

VECTOR PLUS

## LOS LÍQUENES COMO BIOINDICADORES PARA EL ESTUDIO DE LOS EFECTOS DE LA CONTAMINACIÓN ATMOSFÉRICA

Nº 22, p. 11-14, 2003

### INTRODUCCIÓN

Un indicador de la contaminación atmosférica es el que se sabe está relacionado con los niveles de contaminación. La utilización de seres vivos como indicadores (bioindicadores) puede ser una herramienta muy valiosa en estudios relacionados con los efectos de la contaminación atmosférica (y de otros tipos: suelos, agua, etc.).

El uso de indicadores biológicos presenta una serie de ventajas frente a los mediadores físico-químicos pero también algunos inconvenientes.

Generalmente, su uso se debe a planteamientos de tipo económico, tales como el bajo costo y los resultados rápidos; También existen otros cuyo uso se debe al tipo de información que proporcionan, que es acumulativa e integrada y difícil de obtener sólo con medidas físico-químicas, de la misma forma que su capacidad de respuesta a pequeñas alteraciones del medio.

Entre los inconvenientes, hay que señalar la imposibilidad de obtener resultados cuantitativos reales, en muchos casos debido a los complejos mecanismos, no siempre bien conocidos, de interrelación que existen entre las formas vida y/o su comportamiento, y el medio donde se desarrollan; mecanismos que, en definitiva, son los que permiten su uso como bioindicadores.

En el presente estudio de contaminación atmosférica se utilizan los

Líquenes, que son el resultado de una simbiosis entre un alga unicelular (alga verde o cianofícea, el ficobionte) y un hongo (en la mayoría de los casos Ascomicetos, el micobionte). Estos organismos se encuentran adaptados a todo tipo de hábitat, desde los trópicos hasta las regiones polares.

En este estudio se ha centrado el seguimiento a un número de especies lo más afines entre las distintas estaciones a estudio, con el fin de centrar el esfuerzo en una población más representativa.

Exhiben un colorido muy diverso, y su tamaño es muy variable: desde menos de 1 mm<sup>2</sup> hasta 2 m de longitud. Pueden vivir sobre rocas, troncos, hojas vivas, etc. Su crecimiento más rápido puede incrementar al año su biomasa en un 20-40 %.

Son incapaces de controlar la pérdida de agua de forma activa, pudiendo permanecer secos (inactivos) durante períodos prolongados de tiempo, y activarse cuando se hidratan.

Las comunidades líquénicas pueden ser de dos tipos, según el substrato donde aparezcan:

- a) Epífitos, en ramas y troncos.
- b) Saxícolas, en suelo y rocas.

Los métodos que se han utilizado para su estudio son: físico-químicos y determinaciones de cobertura y vitalidad.

Dr. J.E. González González,

Dr. J.J. Santana Rodríguez,

Dña. J. Vaswani Rebozo,

Dr. F.J. Santana Hernández

(Investigadores del Grupo CAFMA)

Habitualmente suelen utilizarse los epífitos sobre troncos para cuantificar la diversidad de las comunidades líquénicas en una determinada localidad.

Sin embargo, en el sur de Gran Canaria, predominan los líquenes sobre roca o sobre suelos, por lo que este método no resulta ser el adecuado. Sólo aparecen líquenes epífitos en cotas muy elevadas, representadas en la localidad de muestreo denominada "Pico de las Nieves", tras realizar una intensa campaña de prospección de líquenes epífitos en el sur de la isla de Gran Canaria.

#### METODOLOGÍA DE TRABAJO

#### CRITERIOS PARA LÍQUENES SOBRE ROCAS

El muestreo de líquenes sobre rocas (saxícolas), que como se ha indicado anteriormente, son abundantes frente a los epífitos (sobre árboles), se ha realizado como se indica posteriormente:

- Realizar inventario de cada una de las especies existentes en la localidad de muestreo.

- Se llevan a cabo muestreos en función de los períodos húmedos y secos.

Se analiza el grado de recubrimiento (cobertura). Para ello, se anotan los índices de abundancia.

Se utilizó una malla de 32 x 50 cm con tamaño de cuadrícula de 8 x 12,5 cm. La cuadrícula se dispone sobre la roca siempre en el mismo sitio, para así poder comparar las fotografías a lo largo del tiempo.

#### CRITERIOS PARA LÍQUENES SOBRE ÁRBOLES

Indicar que la única localidad de muestreo sobre la que se ha podido realizar estudio de líquenes sobre árboles (epífitos), ha sido Pico de Las Nieves.

Se llevó a cabo al azar la elección de 10 árboles en un radio de 25 m. alrededor del punto central, con requisitos de diámetro, inclinación, etc. Para el estudio se utilizó una retícula de 25 x 60 cm subdividida en 10 subcuadrados iguales, que se dispone en el tronco del árbol a 120 cm del suelo y en la cara con mayor cobertura líquénica.



Imagen 1.

## ESTUDIO DEL TALO LIQUÉNICO POR MICROSCOPIA ÓPTICA

### DESCRIPCIÓN DE LA ESTRUCTURA DE LOS LÍQUENES OBSERVADOS

Especie 1, 2 y 3 (Xantoria): Presentan estructura heterómera donde se distinguen con claridad el córtex superior, la capa del fotobionte, médula y córtex inferior. El fotobionte (compuesto de algas cianofitas o clorofitas) se encuentra rodeado por una capa fúngica de grosor variable que ocupa la mayor parte del talo. Por otro lado, las hifas son alargadas y translúcidas y se encuentran entremezcladas.

### MÉTODOS UTILIZADOS EN EL ESTUDIO DE LA ESTRUCTURA DE LOS LÍQUENES

- Microtomo-criostato: Se deja que el criostato tome una temperatura de unos 33 °C y congelamos la muestra incluyéndola en Crio-mbed. Una vez que esté la muestra congelada, se procede a cortarla con un grosor entre 6 y 12 micras, para obtener así una mejor visualización de la estructura en el microscopio. Recogemos el corte con un porta-objetos, colocamos un cubre

encima y la muestra queda lista para observarla en el microscopio

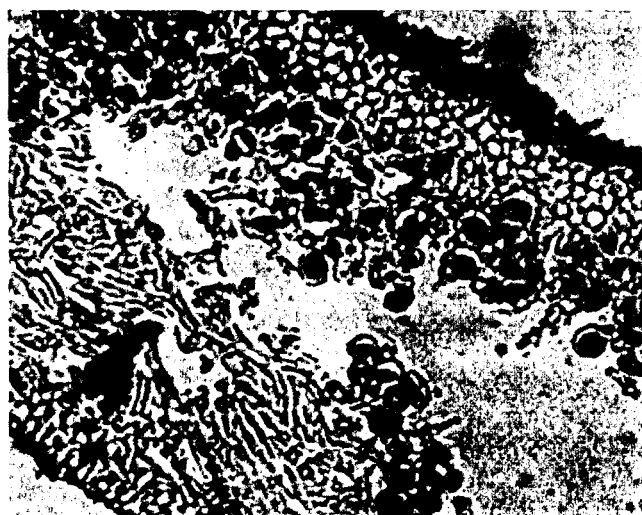
- Microtomo convencional:

Método de inclusión en parafina para diagnóstico rápido por medio de microondas.

Después de incluir la muestra de líquen en parafina, procedemos a cortar la muestra con un grosor entre 3 y 10 micras. La cuchilla a utilizar debe limpiarse con xilol después de su uso para asegurarnos que no queden restos de parafina en ella. Una vez que se obtenga el corte, se deposita en un porta-objetos y luego en un calentador que mantenga el agua a unos 50 °C, de esta manera el corte se estira y lo depositamos de nuevo en el porta-objetos. Una vez que se haya secado, procedemos a desparafinar.

### CONCLUSIÓN

Si comparamos los dos métodos que hemos utilizado para obtener cortes de las estructuras liquénicas, vemos que el método de inclusión en parafina nos permite obtener cortes de menor grosor, y por lo tanto, mejora la identificación de cada una de las partes que componen el talo. De esta manera, pode-



Disposición de capa de gonidios (algas-clorofilas) con las hifas del hongo.



Liquen sometido a 30 mg/m<sup>3</sup> de SO<sub>2</sub>, en cámara Kesternich.

mos observar en las fotos cómo en la capa medular del liquen hay espacios entre las hifas que permiten la aireación del talo. Esta peculiaridad no podríamos observarla con un corte realizado por el criostato.

Tanto realizando los cortes con el microtomo-criostato como con el microtomo convencional, podemos observar unas estructuras circulares de color rojo (imagen 1) en los talos de los líquenes que han sido sometidos a una atmósfera de SO<sub>2</sub>, aumentando el tamaño y número de éstas a medida que aumenta la concentración de SO<sub>2</sub>.

En lo referente a los gonidios o hifas del liquen, no podemos decir que se hayan manifestado cambios en cuanto número, tamaño o estructura, aunque quizás para que estos cambios tengan lugar, debería hacerse un estudio más prolongado y exhaustivo.

La presencia de SO<sub>2</sub> como contaminante atmosférico, afecta a la estructura del liquen provocando la migración de la capa de gonidios (algas-clofila) hacia la médula, esto es, se aleja de la zona apical que está en contacto con la atmósfera

como mecanismo de protección. Otro aspecto que aparece en la bibliografía es la producción por parte del liquen de sustancias hidrofóbicas para evitar que el contaminante penetre en el interior de la estructura.

### ASPECTOS PROPUESTOS

Dado que el método de la inclusión de parafina aún no está del todo a punto, se hace necesario que trabaje con variaciones de los tiempos durante las distintas deshidrataciones e hidrataciones para conseguir fotomicrofotografías del córtex adecuadas.

Este trabajo se puede realizar en el laboratorio CAFMA, dado que solo se requeriría el microondas, y en su caso seguir el método estandarizado que aumenta los tiempos de inclusión por muestras (del orden de 6 horas). No obstante, los resultados del trabajo de inclusión mediante los cortes al microtomo y visualización al microscopio en una primera etapa, ayudaría a optimizar los tiempos de inclusión por especies de líquenes.