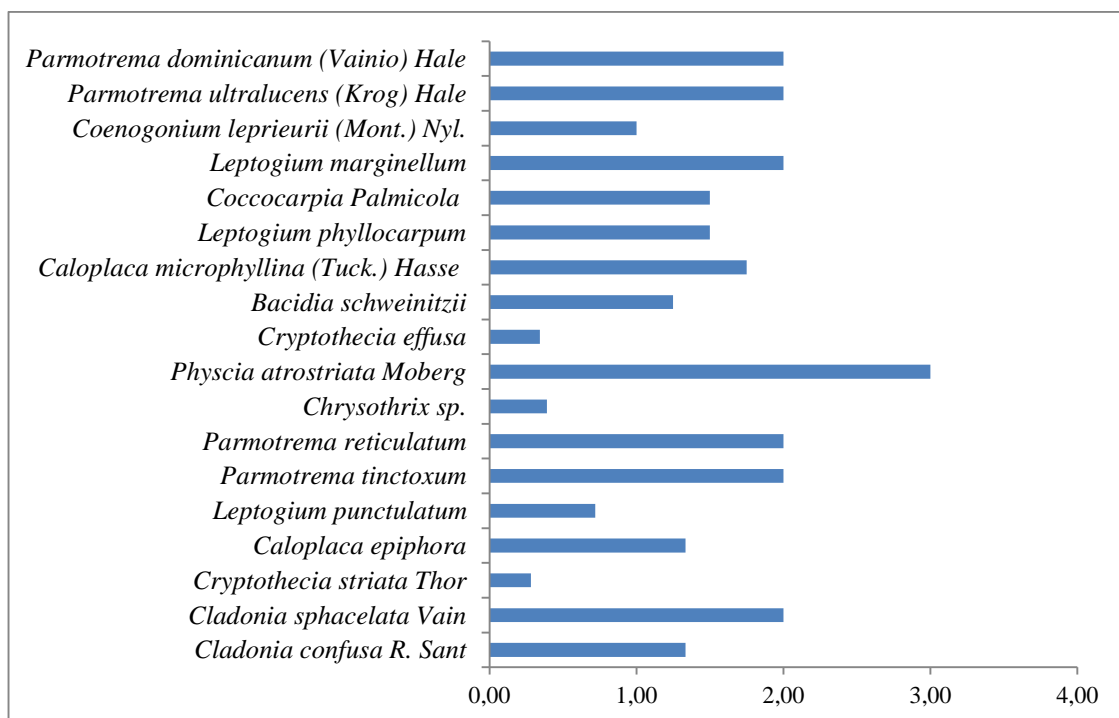
Estudios a lo largo de muchos años han documentado que *Leptogium milligranum*, *L. azureum*, *L. coralloideum*, *Sticta fuliginosa* y *Teloschistes chrysophthalmus* son muy sensibles a los contaminantes (Rubiano 1983, Barreno et al., 2003, Canseco et al. 2006, Rincón 2012) y todas estas especies estuvieron presentes como bioindicadoras en el estudio de Ocho et al. (2015), las que presentaron mayor tolerancia fueron: *Candelaria concolor*, *Phaeophyscia hispidula* y *Physcia aff. atrostriata*. Comparando resultados según la bibliografía *Leptogium marginellum* y *Leptogium milligranum* ambas se consideran cómo bioindicadoras por su poca tolerancia y pertenecen a la familia *Collembataceae*.

Los resultados de Q_i , en el estudio de seis parques recreacionales del Distrito Metropolitano de Quito, establece que las especies *Punctelia borreri* (Sm.) Krog, *Ramalina celastri* (Spreng.) Krog & Swinscow, *Candelaria concolor* (Dicks.) Arnold, *Physcia cf. atrostriata* Moberg y *Parmotrema chinense* (Osbeck) Hale & Ahti son las especies más tolerantes a la contaminación, mientras que *Pseudocyphellaria aurata* (Ach.) Vain., *Cladonia chlorophaea* (Flörke ex Sommerf.) Spreng. *Cladonia sp.*, *Sticta fuliginosa* (Dicks.) Ach., *Parmotrema sp.*, *Heterodermia obscurata* sensu auct. brit., non (Nyl.) Trevis, *Leptogium phyllocarpum* (Pers.) Mont., *Leptogium menziesii* (Sm.) Mont, *Leptogium sp.1* y *Leptogium sp.2*, son las especies más sensibles a la contaminación atmosférica. Coincidiendo con *L. phyllocarpum* en ambas investigaciones como especies bioindicadores de calidad atmosférica. (Segura, 2013, pp.42-44)

Tabla 2-3: Factor de tolerancia

Especie	<i>Qi</i>
<i>Physcia atrostriata</i> Moberg	3,00
<i>Parmotrema ultralucens</i> (Krog) Hale	2,00
<i>Parmotrema tinctorum</i>	2,00
<i>Parmotrema reticulatum</i>	2,00
<i>Parmotrema dominicanum</i> (Vainio) Hale	2,00
<i>Leptogium marginellum</i>	2,00
<i>Cladonia sphaelata</i> Vain	2,00
<i>Caloplaca microphyllina</i> (Tuck.) Hasse	1,75
<i>Leptogium phyllocarpum</i>	1,50
<i>Coccocarpia Palmicola</i> (Sprengel) Arv. Y DJ Galloway	1,50
<i>Cladonia confusa</i> R. Sant	1,33
<i>Caloplaca epiphora</i>	1,33
<i>Bacidia schweinitzii</i> (P. ex E. Michener) A. Schneider	1,25
<i>Coenogonium leprieurii</i> (Mont.) Nyl.	1,00
<i>Leptogium punctulatum</i> Nyl.	0,72
<i>Chrysothrix</i> sp.	0,39
<i>Cryptothecia effusa</i>	0,34
<i>Cryptothecia striata</i> Thor	0,28

Realizado por: Gonzalez, Andrea, 2018

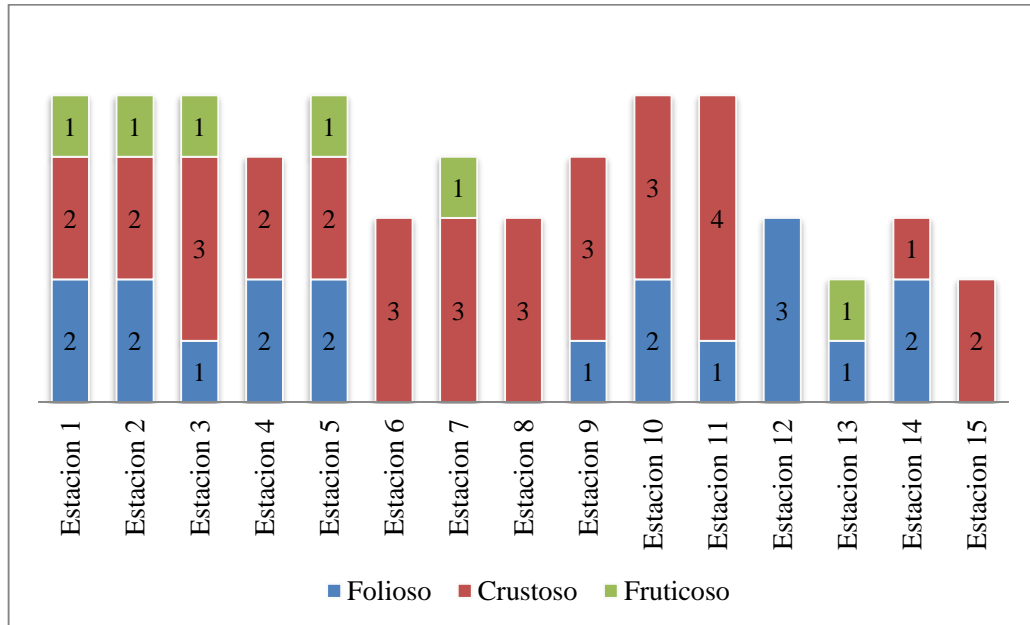


Gráfica 4-3: Factor de tolerancia *Qi*

Realizado por: González, Andrea, 2018

3.1.3 Frecuencia liquénica

La Gráfica 5-3 presenta los datos de la Frecuencia liquénica de cada tipo morfológico para cada estación de muestreo en la parroquia San Carlos provincia de Orellana.



Gráfica 5-3: Frecuencia liquénica por tipo morfológico.

Realizado por: González, Andrea, 2018

La frecuencia liquénica está representada por el tipo “crustáceos” o “crustoso”, ya que se encuentra en la mayoría de las estaciones de muestreo. En la estación N°13 y N°14 la actividad de mecheros es activa, es decir que las especies de líquenes se encuentran más expuestas a contaminantes. Los líquenes foliosos tienen una frecuencia media, presentándose en 11 estaciones.

Por otra parte, los líquenes “frondosos” o “fruticosos” están presentes en 5 estaciones de monitoreo; N°1, N°2, N°3, N°5 y N°7 con el menor número de tipo de líquen. Esto debido a que cuando las concentraciones de contaminantes son muy elevadas en un lugar, se encuentra solo aquellas especies más resistentes. Los líquenes fruticosos no soportan la contaminación y por ello sólo viven donde el aire es puro, mientras que los de tipo crustosos son más resistentes a la contaminación (Hawksworth et al., 2005 citado en Bosch et al., 2012).

Muchos estudios en cuanto a la capacidad de los líquenes para bioacumular contaminantes en sus estructuras han utilizado los de tipo foliosos, ya que son sus talos los que absorben los contaminantes como metales pesados, y es por este motivo, a pesar que en el muestreo biológico de esta investigación el crustoso superó en frecuencia y cobertura liquénica al folioso, el líquen de tipo folioso es el que se analizó en el laboratorio para la evaluación de su capacidad de

bioacumulación. Tal es el caso de Díaz (2006) que demostró que los líquenes funcionan como bioacumuladores sumamente eficientes, especialmente los líquenes foliosos como *Xanthoparmelia sp* y *Parmelia sp*.

En la investigación “Líquenes y claveles del aire como bioindicadores de contaminación atmosférica por metales pesados” de Ghirardi et al., (2010, p.168) se usó también un líquen de la familia *Parmeliaceae*, como es la *Parmelia caperata*.

Otros autores que usaron líquenes de la familia *Parmeliaceae*, fue la de Hurtado et al., (2013, p.5) quien evaluó el empleo de *Parmotrema sancti angelii* como biomonitor de los metales provenientes de las emisiones asociadas a la mina Loma de Níquel, Estado Aragua en Venezuela.

3.2 Índice de Pureza Atmosférica

Se registran valores de IPA entre 16 y 291, los mismos que fueron categorizados en seis niveles como se muestra en la tabla 3-3:

Tabla 3-3: Niveles de IPA

Rangos	Clasificación
0-50	I Contaminación muy alta
50-100	II Contaminación alta
100-150	III Contaminación media
150-200	IV Contaminación baja
200-250	V Contaminación muy baja
> a 250	VI Sin contaminación

Realizado por: González, Andrea, 2018

Fuente: Canseco et al., 2006

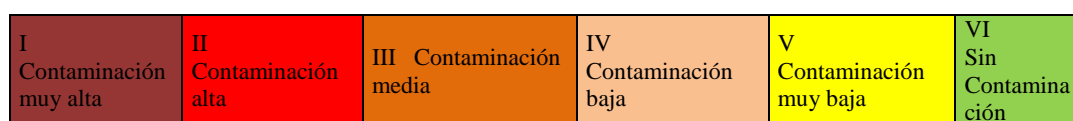
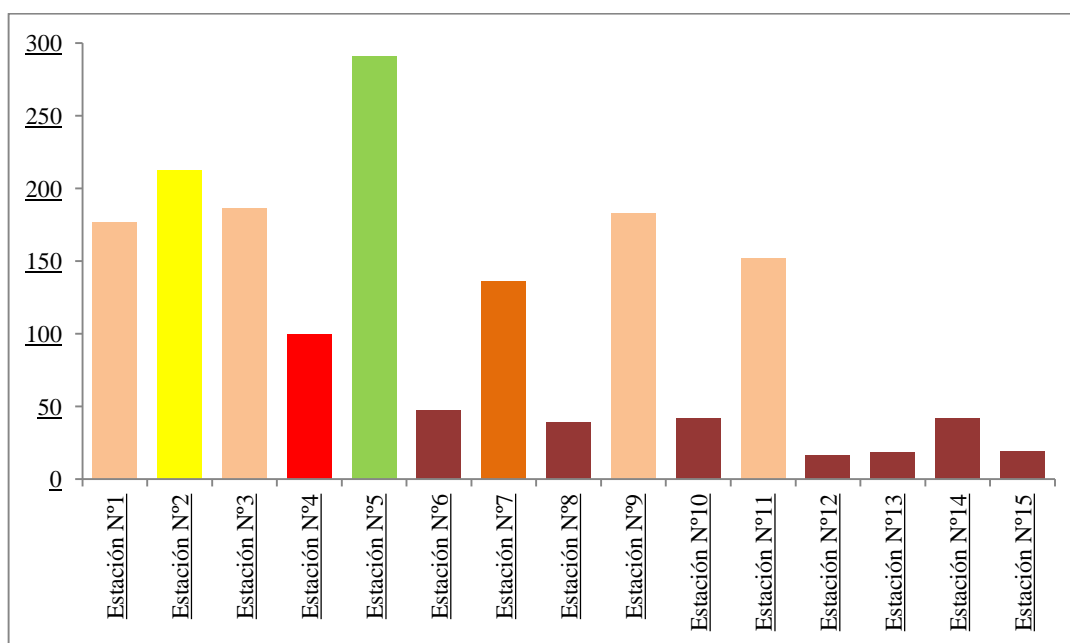
En la tabla 4-3 se muestra el valor más bajo de 16,55 indicando un alto grado de contaminación en la Estación N°12 como consecuencia de la presencia de los mecheros encendidos durante la exploración del petróleo y el valor más alto 290,62 en la Estación N°5 la cual no presenta mechero por ser una plataforma con pozos de reinyectores.

En la categoría I, Contaminación muy alta, se encuentran siete estaciones; Estación N°6, N°8, N°10, N°12, N°13, N°14 y N°5, por la presencia de mecheros o quemadores de gas que se encienden durante la extracción de petróleo. En la categoría II Contaminación alta la Estación N°4. En la III Contaminación media; Estación N° 7. En la IV Contaminación baja, Estaciones N°1, N°3, N°9 y N°11. En la V Contaminación muy baja; Estación N°2 y en la categoría VI Sin contaminación la Estación N°5, como consecuencia de que la muestra se tomó en estación donde aparentemente sin focos de contaminación.

Tabla 4-3: Valor de IPA

Nº	Nombre de la Estación	Valor de IPA	Distancia a la plataforma (m)	Distancia a la carretera(m)	Niveles
1	Plataforma 189	176,75	45	185	IV Contaminación baja
2	Plataforma 350	212,46	86,32	30	V Contaminación muy baja
3	Plataforma 183	185,91	91,64	22	IV Contaminación baja
4	Plataforma 184	99,32	78,86	20	II Contaminación alta
5	Plataforma 47	290,62	215,26	100	VI Sin contaminación
6	Plataforma 108	47,25	69,66	10	I Contaminación muy alta
7	Plataforma 28	136,28	46,43	12	III Contaminación media
8	Plataforma 400	39,25	23,58	13	I Contaminación muy alta
9	Plataforma 185	183,07	44,32	50	IV Contaminación baja
10	Plataforma 159	41,4	110,75	60	I Contaminación muy alta
11	Plataforma 124	151,87	99,24	50	IV Contaminación baja
12	Plataforma 62	16,55	50,65	30	I Contaminación muy alta
13	Plataforma 67	18,07	62,01	25	I Contaminación muy alta
14	Plataforma 153	41,77	59,87	25	I Contaminación muy alta
15	Plataforma 193	19,06	47,36	25	I Contaminación muy alta

Realizado por: González, Andrea, 2018

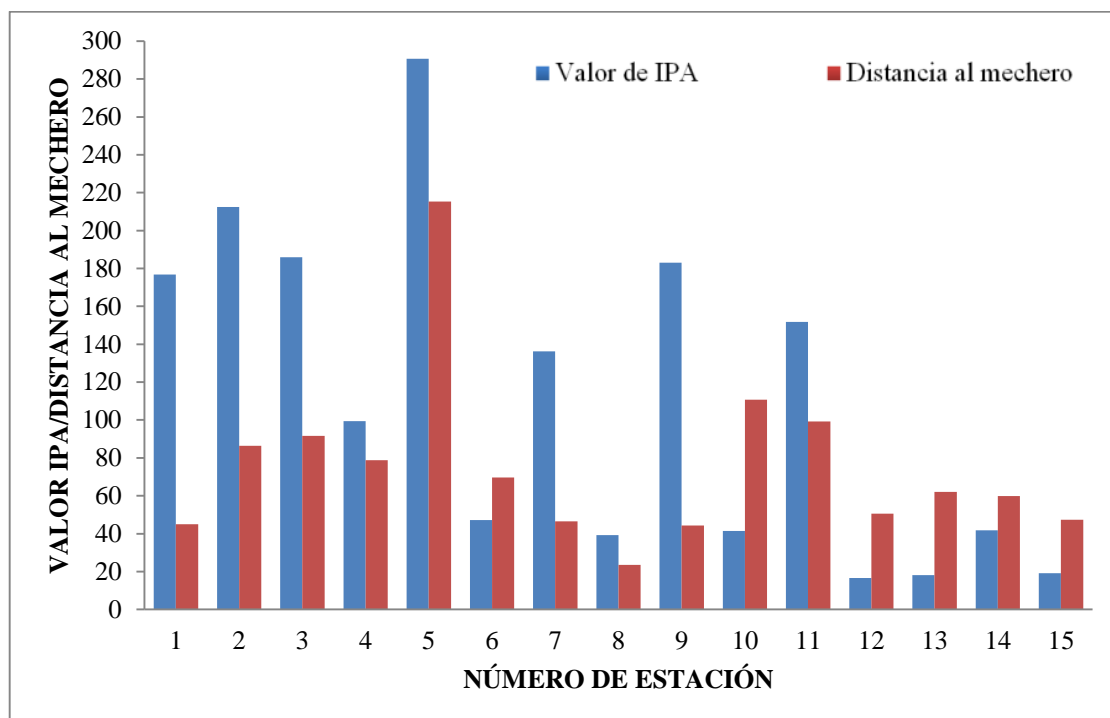


Gráfica 6-3: Valores de IPA por estación

Realizado por: González, Andrea, 2018

Dentro del estudio se observa que los valores IPA en cada una de las estaciones guardan relación con la ubicación de las mismas, específicamente con la distancia hacia el mechero, como se puede observar en el Gráfico 7-3.

La Estación N°5 se encuentra distante con 215,26 m tanto de la carretera como del mechero por lo que obtiene un valor de IPA más alto categorizado como sin contaminación. Para la Estación N°12 con el valor de IPA más bajo a una distancia de 50,65m al mechero.



Gráfica 7-3: Relación del IPA y distancia a la plataforma o mechero

Realizado por: González, Andrea, 2018

Con base a los resultados obtenidos de las 15 estaciones de monitoreo dentro de Bloque 60 EP-PETROAMAZONAS, se determina que la contaminación en San Carlos está relacionada con la actividad petrolera, específicamente con los pozos de producción, los cuales cuentan con mecheros.

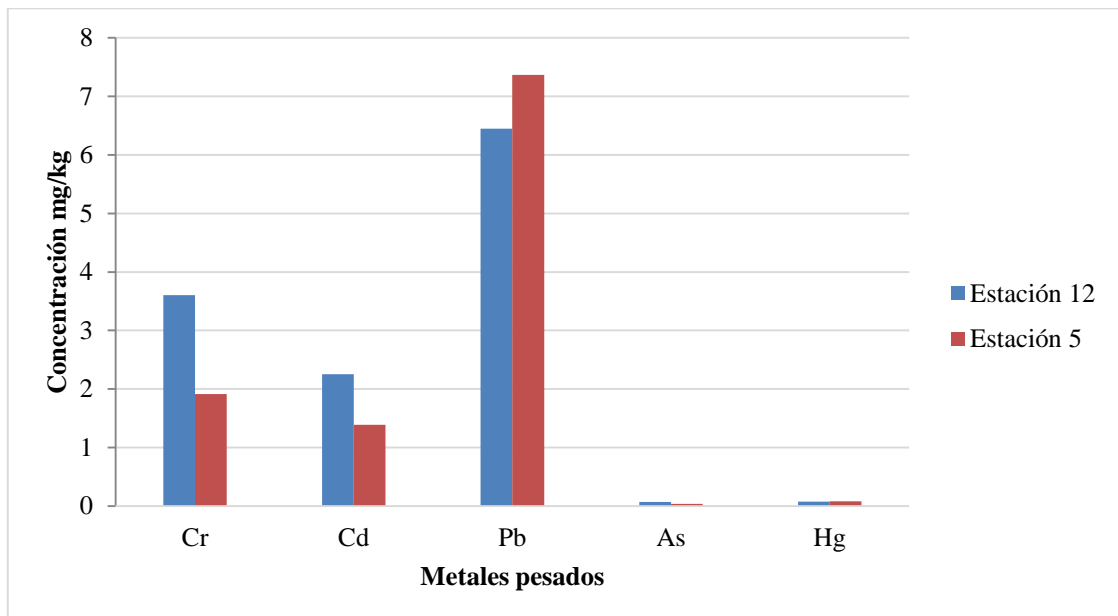
3.3 Cuantificación de metales pesados

La muestra de la especie de líquen seleccionada y recolectada, *Parmotrema dominicanum*, es sometida al análisis químico por espectrofotometría de absorción atómica en el laboratorio de AQLAB (Laboratorios de Análisis y Evaluación Ambiental). Las concentraciones se hicieron por triplicado para metal: cromo, plomo, cadmio, arsénico y mercurio de las dos estaciones de estudio como se indica en la tabla 5-3.

Tabla 5-3: Concentración de los metales analizados

Cromo	Estación12 (mg/kg)	Estación 5 (mg/kg)
R1	3,337	1,772
R2	3,949	1,838
R3	3,521	2,133
Cadmio		
R1	2,235	1,182
R2	2,296	1,477
R3	2,235	1,510
Plomo		
R1	6,368	7,270
R2	6,398	7,516
R3	6,582	7,319
Arsénico		
R1	0,071	0,039
R2	0,070	0,039
R3	0,071	0,039
Mercurio		
R1	0,075	0,079
R2	0,074	0,080
R3	0,075	0,080

Realizado por: González, Andrea, 2018



Gráfica 8-3: Comparación de la concentración de cromo, cadmio, plomo, arsénico y mercurio en mg/kg.

Realizado por: González, Andrea, 2018

Tabla 6-3: Comparación de las concentraciones halladas con los límites máximos permisibles para emisiones gaseosas de incineradores

Contaminantes	Límites permisibles mg/m ³ anuales	Concentraciones de la estación 12 (mg/m ³)	Concentraciones de la estación 5 (mg/m ³)
Cd, Tl	*0.1	3.6769	2.2452
Pb, Cr, Pt, Cu, V, Zn, Sn, Mg, Pd	*3	15.48	14.29
As, Se, Co, Ni, Te	*2	0.11	0.0635
Hg	0.1	0.128	0.123

*Suma total de metales pesados.

Todos los valores están para condiciones normales (1 atmósfera, base seca 0° C y 11% de O₂)

Fuente: Norma técnica para emisiones a la atmósfera de fuentes fijas

Todos los metales pesados analizados en esta investigación Pb, Cr, Cd, Hg a excepción del As, se encuentran sobre los límites permisibles según la norma técnica para emisiones atmosféricas, como se observa en la tabla 6.3.

3.3.1 Comportamiento de metales acumulados por líquenes

Plomo: Fue el contaminante con mayor concentración (7,35mg/kg) de la estación que presentó menos contaminación, esto como consecuencia que la muestra recolectada se encontraba cerca de la carretera por donde transitan vehículos, lo que llevó a los líquenes de la especie *Parmotrema Dominicanum* a bioacumular en su estructura el plomo, como resultado de la quema de combustibles fósiles. (ATSDR, 2007a). Los líquenes son acumuladores de plomo muy eficientes, el cual es captado a través de aerosoles, caída de partículas de metales o lluvia ácida, se une a sitios aniónicos insolubles, extracelularmente acumulados y concentrados en la médula. Una vez incorporado, el plomo no es fácilmente removido por lluvia o viento y sus efectos tóxicos en líquenes son mínimos (Diaz, 2006, pp.66-67).

Cromo: Fue el segundo metal con la concentración más elevada, esto como consecuencia de la existencia de Cd en el aire de San Carlos, la actividad agrícola juega un papel importante en la determinación de la calidad ambiental, ya que muchos agroquímicos utilizados en los cultivos poseen en su composición algunos metales pesados entre ellos el cromo y el cadmio. (Schinitman, 2004).

Cadmio: Las estaciones 5 y 12 registran valores de 1,38 y 2,26 mg/kg respectivamente, este resultado puede provenir de los pesticidas y fertilizantes usados por la actividad agrícola (ATSDR, 2007b) dentro de San Carlos. Este aumento tan elevado indica por un lado que existe una

elevada contaminación de Cd en el aire de la parroquia San Carlos y que la especie *Parmotrema dominicanum* tiene la capacidad de acumular el Cd presente.

Mercurio y Arsénico: Los resultados mostraron que el mercurio y el arsénico fueron los contaminantes menos cuantificados en los líquenes, esto puede deberse a que la mayoría de las emisiones de fuentes antropogénicas de estos contaminantes son a la tierra o al suelo, principalmente en forma de pesticidas o desechos sólidos. Sin embargo, cantidades sustanciales también se liberan al aire y al agua. El mercurio es fácilmente acumulado por los líquenes. (ATSDR, 2007b)

3.4 Prueba de hipótesis

Mediante el análisis estadístico se requiere demostrar que existen diferencias entre los valores de concentración de metales pesados (Cr, Cd, Pb, As y Hg) de la estación sin contaminación y la estación con contaminación, identificadas mediante el método de cartografía de líquenes. Se desea investigar si las medias de dichas concentraciones pueden considerarse estadísticamente iguales.

Para ello se plantean las siguientes hipótesis de igualdad de medias con la alternativa bilateral, con un nivel de significancia de 5% ($\alpha = 0,05$) o una confianza del 95% (Gutiérrez, 2008, pp.24-25):

Hipótesis:	Criterio de rechazo
$H_0: \mu_1 = \mu_2$	$ t_0 > t_{\alpha/2}, \quad - \quad \text{valor-}p < \alpha$
$H_A: \mu_1 \neq \mu_2$	

Se realiza la prueba de hipótesis para dos tratamientos, suponiendo que las varianzas desconocidas son iguales. El estadístico de prueba adecuado para probar la hipótesis de igualdad de medias está dado:

$$t_0 = \frac{\bar{X}^2 - \bar{Y}^2}{S_p \sqrt{\frac{1}{n_x} + \frac{1}{n_y}}}$$

El cual sigue una distribución T de Student con $n_x + n_y - 2$ grados de libertad, donde S_{2p} es un estimador de la varianza muestral común (Gutiérrez, 2008, pp.40-41).

Obteniendo los siguientes resultados:

Tabla 7-3: Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales en cada metal

Contaminante	Estadístico t (t _o)	V. critico de t (t _{a/2})	Valor de p	Demostración	Criterio
Cromo	7,93483697	2,77644511	0,00136571	t _o >t _{a/2} ; p<0.05	Se rechaza Ho
Cadmio	8,14871678	2,77644511	0,00123425	t _o >t _{a/2} ; p<0.05	Se rechaza Ho
Plomo	-9,1302904	2,77644511	0,00079846	t _o >t _{a/2} ; p<0.05	Se rechaza Ho
Arsénico	51,8644683	2,77644511	0,0000000827	t _o >t _{a/2} ; p<0.05	Se rechaza Ho
Mercurio	-9,8994949	2,77644511	0,00058441	t _o >t _{a/2} ; p<0.05	Se rechaza Ho

Realizado por: González, Andrea, 2018

Se concluye mediante el análisis estadístico de las concentraciones de Cr, Cd, Pb, As y Hg bioacumulados en los líquenes de las estaciones de muestreo de la parroquia San Carlos, presentan diferencias en cuanto a sus medias, es decir, que las concentraciones no son iguales en las estaciones sin contaminación como en las estaciones con contaminación. (Gutiérrez, 2008, p.41)

3.5 *Parmotrema dominicanum* como posible agente removedor de metales pesados en agua.

Así como los líquenes pueden ser utilizados como bioindicadores por su presencia o ausencia en zonas determinadas, la cuantificación de los metales pesados en los líquenes de la especie *Parmotrema dominicanum* de la familia *Parmeliaceas*, revela también la capacidad de acumulación y almacenamiento en su estructura partículas como Cr, Cd, Pb, As y Hg.

Como resultado de esta capacidad, los líquenes se han estudiado también como limpiadores de contaminantes en el agua, al experimentar que estos retienen en sus tejidos metales pesados de efluentes al sumergirlos y no liberarlos de sus talos. A lo largo de los años han evidenciado que las especies líquénicas de tipo foliosas o las de talo ramificados son excelentes retenedoras de partículas de metales, ya que es en el córtex superior e inferior del talo los metales se adhieren. El pH es un factor imprescindible que se debe considerar para usar a los líquenes en la acumulación de elementos, este no se debe mantener ácido. Se debe recordar que ante pH ácido,

el líquen sufre intoxicación por incorporación de metales a espacios intracelulares (Díaz, 2006, pp.152-153).

Los líquenes de la familia *Parmeliaceae*, son las especies más utilizadas como bioindicadores de metales pesados, como en la investigación “Líquenes y claveles del aire como bioindicadores de contaminación atmosférica por metales pesados” de Ghirardi et al., (2010, p.168) que se usó un líquen de la familia *Parmeliaceae*, especie *Parmelia caperata*. Otros autores que usaron líquenes de la familia *Parmeliaceae*, fue la de Hurtado et al., (2013, p.5) quien evaluó el empleo de *Parmotrema sancti angelii* como biomonitor de los metales provenientes de las emisiones asociadas a la mina Loma de Níquel, Estado Aragua en Venezuela.

El estudio de Díaz (2006, p.155), demostró que el género *Paraparmelia* que pertenece a la familia de las *Parmeliaceas*, como la especie en esta investigación, fueron sometidas a experimentos de enriquecimiento y lavado, que mostraron una gran capacidad para absorber los metales pesados que se encontraban en la solución, este experimento probó que su uso es factible para la remoción de metales pesados en agua, por otro lado, el experimento de lavado mostró que los líquenes no tienen capacidad efectiva de liberar metales, el agua ultra pura en la que fueron sumergidos no fue capaz de disolver los contenidos de las muestras liquénicas, de modo que una vez que los elementos se absorben permanecen en el interior, en condiciones naturales, lo que significa que cuando haya lluvia, los elementos no fluyen con el agua, más bien, los líquenes actúan como "acumuladores" pero no como "liberadores".

CONCLUSIONES

- Los líquenes de la especie *Parmotrema dominicanum* de la parroquia San Carlos utilizados en el monitoreo de la calidad del aire son capaces de bioacumular en su estructura metales pesados como: cromo, cadmio, plomo, arsénico y mercurio.
- La calidad de aire de San Carlos, según el método de cartografía de líquenes se caracterizó con el valor de IPA alto (290,62) que indican niveles de pureza existentes en la zona y un valor de IPA bajo (16,55) determinando contaminación por la actividad petrolera, principalmente en las plataformas de extracción.
- Los líquenes de tipo folioso presentaron mayor frecuencia liquénica por lo que la especie *Parmotrema dominicanum* se usó para evaluar la capacidad de bioacumulación de contaminantes.
- Se cuantificó los metales por espectrofotometría de absorción atómica y se comprobó que el Cromo (3,58 mg/kg), Cadmio (2,26 mg/kg), Arsénico (0,071 mg/kg) y Mercurio (0,075 mg/kg) se encuentran en mayor concentración.
- La especie *Parmotrema dominicanum* ha demostrado la capacidad de bioacumular en su estructura cromo, cadmio, plomo, arsénico y mercurio provenientes de la actividad industrial en la zona, característica de alto interés para investigaciones futuras que requieran utilizar a estos líquenes como removedores de metales en el agua.
- El plomo es el contaminante con mayor concentración 7,35mg/kg en la estación donde la contaminación fue menor, esto como consecuencia de que la muestra se tomó cerca de la carretera, sufriendo la explosión del tráfico vehicular llevando a los líquenes de la especie *Parmotrema dominicanum* a bioacumular en su estructura el plomo, como resultado de la quema de combustibles fósiles.

RECOMENDACIONES

- Probar a nivel de laboratorio la remoción de metales pesados en efluentes usando la especie *Parmotrema dominucanum* u otras especies, mediante el experimento de enriquecimiento
- Ampliar y estandarizar en el Ecuador la metodología de utilizar los líquenes como bioindicadores para otras zonas de explotación petrolera y otros tipos de contaminación ambiental.
- Complementar el monitoreo biológico con métodos físico-químicos para mejores resultados.

BIBLIOGRAFÍA

ACUERDO MINISTERIAL 050. *Registro oficial 464 del 7 de junio del 2011 de Norma de Calidad de Aire Ambiente.* [En línea]. Ecuador. Disponible en: <http://extwprlegs1.fao.org/docs/pdf/ecu155130.pdf>

ACUERDO MINISTERIAL 061. *Registro Oficial Suplemento 316 de 04 de mayo 2015* [En línea]. Ecuador. Disponible en: <http://www.ambiente.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2018/05/Acuerdo-61.pdf>

ATSDR, Agency for Toxic Substances & Disease. *Toxic Substances Portal, Registry Toxicological Profile: Lead* [En línea]. Atlanta. Agosto 2007. [Consulta: 2 febrero 2018] Disponible en <https://www.atsdr.cdc.gov/ToxProfiles/tp.asp?id=96&tid=22>

ATSDR, Agency for Toxic Substances & Disease. *Toxic Substances Portal, Registry Toxicological Profile: Cadmium* [En línea]. Atlanta. Septiembre 2012. [Consulta: 2 febrero 2012]. Disponible en: <https://www.atsdr.cdc.gov/ToxProfiles/tp.asp?id=48&tid=15>

ATSDR, Agency for Toxic Substances & Disease. *Toxic Substances Portal, Registry Toxicological Profile: Arsenic* [En línea]. Atlanta. Agosto 2007. [Consulta: 2 febrero 2012]. Disponible en: <https://www.atsdr.cdc.gov/ToxProfiles/tp.asp?id=22&tid=3>

ANZE, R. et al. “Bioindicadores en la detección de la contaminación atmosférica en Bolivia”. *Revista Virtual REDESMA* [en línea], 2007, (Bolivia) pp.53-74. [Consulta: 27 julio 2007]. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Victor_Estellano/publication/277502418_Bioindicadores_en_la_deteccion_de_la_contaminacion_atmosferica_en_Bolivia/links/556c0f0908aecd7773a236c/Bioindicadores-en-la-deteccion-de-la-contaminacion-atmosferica-en-Bolivia.pdf

BOSCH, P., BARCA, D., MIROCLE, G., LALLI, C. “Estudio sobre los Liqueenes como bioindicadores del contenido de metales pesados en el entorno de la Iglesia de los Santos Juanes de Valencia”. *Revista Científica Estudos de Conservação e Restauro* [en línea], 2012, (España) 2, pp. 21-37. [27 julio 2017]. Disponible en: <http://revistas.rcaap.pt/ecr/article/download/3152/2541>

BUNGARTZ, F.; YÁNEZ, A.; NUGRA, F.; ZIEMMECK, F. *Guía rápida de líquenes de las Isla Galápagos* [en línea]. Tercera edición. Galápagos, Ecuador. Fundacion Charles Darwin. 2013. [Consulta: 11 mayo 2017]. Disponible en: <https://es.slideshare.net/997227832/gua-rpida-de-lquenes-de-las-islas-galapagos>

CAMPOS, L.; URIBE, J.; AGUIRRE, J. *Santa María, Líquenes, Hepáticas y Musgos*. [En línea]. Serie de guías de campo del Instituto de Ciencias Naturales No. 3. Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Colombia, Colombia. 2008. pp. 20-127 [Consulta: 9 julio 2017]. Disponible en: http://www.ciencias.unal.edu.co/unciencias/data-file/user_16/file/publicaciones/campos2008.pdf

CANGO, G. Briófitos y líquenes epífitos como organismos bioindicadores que la calidad de aire de la ciudad de Loja [en línea] (Tesis) (Ingeniería). Universidad Técnica Particular de Loja, Área Biológica, Loja, Ecuador. 2015. pp. 3-4. [Consulta: 27 Julio 2017]. Disponible en: <http://dspace.utpl.edu.ec/bitstream/123456789/11540/1/CANGO%20PACCHA%20GEOVANNY%20PATRICIO.pdf>

CANSECO, A.; ANZE, R.; FRANKEN, M. “Comunidades de líquenes: indicadores de la calidad del aire en la ciudad de La Paz, Bolivia”. *Revista Científica ACTA NOVA* [En línea], 2006, (Bolivia) 3(2), pp. 286-307. [Consulta: 24 mayo 2017]. Disponible en: ucbconocimiento.ucbca.edu.bo/index.php/ran/article/download/120/115

CEVALLOS, G. Checklist de líquenes y hongos liquenícolas de Ecuador Continental. [En línea] (Tesis). (Maestría). Universidad Rey Juan Carlos. Conservación de la Diversidad Biológica. España. 2012. p.37. [Consulta: 14 febrero 2018]. Disponible en: <http://repositorio.educacionsuperior.gob.ec/handle/28000/312>

COHN-BERGER, G. & QUEZADA, M. “Líquenes como bioindicadores de contaminación aérea en el corredor metropolitano de la ciudad de Guatemala”. *Revista Científica del Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas de la Universidad de San Carlos de Guatemala* [En línea], 2016 (Guatemala) 26(1), pp.20-39. sn. [Consulta: 14 d Mayo 2017]. Disponible en: <https://static1.squarespace.com/static/527978a3e4b0536ab6eb3cfd/t/57bb4628e3df280a862dd740/1471891021865/REVISTA+CIENT%3%8DFICA+FINAL+%287+revisi%3%B3n+julio.2+2016%29++No+26.1.pdf>

DÍAZ RIVASPLATA, E. Uso de líquenes como bioindicadores de presencia de metales pesados en áreas cercanas a empresas mineras en zonas de altura en Perú [en línea] (Tesis) (Maestría). Universidad Nacional de Ingeniería, Facultad de Ingeniería. Perú. 2006. pp. 1-154. [Consulta: 30 Mayo 2017]. Disponible en: <http://cybertesis.uni.edu.pe/handle/uni/643>

GADPO. *Plan de Desarrollo y Ordenamiento Territorial del Gobierno Autónomo Descentralizado Parroquial Rural de San Carlos 2012-2025*. Orellana, Ecuador, 2012, pp.26-54

GADPO. *Informe 2015 de monitoreo de la calidad de aire, agua y sedimentos en la Provincia de Orellana*. Orellana, Ecuador, 2015, pp. 31-42

GADPRSC. *Actualización del Plan de Desarrollo y Ordenamiento Territorial.* [En línea]. Gobierno Autonomo Descentralizado Parroquial Rural de San Carlos. Orellana, Ecuador. 2015, pp. 10-44 [Consulta: 27 Julio 2017]. Disponible en: http://app.sni.gob.ec/sni-link/sni/PORTAL_SNI/data_sigad_plus/sigadplusdiagnostico/2260002320001_PDOT_SAN%20CARLOS_diagnostico_30-10-2015_18-08-47.pdf

GARCÍA, L. & RUBIANO, L. *Comunidades de Líquenes como Indicadoras de niveles de Calidad de Aire en Colombia.* Medellín, Colombia. 1984

GHIRARDI, R. et al. “Líquenes y claveles del aire como bioindicadores de contaminación atmosférica por metales pesados en el microcentro santafesino”. *Revista FABICIB de Universidad Nacional del Litoral San Fe de Argentina* [En línea], 2010, (Argentina) 14, pp.165-173. [Consulta: 27 Julio 2017]. Disponible en: <http://bibliotecavirtual.unl.edu.ar/publicaciones/index.php/FABICIB/article/view/861/1246>

GUTIÉRREZ H. & DE LA VARA R. *Análisis y diseño de experimentos.* Segunda edición. México. McGRAW-HILL/INTERAMERICANA, pp. 39-59

HAWKSWORTH, D. L.; ITURRIAGA, T. & CRESPO, A. “Líquenes como bioindicadores inmediatos de contaminación y cambios medio-ambientales en los trópicos”. *Revista Iberoamerica de Micología* [en línea], 2005. (Venezuela) 22, pp.71-82. [Consulta: 24 Mayo 2017]. Disponible en: <http://www.reviberoammicol.com/2005-22/071082.pdf>

HURTADO, W., H. GÓMEZ, R. FERNÁNDEZ, F. GALARRAGA, J. HERNÁNDEZ & R. GONZÁLEZ. “Liquen Parmotrema sancti angelii como biomonitor de los metales provenientes de la Mina Loma de Niquel, Estado Aragua”. *Revista Científica ResearchGate*, [En línea], 2013, (Venezuela) 44, pp.5-12. [Consulta: 27 Julio 2017]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/314090731_LICHENS_AND_AIR_

KETT, A., DONG, S., ANDRACHUK, H. & CRAIG, B. “Aprendiendo con Líquenes. Uso de Líquenes Epífitos como Indicadores Biológicos de Contaminación del Aire”. [En línea]. s.f. (Canadá). [Consulta: 16 marzo 2018]. Disponible en: <https://greenteacher.com/article%20files/Lichens.pdf>

LIJTEROFF, R.; LIMA, L.; PRIERI, B. “Evaluación de la calidad del aire mediante el uso de bioindicadores en la provincia de San Luis, Argentina”. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental UNAM* [en línea], 2009, (Argentina) 25(2), pp. 11-120. [Consulta: 14 Mayo 2017]. ISSN 0188-4999 Disponible en: <http://www.revistascca.unam.mx/rica/index.php/rica/article/viewFile/22522/21666>

LÓPEZ, M. *La simbiosis como forma de vida*. [Blog]. 2012. [Consulta: 14 marzo 2018]. Disponible en: <http://treparriscosfieldnotebook.blogspot.com/2012/10/la-simbiosis-como-forma-de-vida.html>

MINISTERIO DEL AMBIENTE DEL ECUADOR. *Plan Nacional de Calidad del Aire*. [en línea]. Quito. 2010. [Consulta: 8 de julio 2017]. Disponible en: <http://www.ambiente.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2012/10/libro-calidad-aire-1-final.pdf>

MATEUS, N., AGUIRRE, J., & LUCKING, R. “Contribuciones a la biota liquénica foliícola del Chocó (Colombia)”. *Revista Científica Caldasia* [En línea], 2012, (Colombia) 34(1), pp.25-32. [27 Julio 2017]. Disponible en: <http://revistas.unal.edu.co/index.php/cal/article/view/36424/38126>

MÉNDEZ, V. & MONGE, J. “El uso de líquenes como bioindicadores para evaluar el estado de la contaminación atmosférica a nivel mundial”. *Revista de Educación Ambiental BIOECENOSIS*, [En línea], 2011, 25, pp.51-67. [Consulta: 27 Julio 2017]. Disponible en: <http://investiga.uned.ac.cr/revistas/index.php/biocenosis/article/view/1188/1219>

OCHOA, D. & CUEVA, A. “Cambios en la composición de Líquenes epífitos relacionados con la calidad del aire en la ciudad de Loja”. *Revista Científica Caldasia* [En línea], 2015, (Ecuador) 37(2), pp.333-343. [Consulta: 19 Mayo 2017]. Disponible en: <http://revistas.unal.edu.co/index.php/cal/article/view/53867/53929>

QUISPE, K., ÑIQUE, M., & CHUQUILIN, E. “Líquenes como bioindicadores de la calidad del aire en la la ciudad de Tingo María, Perú”. *Investigación y Amazonía 2013* [En línea], 2015, (Perú) 3(2), pp.99-104. [Consulta: 8 Julio 2017]. ISSN 2224-445X. Disponible en: https://www.academia.edu/22810207/L%C3%ADquenes_Como_Bioindicadores_De_La_Calidad_Del_Aire_en_La_Ciudad_De_Tingo_Mar%C3%ADa_Peru

RAMÍREZ, V. *Química 2*. [En línea]. 2ª ed. México D.F.: Grupo Editorial Patria. 2014. [Consulta: 27 noviembre 2017]. Disponible en: https://books.google.com.ec/books?id=eaCEBgAAQBAJ&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false

RIBERA, M., TOLEDO, C., FLORES, C., AGUIRRE, R. “Líquenes como bioindicadores del Medio Ambiente”. *Revistas Bolivianas Universidad Ciencia y Sociedad* [En línea], 2012, (Bolivia) 8, pp.34-40. [23 Mayo 2017]. Disponible en: http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?pid=S8888-88882012000300007&script=sci_arttext

RIQUELME, F. Evaluación del uso de líquenes como indicadores biológicos de contaminación atmosférica en la Quebrada de la Plata, Región Metropolitana. [En línea] (Memoria).(Ingeniería) Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Forestales. Chile. 2008. pp. 3-4. [Consulta: 23 mayo 2017]. Disponible en: http://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/105136/riquelme_f.pdf?sequence=4&isAllowed=y

RINCÓN, J. Líquenes como Bioindicadores en el monitoreo de la calidad del aire. [En línea] (Monografía).(Especialización), Universidad Industrial de Santander, Facultad de Ciencias, Escuela de Química. Bucaramanga, Colombia, 2012. pp. . [Consulta: 5 mayo 2017]. Disponible en: <http://docplayer.es/40891727-Liquenes-como-bioindicadores-en-el-monitoreo-de-la-calidad-del-aire-jenny-viviana-rincon-jaimes.html>

SCHINITMAN, N. *Metales Pesados, Ambiente y Salud* [En línea]. Ecoportal.net. 2004. [Consulta: 13 marzo 2018]. Disponible en: https://www.ecoportal.net/temas-especiales/contaminacion/metales_pesados_ambiente_y_salud/

SEGURA, S. Caracterización de la contaminación atmosférica en sies parques recreacionales del Distrito Metropolitano de Quito mediante el uso de Bioindicadores [en línea] (Tesis) (Ingeniería) Universidad Central del Ecuador, Facultad de Ingeniería en Geología, Minas, Petróleos y Ambiental, Carrera de Ingeniería Ambiental. Ecuador. 2013. pp. 37-52. [Consulta: 9 Mayo 2017]. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/678/1/T-UCE-0012-145.pdf>

SSF, Servicio de Sanidad Forestal y Equilibrios Biológicos. Dirección General de Desarrollo Rural y Política Forestal Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente *Manual Red Ce De Nivel II. Parte VII. Inventario de Líquenes Epífitos.* [En línea].2016 España. [Consulta: 23 mayo 2018]. Disponible en: <https://www.slideshare.net/997227832/parte-7-liquenes>