

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE INGENIERÍA**  
**FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL**  
**SECCION DE POST GRADO Y SEGUNDA ESPECIALIZACION**



**“USO DE LÍQUENES COMO BIOINDICADORES DE PRESENCIA DE  
METALES PESADOS EN ÁREAS CERCANAS A EMPRESAS  
MINERAS EN ZONAS DE ALTURA EN PERÚ”**

**TESIS**

**PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE  
MAESTRO EN CIENCIAS CON MENCIÓN EN:**

**GESTIÓN AMBIENTAL**

**PRESENTADO POR:**

**EIMY TABATHA DÍAZ RIVAS PLATA**

**LIMA, PERÚ**

**2006**

## **DEDICATORIA**

Dedico la presente Tesis a todos aquellos que luchan por una calidad ambiental saludable, aquellos que no renuncian a sus ideales de un Perú más verde y a todos los que invierten tiempo y energía en el cuidado de nuestro país.

## AGRADECIMIENTOS

En primer lugar quiero agradecer al Field Museum de Chicago, ya que gracias al financiamiento que me otorgaron logré acceder a las instalaciones y equipos necesarios para realizar los análisis elementales para el presente estudio. Entre los colaboradores del Museo quisiera agradecer especialmente a la Dra. Laure Dussubieux por su tiempo y esfuerzo, Scott Staszak por su continuo apoyo y Elaine Zeiger por su inmensa paciencia.

Del mismo modo quiero expresar mi gratitud hacia la Dra. Magdalena Pavlich (Universidad Peruana Cayetano Heredia), por sus continuas orientaciones, su inagotable energía, sus conocimientos, tiempo, paciencia y su extraordinaria motivación por enseñar y aprender.

Asimismo, de manera muy especial, a mi asesor de tesis, Dr. Guy Carvajal, por su invaluable contribución a mi investigación y sus conocimientos metodológicos, sin los cuales no hubiera sido posible el desarrollo de este estudio. Así mismo, doy las gracias al Ing. Jorge Villena y a todos los profesores de la Maestría en Ciencias con mención en Gestión Ambiental de la Universidad Nacional de Ingeniería por su continuo apoyo.

Agradecer principalmente al Dr. Robert Lücking (Field Museum de Chicago), quien durante todo este tiempo me llevó de la mano en el estudio de los líquenes, a quien le estaré eternamente agradecida, porque sin él posiblemente me hubiera tomado mucho más tiempo darme cuenta de cuánto amo a la naturaleza y de lo invaluable que es la diversidad de mi país.

Gracias a aquellos que contribuyeron con información vital para el estudio: Dr. Thorsten Lumbsch (Field Museum de Chicago, EUA), Dr. Thomas Nash (Arizona State University, EUA), y Dr. Evert Nieboer (University of Tromsø, Noruega).

Finalmente agradezco a mi familia por su soporte incondicional y a todos aquellos que de una u otra manera contribuyeron con mi estudio: MSc. Percy Talledo y Sra. Bertha Mendoza, muchas gracias.

## RESUMEN

El presente trabajo de tesis 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. Por ser organismos simbiontes, se considera a los líquenes como bioindicadores por excelencia.

El área de trabajo estudiada comprende dos áreas adyacentes, ubicadas en el distrito de Huay Huay, provincia de Yauli, Región Junín, entre 4700 - 4900 msnm, una de las cuales se encuentra aledaña a la Unidad Minera Andaychagua de "Volcan Compañía Minera" (sic).

Se recolectó y determinó 41 especies de 14 familias, en su mayor parte líquenes crustosos, pertenecientes a la clase Lecanoromycetes, prevaleciendo *Leprocaulon gracilis* en el área minera y *Xanthomendoza mendozae* en el área de control. Treinta y cuatro de las 41 especies son nuevos registros para la colección de flora líquénica del Perú.

El objetivo principal del estudio fue demostrar que el uso de bioindicadores para medir la contaminación ambiental brinda resultados más eficientes, ya que presentan ventajas comparativas con relación al monitoreo físico de metales pesados, principalmente por permitir el acceso a datos relativos a un organismo vivo. Se tomaron como referencia a los siguientes elementos: cobre, zinc, plomo, cadmio, plata, arsénico y manganeso.

En una primera aproximación se logró identificar las especies de líquenes que pueden servir como principales bioindicadores. Los siguientes fueron los géneros y especies representativos en el área de control: *Coccocarpia palmicola*, *Diploschistes scruposus*, *Lecanora garovaglii*, *Lecidea lithophila*, *Rhizocarpon obscuratum*, *Rh. petraeum*, *Rh. sublecanorinum*, *Rimelia sp*, *Tephromela atra*, *Umbilicaria calvescens* y *U. kraschenikowskii*, mientras que los representativos del área minera fueron: *Acarospora flava*, *Heterodermia sp* y *Leprocaulon gracilis*.



Lograda la primera aproximación, el estudio continuó con la determinación de la concentración de metales pesados de líquenes seleccionados y la determinación de la existencia de remoción de metales pesados en talos liquénicos al enjuagarlos con agua corriente (simulando la actividad de la lluvia), así como la determinación de la evidencia de remoción de metales pesados en agua contaminada al sumergir a los líquenes en ella, con el fin de utilizarlos como indicadores del nivel de contaminantes en el agua y como posibles agentes de "limpieza".

La concentración de metales fue medida utilizando la espectrometría de masa con fuente acoplada de plasma inducida (ICP-MS), instalado en el laboratorio de análisis elemental del Field Museum de Chicago. El análisis estadístico de los experimentos de enriquecimiento y remoción de metales a través de agua, se realizó utilizando la prueba de Mann-Whitney y el análisis de distribución ecológica se realizó utilizando el análisis multidimensional de escala no paramétrica (NMS) y el índice de similitud o semejanza de Sørensen para establecer las diferencias a nivel de las comunidades liquénicas en las áreas analizadas.

Los resultados muestran que definitivamente existe una carga de metales en el ambiente, específicamente en los cursos de agua aledaños a las zonas muestreadas. Del mismo modo, se demostró que los líquenes funcionan como bioacumuladores sumamente eficientes, especialmente los líquenes foliosos *Xanthoparmelia sp* y *Paraparmelia sp*. Finalmente, se probó que los líquenes no liberan los metales pesados que acumulan extracelularmente.

En el Perú no se cuenta con reportes científicos completos al respecto, en consecuencia este trabajo contribuye en la provisión de información científica actual y debido a que nuestro país es eminentemente minero y nuestra geografía incluye regiones altoandinas, es posible replicar los experimentos y utilizar los datos obtenidos en beneficio de los pobladores.

## ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.		1
<b>I. LÍQUENES.</b>		<b>3</b>
1.1.	Simbiosis liquénica.	3
1.2.	Morfología.	4
1.3.	Estructura.	5
1.4.	Biología.	6
1.5.	Fisiología y metabolismo.	8
1.5.1.	Intercambio de nutrientes.	9
1.6.	Química y bioquímica.	10
1.7.	Crecimiento.	14
1.8.	Reproducción.	16
1.9.	Ecología.	17
1.9.1.	Distribución y cobertura.	18
1.10.	Importancia y usos.	20
1.11.	Líquenes de Perú.	22
1.11.1.	Listado (Checklist).	22
1.11.2.	Colectores y muestras.	24
1.11.3.	Autores y publicaciones.	25
<b>II. BIOMONITOREO CON LÍQUENES.</b>		<b>27</b>
2.1.	Uso de bioindicadores.	27
2.2.	Líquenes como bioindicadores.	28
2.3.	Aplicaciones prácticas.	30
<b>III. ACTIVIDAD MINERA EN EL ÁREA DE ESTUDIO.</b>		<b>35</b>
3.1.	Antecedentes.	37
3.2.	La minería en los andes centrales.	37
3.3.	Programas ambientales.	41
3.4.	Tratamiento de aguas ácidas.	42
3.5.	Normatividad legal y ambiental.	44

<b>IV.</b>	<b>PRESENCIA NATURAL DE METALES PESADOS.</b>	<b>46</b>
4.1.	Presencia natural de metales pesados en el ambiente.	48
4.2.	Presencia natural de metales pesados en organismos vivos.	49
4.3.	Metales pesados y salud humana.	50
4.3.1.	Los Minerales en la dieta humana.	50
<b>V.</b>	<b>LÍQUENES Y METALES PESADOS.</b>	<b>56</b>
5.1.	Definición de "metal pesado".	56
5.1.1.	Algunos elementos considerados Metales Pesados.	57
5.2.	Nutrientes, acumulación elemental y ciclo mineral en Líquenes.	58
5.3.	Propiedades químicas y físicas de nutrientes.	59
5.4.	Requerimiento de nutrientes.	59
5.5.	Fuentes de nutrientes.	60
5.5.1.	Fuentes atmosféricas.	60
5.5.2.	Sustrato.	61
5.6.	Mecanismos de acumulación.	63
5.6.1.	Intercambio iónico.	63
5.6.2.	Incorporación intracelular.	64
5.6.3.	Atrapamiento de partículas.	65
5.7.	Acumulación de metales.	66
5.7.1.	Comportamiento de metales acumulados por Líquenes.	66
5.8.	Compartimentalización de elementos entre líquenes.	67
5.9.	Estudios de liberación.	68
5.10.	Toxicidad de metales sobre líquenes.	70
5.11.	Tolerancia a metales.	72
<b>VI.</b>	<b>OBJETIVOS.</b>	<b>76</b>

<b>VII.</b>	<b>MATERIALES Y MÉTODOS.</b>	<b>77</b>
7.1.	Áreas de colecta.	77
7.2.	Datos generales.	77
7.3.	Área minera.	79
7.4.	Área de control.	80
7.5.	Colecta de especies.	81
7.6.	Identificación de las especies liquénicas.	85
7.7.	Análisis de datos.	86
7.8.	Diseño de análisis y experimentos.	89
7.8.1.	Análisis elemental utilizando espectrometría de masa con fuente acoplada de plasma inducida (ICP-MS).	90
7.8.2.	Selección y preparación de muestras.	93
7.8.3.	Exposición al diseño experimental y análisis de datos.	94
<b>VIII.</b>	<b>RECURSOS Y MATERIALES.</b>	<b>98</b>
<b>IX.</b>	<b>RESULTADOS.</b>	<b>99</b>
9.1.	Liquenobiota del área de estudio.	99
9.2.	Guía de campo.	108
9.3.	Cobertura y Frecuencia.	110
9.4.	Ordenamiento de datos.	112
9.5.	Concentración de metales pesados en líquenes del área de control vs. área minera.	121
9.6.	Enriquecimiento experimental de líquenes del área de control con metales pesados.	128
9.7.	Lavado experimental de líquenes del área minera con agua ultra pura (Mili Q).	134
<b>X.</b>	<b>DISCUSIÓN.</b>	<b>140</b>
10.1.	Biota liquénica del área de estudio.	140
10.2.	Comunidades liquénicas en el área de estudio.	142
10.3.	Efecto de la contaminación sobre los comunidades	

	Liquénicas.	144
10.4.	Acumulación de metales pesados en los líquenes.	145
10.5.	Líquenes como bioindicadores.	149
10.6.	Líquenes como "biolimpiadores".	152
<b>XI.</b>	<b>CONCLUSIONES.</b>	<b>154</b>
<b>XII.</b>	<b>RECOMENDACIONES.</b>	<b>156</b>
<b>XIII.</b>	<b>FUENTES DE INFORMACIÓN.</b>	<b>157</b>
<b>XIV.</b>	<b>ANEXOS.</b>	<b>X</b>

## INTRODUCCIÓN

La actividad minera libera grandes cantidades de elementos al ambiente y se ha convertido en uno de los mayores factores en la alteración de la calidad ambiental de las zonas aledañas. Esta alteración es progresiva y afecta el equilibrio entre los procesos naturales y la diversidad biológica. La carga ambiental de los elementos potencialmente tóxicos se ha incrementado incluso en regiones alejadas de las fuentes de contaminación, motivo por el cual, se ha señalado claramente que es necesario contar con sistemas de monitoreo confiables con diferentes escalas.

Los elevados costos de establecer y administrar las redes de monitoreo automáticas limita el número de estaciones de muestreo y/o el número de contaminantes considerados. Además, aunque muy confiables, los datos de registro podrían ser estadísticamente incompletos o débiles y su integración con modelos de difusión podrían dar información no confiable sobre la liberación e impacto real de los contaminantes ambientales en ecosistemas terrestres.

Los acumuladores biológicos son organismos que reflejan el contenido químico de su ambiente. El monitoreo biológico con organismos acumuladores provee datos esenciales a los registros instrumentales. Cientos de estudios llevados a cabo en los últimos 30 años confirman que los líquenes se encuentran entre los acumuladores de contaminantes inorgánicos más importantes. El uso de bioindicadores es de un costo considerablemente bajo en comparación a métodos químicos y físicos, habilita la cobertura de áreas grandes y de acceso restringido, del mismo modo provee información actual y retrospectiva de los efectos integrados de los contaminantes atmosféricos y otros factores ambientales.

Los líquenes son organismos que, por carecer de estructuras especiales para la absorción del agua e intercambio de gases, cuentan con un modo de incorporación de los mismos que incluye, igualmente, la filtración de sustancias disueltas (entre ellas una gran cantidad de contaminantes) sobre una gran parte de su superficie y al interior de los mismos. Las hifas ramificadas y los grandes

espacios intercelulares en los tejidos de los líquenes facilitan la acumulación de los contaminantes particulados.

La composición química de los mismos, por lo tanto, refleja en gran medida la disponibilidad de estos elementos en el ambiente. Los líquenes se comportan como colectores de contaminantes atmosféricos de larga vida, especialmente aquellos asociados a las partículas de metales. La importancia no solo radica en el conocimiento que proveen sobre la calidad ambiental o específicamente sobre la presencia de metales, sino que los datos tales como la transferencia de contaminantes a herbívoros y la predicción de los posibles efectos ambientales y cambios climáticos, es información adicional de suma trascendencia.

Por otro lado, la teoría de los bioindicadores se basa en el hecho de que ciertos organismos muestran reacciones específicas a los cambios del ambiente, en este caso causadas por contaminantes del aire, el agua y los suelos. Por lo tanto, la reacción específica de estos organismos puede ser usada para "indicar" tales cambios o la presencia de agentes contaminantes, tanto de forma cualitativa como cuantitativa.

Como se mencionó, los líquenes son particularmente aptos para la bioindicación ya que la simbiosis líquénica es muy sensible a cambios abruptos del medio ambiente. En el caso de metales pesados, se sabe que muchos líquenes no toleran concentraciones elevadas de estas sustancias y responden con daños morfológicos y ecofisiológicos<sup>(11, 12, 13, 14, 61, 72, 82, 133, 142, 145, 176)</sup>.

Otras especies pueden tolerar altas concentraciones sin daños visibles y suelen tener mecanismos particulares para eso, como la síntesis de fitogelatinas<sup>(130, 148, 168, 169)</sup>. En muchos casos, los metales pesados y otros contaminantes se acumulan en zonas particulares del talo líquénico, generalmente en los compartimentos lejanos de alta actividad metabólica<sup>(19, 21, 67, 86, 129)</sup>.

En el Perú, no existen muchos estudios relacionados con este tema que puedan servir de referencia exhaustiva.

## I. LÍQUENES

Dado que el propósito de este estudio es utilizar a los líquenes como bioindicadores de contaminación por metales pesados, es necesario primero comprender la morfología, fisiología y ecología de los líquenes, ya que estos parámetros afectan directamente e indirectamente su comportamiento y desempeño como bioindicadores.

### 1.1. Simbiosis líquénica

Los líquenes han sido descritos como “organismos duales” porque son la asociación simbiótica entre dos tipos de organismos enteramente diferentes:

- Un hongo (llamado micobionte).
- Un alga verde o cianobacteria – alga azul verdosa (llamado fotobionte).

Esta simbiosis líquénica es una de las razones principales por la que estos organismos son idóneos para ser usados como bioindicadores ya que esta relación es muy susceptible a cambios ambientales causados por actividad humana.

Hay muchos ejemplos de simbiosis en la naturaleza, pero los líquenes son únicos porque lucen y se comportan de manera muy diferente a otros organismos. A diferencia de todas las demás relaciones simbióticas, los líquenes forman una unidad única, con caracteres morfológicos, anatómicos y fisiológicos que no se encuentran en los componentes libres. De este modo, los líquenes han sido considerados por mucho tiempo como organismos con su propia delimitación sistemática. Sin embargo, los nombres que se les ha asignado son los utilizados en la nomenclatura de hongos, y hoy en día, en términos de nomenclatura, no se habla más de líquenes sino de un grupo especial de hongos denominados “hongos liquenizados”.

Se han estimado hasta 22000 especies de líquenes, los cuales se extienden desde las regiones polares hasta los trópicos. Algunos de ellos crecen en los troncos de los árboles o sobre las hojas de los árboles de bosques lluviosos tropicales (epífitos). Otros ocupan algunos de los ambientes menos hospitalarios



de la tierra, creciendo en cursos de lava enfriada o superficies de rocas descubiertas, donde ayudan a la formación del suelo, así como en arenas del desierto donde ayudan a estabilizar la superficie y la enriquecen con nutrientes. Algunos otros tipos de líquenes crecen abundantemente en suelos de tundra, siendo fuente vital de alimento invernal para los animales (incluyendo los renos y caribúes) en regiones árticas y sub-árticas.

Un estudio realizado luego del accidente de Chernobyl (Rusia) mostró que la participación de los líquenes en la cadena alimenticia de la zona era sumamente importante, ya que, en primer lugar, el estudio reveló la capacidad de los líquenes de acumular elementos radiactivos y en segundo lugar demostró, que al ser uno de los principales alimentos de los renos, la carne de éstos, se volvió altamente tóxica, por la tasa de radiactividad que contenía, derivada de la ingesta de líquenes.

## **1.2. Morfología**

Los líquenes muestran estructuras que adoptan formas planas que se encuentran total o parcialmente adheridas a sustratos como la piedra o corteza, así como formas lobuladas o hasta arbustivas que pueden estar descansando en ramas de árboles. El componente fúngico es el que determina las formas, aunque en algunos casos el fotobionte puede también ejercer su influencia. Así, un líquen puede adoptar formas diversas. Entre las formas en que pueden presentarse cabe mencionar a los líquenes foliosos, que son aquellos con estructuras lobuladas, los fruticosos o ramificados, que tienen un soporte en forma de tallo y estructura en forma de mota, escumulosos, que son aquellos que presentan formaciones escamosas y crustosos, que son aquellos líquenes planos que se encuentran totalmente adheridos al sustrato.

Se ha observado que los líquenes que tienen mayor capacidad de acumulación elemental, incluyendo metales pesados y partículas tóxicas, son los foliosos y fruticosos, específicamente aquellos de la familia de las Parmeliaceas.

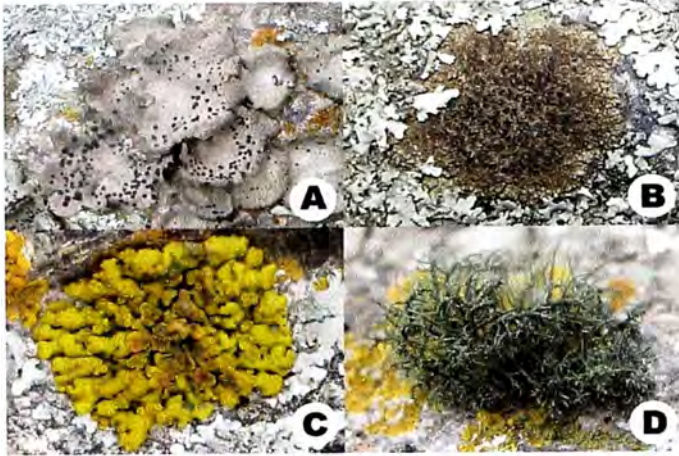


Figura 1: (A) Liquen folioso (*Umbilicaria*), (B) Liquen crustoso (*Endocarpon*), (C) Liquen escuamuloso (*Placomaronea*), (D) Liquen fruticoso (*Usnea*).

### 1.3. Estructura

Un liquen generalmente está formado por una estructura de base llamada talo, compuesto por un córtex superior, una capa algal, que es la que contiene todas las células del alga, una médula y un córtex inferior. Asimismo tiene órganos reproductores de diferentes formas y estructuras adicionales como cilios y rizinos. En general, es en el cortex superior e inferior donde se acumulan las partículas resultantes de la contaminación ambiental o los metales pesados a los que el liquen se encuentra expuesto. En algunos casos, este material particulado, puede penetrar hasta la capa algal y perjudicar el aparato fotosintético de ella.

El talo o aparato vegetativo de los líquenes está formado por hifas entrelazadas que rodean y protegen al alga. El talo puede ser homómero, es 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 médula se encuentra por debajo de la capa y está formada por hifas. La zona que está en contacto directo con el sustrato recibe el nombre de córtex inferior, y pueden aparecer hifas cuyo propósito es la fijación del liquen al soporte.

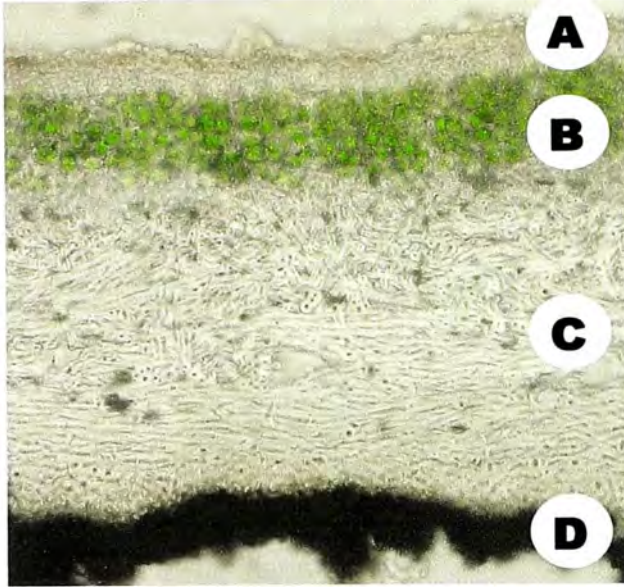


Figura 2: Estructura interna de un líquen, (A) Cortex superior, (B) Capa algal – fotobionte, (C) Médula o capa central, (D) Cortex inferior.

El simbionte fotosintético de un líquen está generalmente formado por un grupo de algas verdes que se encuentran dispuestas tanto como células individuales como en cadenas de células. Las algas verdes contienen clorofila, el pigmento primario necesario para realizar fotosíntesis. Este pigmento está encerrado en estructuras llamadas cloroplastos, que representan el lugar exacto en donde se realiza la fotosíntesis. También es uno de las pocas biomoléculas que tiene como componente funcional a Mg, el cual en otro contexto es considerado un metal pesado. En algunos líquenes, como los gelatinosos de coloración gris-azul oscuro, las cianobacterias (también conocidas como algas azul verdosas) son el componente algal. Usualmente un líquen contiene una sola especie de alga, pero en algunos casos, tanto un alga verde como una cianobacteria viven en diferentes partes del mismo líquen.

Cabe mencionar que las hifas del hongo son las que se encuentran en contacto directo con el entorno, ellas pueden funcionar como protectoras de las células algales, por ejemplo adhiriendo el material particulado resultado de la contaminación a su superficie (especialmente en las hifas del córtex superior) de modo que no entren en contacto con el interior de las células (tanto algales como fúngicas), evitando intoxicación.

#### 1.4. Biología

Algunos hongos liquenizados pertenecen a un grupo llamado *Basidiomycetes* (hongos que forman cuerpos reproductores produciendo basidios y

basidiosporas), sin embargo, la gran mayoría pertenecen al grupo de los *Ascomycetes*, llamados de este modo porque dentro de las estructura reproductora (apotecios) se encuentran las estructuras reproductoras “ascas” que a su vez contienen ascosporas.



Figura 3: (A) Liquen con micobionte *Basidiomycete* (*Dictyonema glabratum*), (B) Liquen con micobionte *Ascomycete* (*Heterodermia leucomela*).

En contraste a la gran cantidad de hongos liquenizados identificados, hay solo unas 100 parejas fotosintéticas de algas verdes y cianobacterias. La más común es un 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*, género que fue estudiado en los alrededores de Chernobyl, como se mencionó previamente. Las especies de *Trebouxia* pocas veces son encontradas como células de vida libre en la naturaleza, en lugar de ello, parecen haberse especializado en efectuar simbiosis líquénica. Otro fotobionte común es el alga filamentosa del género *Trentepohlia*, especialmente en regiones tropicales y del Mediterráneo.

Tanto *Trentepohlia* como otros géneros de algas simbióticas tropicales puede ser encontrada creciendo independientemente en la naturaleza. Alrededor del 10% de los líquenes tienen cianobacterias (por ejemplo, *Nostoc*) como simbionte fotosintético, eso se aplica para muchas de las especies de *Leptogium* y *Peltigera*. Sin embargo, algunos líquenes que contienen algas verdes pueden también tener cianobacterias en estructuras especiales en forma de verruga en la superficie del liquen. Estas estructuras son llamadas cefalodios. Se encuentran en 3 o 4% de las especies de líquenes y su rol es explotar la habilidad propia de fijar Nitrógeno.

En general, los líquenes que se ha estudiado como bioindicadores, incluyendo metales pesados, son las que tienen *Trebouxia* como fotobionte, porque son los líquenes de mayor abundancia en zonas donde la contaminación ambiental ha provocado un impacto significativo.

### 1.5. Fisiología y metabolismo

Una particularidad de la simbiosis líquénica es la interacción fisiológica que se da entre micobionte y fotobionte, lo cual es necesario comprender para entender como los líquenes, tanto como conjunto como en sus componentes individuales, reaccionan a la presencia de la contaminación ambiental.

El **micobionte** tiene dos roles principales en la simbiosis líquénica:

- 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.

De esta manera, a través de la simbiosis, los fotobiontes son protegidos y tienen la posibilidad de crecer en condiciones en las cuales no hubiesen podido crecer solos; también se benefician por la forma altamente eficiente con la que los hongos incorporan nutrientes minerales. El hongo, en cambio, obtiene azúcares y en algunos casos nitrógeno orgánico de su simbionte fotosintético, finalmente, el líquen puede crecer en ambientes prácticamente deficientes en nutrientes orgánicos.

### 1.5.1. Intercambio de nutrientes

La mayor atención en lo relativo al intercambio de nutrientes en los líquenes se ha centrado en los mecanismos del flujo de carbón desde el simbionte fotosintético hacia el hongo, debido a que los estudios han mostrado que tanto el alga verde como la cianobacteria pueden liberar hasta el 90% de la energía y los compuestos generados en la fotosíntesis, hacia el hongo liquenizado.

En líquenes con *Trebouxia* como simbionte fotosintético, y presumiblemente también con alguna otra alga verde, las hifas del hongo pueden producir ramificaciones cortas que penetran a través de la pared del alga para absorber los nutrientes del interior de la misma (haustorias). Este es un comportamiento similar al de los patógenos de plantas biotróficas (que requieren de células vivas para poder cumplir su ciclo biológico). En contraste, en los líquenes con cianobacteria, no hay penetración de las células fotosintéticas, en lugar de eso, las hifas del hongo de la región central (usualmente hidrofóbica) producen protuberancias con pared delgada que penetran en la cubierta gelatinosa hidrofílica que rodea a las células de la cianobacteria.

Los carbohidratos más solubles de los líquenes son polialcoholes (alcoholes de azúcar). En el hongo liquenizado estos compuestos están presentes en forma de manitol y en menor grado, arabitol. En estos detalles, los hongos liquenizados no son diferentes de otros hongos, los cuales, tienen alcoholes de azúcar como los principales carbohidratos solubles. Las algas verdes producen alcoholes de azúcar como producto fotosintético principal – por ejemplo el alcohol de azúcar, ribitol, es producido por *Trebouxia*. En efecto, las cianobacterias también liberan glucosa hacia el hongo, sin embargo, en la cianobacteria, esto parece ocurrir pasivamente a través del transporte de la glucosa de la membrana celular, después de la degradación del glucano intracelular (polímero de glucosa) por las enzimas especializadas.

La cantidad máxima de nutrientes liberado por el simbionte fotosintético ocurre en condiciones de humedad óptima, donde las células fotosintéticas retienen la mayor parte de los carbohidratos. Entonces, se ha sugerido que los ciclos de



humedecimiento y sequedad serían ventajosos para mantener la simbiosis líquénica, porque ambos simbiontes podrían ganar suficientes carbohidratos en diferentes etapas de este ciclo.

### **1.6. Química y bioquímica**

Las sustancias contenidas en los líquenes se pueden dividir en:

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.

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.

Entre las sustancias primarias contenidas en las células se encuentran las siguientes:

- Sustancias inorgánicas, sales minerales.
- Sustancia 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 líquen.
- Lípidos que a menudo se acumulan en las hifas.
- Azúcares: almidón (sólo en el alga), glucógeno (sólo en el hongo o cianofitas).

Entre las sustancias primarias comunes a las membranas tanto del alga como del hongo podemos mencionar:

#### **En el Alga**

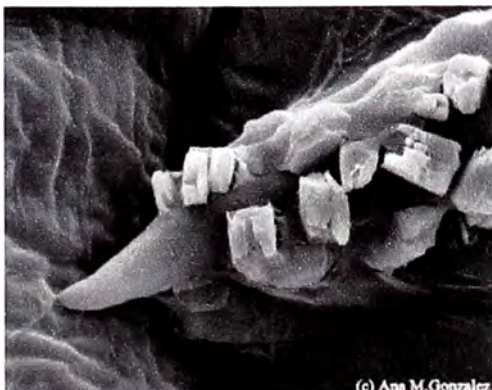
Celulosa asociada a sales de calcio, calosa y compuestos pécticos, estos últimos abundantes en la cara externa de las células de las cianofitas para formar una envoltura mucilaginoso de espesor variable.

### En el Hongo

- a. Sustancias minerales, las más importantes son los óxidos e hidróxidos de hierro en forma de granulaciones que se convierten en colores rojizos.
- b. Glúcidos, celulosa, hemicelulosas.
  - Liquenina, insoluble en agua fría, en agua caliente da una solución coloidal, que no se tiñe con el yodo.
  - Isoliquenina, soluble en agua fría, se tiñe con yodo.  
(Liquenina e Isoliquenina son dos glúcidos específicos de los líquenes, hidrolizables por la liquenasa, enzima existente en el protoplasto de las hifas).
  - Otras sustancias semejantes: usneina, evernina.
  - Amiloides insolubles.
  - Calosa.
- c. Compuestos pécticos.
- d. Quitina, igual que en el resto de los hongos.
- e. Pigmentos, que abundan en el córtex, y otras sustancias secundarias

Del mismo modo, existen sustancias que son liberadas por el hongo, entre las cuales se puede mencionar:

- **Oxalato de calcio**, en forma de minúsculos cristales, principalmente presentes en la médula, más raramente en el exterior del córtex, frecuentemente en el epitecio del himenio. Más abundante en los líquenes crustosos y aquellos que utilizan rocas calcáreas como sustrato, se aprecia como una sustancia de desecho, lípidos, gotitas minúsculas en la superficie de las estructuras de los cuerpos fructíferos.



*Figura 4: Cristales de oxalato de calcio en esclerénquima (tejido de células vegetales).*



Las sustancias secundarias liquénicas 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.

Se conocen unos 1000 tipos de sustancias liquénicas <sup>(189)</sup>, las cuales aparecen en partes específicas del líquen. Se presentan con forma de minúsculos cristales y granulaciones dispuestas en la superficie de las hifas, su concentración varía entre 0,15 – 10% en relación al peso seco del líquen, la mayoría son incoloras, excepto las derivadas del ácido pulvínico, las antraquinonas y los ácidos úsnicos.

Las sustancias liquénicas son insolubles en agua, pero solubles en alcohol, éter, acetona y cloroformo y se cristalizan por la evaporación del solvente, algunas dan reacciones coloreadas con el hidróxido de potasio (KOH), hipoclorito de calcio o sodio (HCL), ácidos nítrico y clorhídrico, cloruro férrico y parafeñil-diamina (PD), reacciones de gran valor taxonómico.

### **La Clasificación de las sustancias liquénicas es como sigue**

- 1) Sustancias de la serie alifática: Son aquellas sustancias ácidas que no dan reacciones coloreadas.
  
- 2) Compuestos de la serie alicíclica (triterpenoides): Son compuestos cíclicos, saturados y neutros; no dan reacciones coloreadas. Los más importantes son: ácido ursólico, presente en varias especies de *Cladonia*, y ácido zeórico, observado en especies de *Lecanora*.
  
- 3) Sustancias de la serie aromática: Entre ellas tenemos:
  - A. Derivados del ácido pulvínico, amarillos, no se colorean con KOH. Por ejemplo, calicina en *Candelariella rosulans* y *C. vitellina*, dos líquenes

comunes y típicos tanto para zonas templadas como para los Andes, donde se encuentran las áreas de estudio.

- B. Derivados de antraquinonas, amarillos, anaranjados o rojos, se colorean de púrpura con KOH. Por ejemplo, parietina en *Xanthomendoza mendozae*, un líquen típico de los Andes peruanos.
- C. Derivados de benzo-furano, con propiedades antibióticas, dan un tono azul-verdoso al contacto con hipoclorito. Por ejemplo, ácido úsnico en el género *Xanthoparmelia* (un género muy común y abundante sobre rocas de altura), estrepsilina en *Cladonia strepsilis*.
- D. Dépsidos y depsidonas, agrupan a la mayoría de las sustancias líquénicas, y presentan una gran especificidad. Son incoloras, pero en muchos casos reaccionan coloreándose, como por ejemplo el ácido lecanórico en el género *Punctelia*, con la especie *Punctelia stictica* siendo una de las especies más frecuentes en los Andes.
- E. Compuestos heterocíclicos nitrogenados, por ejemplo, picrorocelina en *Roccella*.

### **Formación de sustancias líquénicas**

La síntesis de las sustancias líquénicas no está ligada rigurosamente a la simbiosis del líquen, es más, se ha observado que pueden aparecer en cultivos en donde se ha aislado al hongo liquenizado. Sin embargo, su síntesis es favorecida por la presencia del alga. La cantidad de sustancias líquénicas está estrictamente ligada a la especie de líquen, cada especie contiene una o varias sustancias y en proporciones determinadas y con frecuencia estos parámetros son utilizados como criterio para identificar especies y variedades.

### **Funciones de las sustancias líquénicas**

Las funciones de las sustancias líquénicas no están totalmente aclaradas, se sabe que actúan como antiherbivoros, antibióticos o antifúngicos contra bacterias, musgos y otros hongos respectivamente. Del mismo

modo, se conoce que su presencia es favorable para el aumento de la absorción del agua, ya que en muchos casos, estas sustancias aumentan la permeabilidad de las algas para facilitar el intercambio de nutrientes (glucosa). También tienen función protectora contra la alta radiación proveniente de la luz.

Se piensa que ciertas sustancias liquénicas, como el ácido nostictico, juegan un papel importante en la absorción de metales pesados, formando quelatos insolubles que sirven para extraer los metales de la solución a la que sean expuestos y así, del ambiente.

### 1.7. Crecimiento

Los líquenes crecen muy lentamente y en general tienen vidas sumamente largas. En líquenes crustosos saxícolas, como *Buellia aethalea* y *Rhizocarpon geographicum*, también encontradas aquí en este estudio, se estima un crecimiento radial de 1 mm por año <sup>(8, 9)</sup>. Eso significa que un talo de 20 cm de diámetro tiene una edad de más o menos 100 años. Se calculó que un ejemplar de líquen encontrado en el Oeste de Greenland en el Ártico tenía una edad de más de 4500 años <sup>(30)</sup>. Los científicos han utilizado los tamaños de grandes especímenes para estimar cuando tiempo ha transcurrido desde que los glaciares cubrieron el ártico y las áreas montañosas <sup>(31, 40, 55, 155)</sup>, y recientemente se ha propuesto usar los mismos líquenes con el método de liquenometría como bioindicadores de calentamiento global <sup>(7)</sup>. El crecimiento lento también significa que los líquenes expuestos a contaminación pueden acumular partículas resultantes de la misma durante tiempos prolongados.

Durante períodos secos, los líquenes sobreviven reteniendo una pequeña cantidad de agua y reduciendo sus procesos metabólicos y de crecimiento hasta los niveles más bajos de supervivencia. Esta capacidad hace que los líquenes sean organismos poikilohídricos. Luego de una lluvia, el hongo puede absorber agua como una esponja (hasta ocho veces su peso seco). Un ambiente interno húmedo es crítico para el alga, la cual necesita agua, junto con dióxido de carbono y luz solar, para producir un suministro alimenticio a través de la

fotosíntesis. El hongo absorbe compuestos ricos en azúcares y nitrógeno producidos por el alga durante la fotosíntesis.

En términos de usar a los líquenes como bioindicadores, es importante señalar que el proceso de absorción extracelular es pasivo, mientras que la absorción intracelular es activa, esto significa que los talos liquénicos pueden absorber pasivamente a contaminantes como metales pesados incluso durante periodos en los cuales se encuentran inactivos, mientras que la absorción intracelular solo funciona durante periodos activos.

Como ya se mencionó en la parte II (Biología y Fisiología), en algunos casos, el hongo liquenizado adquiere características de parásito, utilizando haustorias para penetrar en la célula alga y absorber los nutrientes. Debido a que el hongo no aniquila al alga, algunos científicos llaman a esta relación, parasitismo controlado del alga por el hongo, o del mismo modo, "hongos que descubrieron la agricultura".

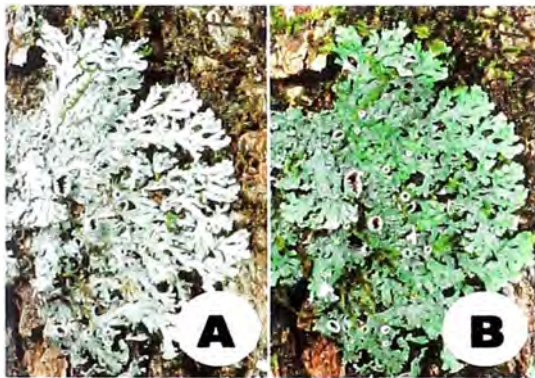


Figura 5: Capacidad poikilohídrica (*Heterodermia* sp), (A) Estado deshidratado, (B) Estado hidratado.

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.

## 1.8. Reproducción

En la reproducción de un líquen, el hongo es quien se reproduce sexualmente y el alga asexualmente, cada uno independientemente de su pareja. En el hongo, las hifas contienen dos diferentes genotipos compatibles ('mating strains'), llamados genotipos menos (-) y más (+) porque no hay diferencias anatómicas entre ellas. Los núcleos de estos dos genotipos se juntan por mecanismos diferentes y forman una pareja en hifas llamadas dicarióticas, en una estructura reproductiva especial y multicelular en la superficie del líquen (por ejemplo, apotecios).

En las células terminales de estas hifas, llamadas ascas en los Ascomycetes, los núcleos se fusionan a un núcleo diploide y este subsecuentemente se divide varias veces por meiosis y produce esporas haploides, las cuales son llevadas por el viento y tienen la posibilidad de germinar y forman una nueva masa de hifas. Estas nuevas hifas de hongo están libres de algas y deben encontrar un alga compatible para sobrevivir. Las células de alga dentro del líquen se reproducen por mitosis, un proceso en el que una sola célula se divide genéticamente en dos células idénticas.

Los líquenes como unidad también pueden efectuar reproducción vegetativa. El líquen desarrolla pequeños abultamientos de soledia (hifas de hongo enredadas con algunas células de alga), las cuales se dispersan hacia nuevos hábitats. Alternativamente, el líquen puede producir pequeñas proyecciones en forma de dedos en la superficie llamados isidios, los cuales se parten y forman nuevos líquenes.

El nivel de contaminación presente en el ambiente afecta a las siguientes generaciones según el modo de reproducción de la especie de manera diferente. Aquellos líquenes que se reproducen vegetativamente por soledios o isidios, en general, ya llevan cierta cantidad de contaminación perteneciente al talo ancestral, porque los soledios e isidios se forman superficialmente y constan de hifas ya contaminadas, mientras que en líquenes que se reproducen por

ascosporas, los talos jóvenes están prácticamente libres de contaminación ancestral porque las ascosporas se forman intracelularmente.

### 1.9. Ecología

Los líquenes pueden ser encontrados desde el nivel más bajo de la costa hasta lo más alto de las montañas y desde el ártico hasta las regiones tropicales. Del mismo modo, pueden colonizar casi cualquier superficie que no se desprenda con facilidad o erosione rápidamente mientras haya suficiente luz para que el alga o cianobacteria contenida haga fotosíntesis y suficiente humedad para que el líquen permanezca metabólicamente activo por períodos significativos durante diferentes periodos de tiempo y de este modo permitir al líquen crecer en tamaño (36, 90, 149)

Sin embargo, aunque no son exigentes con la humedad y la temperatura sí son muy específicos en cuanto al sustrato en el que se desarrollan, en el sentido en que los líquenes que crecen sobre los árboles generalmente no son los mismos que viven sobre las rocas y aún hay diferencias observables entre aquellos que crecen sobre rocas ácidas y aquellos que crecen sobre rocas calcáreas <sup>(149)</sup>.



Figura 6: Líquenes con diferentes sustratos de crecimiento. (A) Piedra (*Ramalina*), (C) Suelo (*Physcia*), (D) Corteza (*Chroodiscus*)

Hay líquenes que prefieren sustratos ricos en nitrógeno y viven en áreas donde la actividad humana o cierta actividad de animales, especialmente la de los de pájaros, es evidente. Sin embargo, la capacidad de absorber y acumular fácilmente diversas sustancias presentes en el ambiente ocasiona que muchos líquenes no toleren la contaminación, especialmente las especies fruticasas y foliosas.

La acumulación de estas sustancias y su poca posibilidad o en algunos casos imposibilidad de excretarlas, retardan el crecimiento de los líquenes, dificultan su reproducción y hasta pueden provocarles la muerte. Una demostración de esto es la habilidad de los líquenes para acumular isótopos radiactivos del ambiente.

Luego del desastre de Chernobyl, los líquenes (principalmente *Cladonia rangiferina*, el "musgo de reno") del norte de Escandinavia acumuló tanta radiactividad que los renos que se alimentaban de ellos eran considerados peligrosos para el consumo humano. También hay que mencionar que, aunque los líquenes son capaces de crecer en prácticamente cualquier ecosistema y sobre cualquier sustrato, esto es el resultado de millones de años de evolución. Por otro lado, la simbiosis líquénica es muy susceptible a los cambios abruptos del ambiente por la alteración y contaminación del mismo.

De esta forma, los líquenes se consideran indicadores naturales o bioindicadores de contaminación atmosférica <sup>(45, 59, 73, 106, 128, 190)</sup>.

### **1.9.1. Distribución y cobertura**

A diferencia de las plantas y los animales, muchas especies de líquenes se encuentran ampliamente distribuidas y se encuentran desde el hemisferio norte hasta el hemisferio sur. La amplia distribución de muchas especies de líquenes también es una ventaja en su uso como bioindicadores, porque los métodos desarrollados para un área fácilmente se aplican para otras áreas donde los mismos líquenes se encuentran presentes.

Para evaluar la distribución mundial de las especies líquénicas, actualmente se cuenta con un listado o un "checklist" (lista de especies agrupadas por unidad geográfica) de líquenes de todo el mundo que compila información de 2018 archivos, los cuales han logrado obtener información de especies, colectores y publicaciones de 193 países. Esta compilación fue realizada por T. Feuerer y se encuentra publicada en Internet desde su última actualización, realizada en Mayo de 2005 <sup>(57)</sup>.



La información que se muestra proviene de 610 publicaciones en donde se listan 18803 especies de líquenes. Sin embargo, estos listados revisados se encuentran incompletos por dos razones: la primera es que el conocimiento general de líquenes y hongos liquenizados en relación a áreas geográficas está incompleto debido a que los trabajos de campo están incompletos; segundo, la revisión de la literatura es incompleta, existen estudios publicados periódicamente que contribuyen al registro de la flora liquénica de localidades visitadas recientemente.

En relación a la distribución, se sabe que los líquenes tienen áreas de distribución más amplias que las plantas vasculares <sup>(2, 58, 88)</sup>. De hecho, si se hace una comparación sencilla se llega a concluir que los reinos geográficos de las plantas <sup>(166)</sup> corresponden a regiones de líquenes <sup>(107)</sup>.

Existen dos hipótesis para explicar la amplia distribución de líquenes a nivel de especies:

- (1) dispersión reciente a larga distancia.
- (2) origen antiguo y separación por movimiento de placas (vicarianza).

Para este último hay que asumir que hay líquenes cuya edad se calcula en millones de años. Eso por ejemplo se ha demostrado por *Xanthomendoza mendozae* <sup>(91)</sup>, un líquen muy típico de las regiones altoandinas y que también fue encontrado en abundancia en el presente estudio. Este aspecto es interesante considerando que existen especies de líquenes que han evolucionado durante millones de años y se han adaptado a un hábitat particular, como las rocas expuestas de las altas montañas. Sin embargo, las actividades humanas son las que perturban continuamente este mismo hábitat con la contaminación que producen y han causado la extinción de miles de especies dentro de un periodo de aproximadamente 150 años de industrialización.



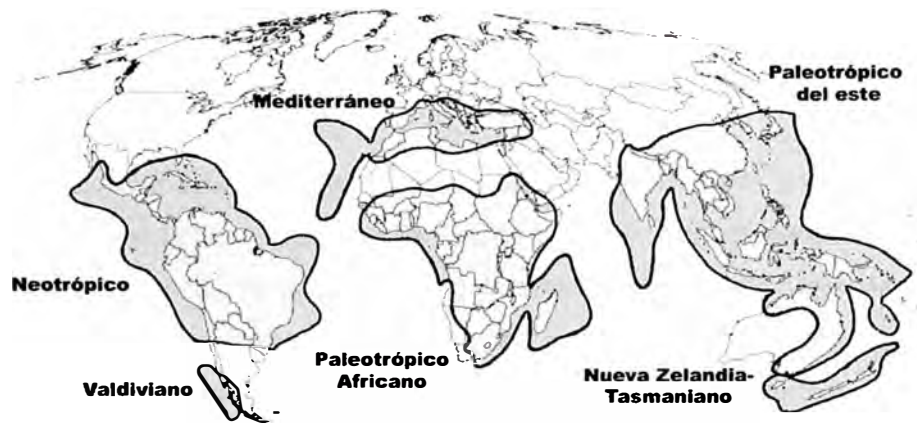


Figura 7: Comparación de cobertura de plantas vasculares vs. cobertura de líquenes. El porcentaje de especies de líquenes conocidas en relación al número de especies estimadas por país. (Se estima que Perú tiene 1800-2000 especies)

### Grado de avance en investigación de campo



Figura 8: Grado de avance en la revisión de publicaciones nuevas y relevantes. Los países son clasificados en tres grupos de acuerdo al número de especies que han sido evaluadas en relación al número de especies estimadas.

### 1.10. Importancia y usos

Además de servir como bioindicadores, los líquenes son sumamente importantes en los diferentes ecosistemas en los que se desarrollan. Aquellos que se desarrollan sobre rocas son los pioneros en la formación de suelos, los líquenes epífitos, aquellos que crecen sobre hojas, son primordiales por su participación en el ciclo del agua y de ciertos nutrientes, aquellos líquenes que tienen una cianobacteria como fotobionte son trascendentales en la fijación de nitrógeno,

del mismo modo, participan en la cadena alimenticia de una gran cantidad de mamíferos.

Como se ha mencionado anteriormente, los líquenes son usados como indicadores vivos de problemas ambientales por su alta sensibilidad a la contaminación atmosférica. A pesar de su tolerancia a condiciones severas, muchos líquenes son dañados por sustancias químicas halladas en el aire contaminado y por la lluvia ácida producida por la producción de hidrocarburos y otros procesos industriales.

Las comparaciones entre el daño de los líquenes en áreas industrializadas y no industrializadas proveen un índice de contaminación del aire. Los estudios que se vienen realizando en los últimos 50 años han encontrado que la variedad y el número de líquenes han decaído en muchas ciudades industrializadas tanto en Europa como en Norte América. Afortunadamente, los estudios han mostrado que cuando la fuente de contaminación desaparece, los líquenes pueden volver, lo cual es esperanzador en relación a su supervivencia a largo plazo <sup>(36, 128)</sup>.

En medicina, los líquenes también tienen una gran importancia y han sido utilizados como cura para muchas dolencias, desde dolores ligeros de cabeza hasta diabetes o asma. El liquen *Lobaria pulmonaria* era usado para combatir enfermedades pulmonares mientras que el liquen *Peltigera sp* se utilizaba en la cura para la rabia. El liquen *Cetraria islandica* aún se procesa en mixturas para la tos. Las especies de líquenes como *Evernia prunastri* y *Pseudevernia furfuracea* son usadas en perfumes.

El descubrimiento en los años 40 de que algunos hongos producen potentes antibióticos estimuló una búsqueda extensiva de hongos y líquenes. Desde ahí, los extractos de líquenes han encontrado un uso en Europa, desde que los antibióticos han sido utilizados para tratar tuberculosis y algunas enfermedades de la piel. El ácido úsnico proveniente de los líquenes del género *Usnea* y algunos otros líquenes es un antibiótico potente <sup>(36, 181)</sup>.

Pese a que los humanos raramente consideran a los líquenes dentro de su dieta diaria, existen casos en los cuales no habiendo comida disponible, se recurrió a ellos. La Biblia describe un excelente ejemplo en el cual antiguos israelíes consumieron maná en el desierto, el cual, al parecer, era el liquen *Lecanora esculenta* que por su ligereza era fácilmente transportado por el viento y aparentemente dio la apariencia de caer del cielo. En Japón, *Umbilicaria esculenta* se utiliza como un ingrediente delicado de los banquetes más finos de la culinaria japonesa.

Los líquenes también son usados como color o esencia, muchos líquenes tienen pigmentos de coloración roja, marrón, rosa o azul, y estos pigmentos han sido usados como tinte de ropa desde los tiempos de la antigua Grecia. Los nativos americanos usaron extractos de líquenes para teñir ropa y vasijas. En nuestros Andes, los líquenes de vivos colores se utilizan para teñir la lana de las ovejas y producir textiles de uso común, al igual que en algunas islas de Escocia, donde los líquenes se utilizan para teñir lana.

## **1.11. Líquenes de Perú**

### **1.11.1. Listado (Checklist)**

Un aspecto indispensable de un estudio como el presente es el conocimiento taxonómico de los organismos en cuestión. Para el caso de Perú, el listado realizado por Tassilo Feuerer <sup>(57)</sup> contiene 231 especies de líquenes basados en material de 26 colectores, 10 de 59 publicaciones relevantes han sido revisadas (de aproximadamente 75 existentes). A esto se puede agregar aproximadamente 200 especies de líquenes folícolas identificados por Lücking y cuya publicación está en proceso. Igualmente, existen muchas especies adicionales mencionadas en la base de datos LICHCOL de Harrie Sipman <sup>(23)</sup>. Sin embargo, la mayoría de estas publicaciones son de carácter taxonómico con reportes ocasionales y no contienen claves ni descripciones para los taxones. Además de cuatro publicaciones modernas sobre los géneros *Eriodermia*, *Heterodermia*, *Phycia* y *Ramalina* <sup>(89, 92, 93, 116)</sup>, existen varias listas parciales de carácter histórico <sup>(51, 79, 104, 112, 113, 161)</sup>. Estas últimas son de valor muy limitado ya que no se encuentran

acorde con los conceptos taxonómicos modernos y tampoco incluyen modos de identificación.

En los reportes provenientes de países vecinos como Ecuador, Colombia, Brasil, Bolivia y Chile, es posible constatar que existe una gran diversidad de especies, de las cuales es muy probable que muchas se encuentren también en nuestro país, ya que el Perú comparte algunos de sus ecosistemas con los países vecinos, y los líquenes, como se ha mencionado anteriormente, tienen una distribución amplia. El problema es que debido a la carencia de especialistas y registros adecuados de las identificaciones que se realizan, se cuenta con información limitada en relación a este tema. Esto hasta ahora ha limitado en gran medida el uso de líquenes como bioindicadores en el Perú; tanto de contaminación por gases, especialmente en el área de Lima metropolitana, como por metales pesados en la región andina.

Es importante constatar que la base más importante para el uso de los líquenes como bioindicadores es el conocimiento de su taxonomía, ecología, y distribución, por lo tanto estudios que no toman esos conceptos en cuenta, no tienen un valor científico. Efectivamente, salvo ciertos estudios sobre la abundancia y diversidad de líquenes en Lima (los cuales no han sido publicados), hasta la fecha no existe ningún estudio en Perú que muestre el uso de líquenes como bioindicadores, perdiéndose un gran potencial de aplicaciones.

Con respecto a los líquenes de las zonas altoandinas de Perú existe aún menos información, afortunadamente, muchas especies están distribuidas ampliamente en los Andes de Sudamérica y también ocurren en zonas menos elevadas del hemisferio norte, de modo que se pueden utilizar otras publicaciones como referencia para su identificación <sup>(36, 108, 158)</sup>. Entre los líquenes característicos y dominantes sobre rocas y suelo en las zonas altoandinas se encuentran los géneros *Acarospora*, *Anzia*, *Aspicilia*, *Buellia*, *Caloplaca*, *Candelaria*, *Candelariella*, *Cladia*, *Cladina*, *Cladonia*, *Dibaeis*, *Dictyonema*, *Diploschistes*, *Icmadophila*, *Lecanora*, *Lecidea*, *Leprocaulon*, *Peltigera*, *Phaeophyscia*, *Phyllobaeis*, *Placomaronea*, *Porpidia*, *Punctelia*, *Rhizocarpon*, *Siphula*,

*Stereocaulon*, *Thamnolia*, *Umbilicaria*, *Xanthomendoza*, *Xanthoparmelia*, y *Xanthoria* entre otros, y muchas especies dentro de estos géneros ya han sido citadas como posibles bioindicadores de contaminación por metales pesados en trabajos de otras áreas. Basándose en extrapolaciones de datos de otros países, como Costa Rica y Ecuador, se estima un número total aproximado de 2500-3000 especies de líquenes para nuestro país.

El listado con las especies mencionadas correspondientes al Perú se encuentra detallado en el Anexo I.

### **1.11.2. Colectores y muestras**

Nuestro país ha sido visitado en diversas oportunidades por investigadores de todo el mundo, quienes al encontrar gran diversidad de líquenes presentes, tomaron ejemplares que luego fueron llevados a otras instituciones para ser identificados, descritos y estudiados. Dentro de los colectores es posible mencionar a Feuerer, quien concentró sus esfuerzos en el Cuzco e Iquitos, así como Kashiwadani y Santesson, quienes visitaron también varias provincias del Cuzco. Entre los colectores peruanos cabe mencionar a la Dra. Magdalena Pavlich, quien se especializó en líquenes de zonas tropicales.

Actualmente, el herbario de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos cuenta con una gran cantidad de muestras de líquenes, sin embargo, existen muestras patrón o tipo (las primeras muestras colectadas de una determinada especie) depositadas en instituciones extranjeras dedicadas a la investigación de países como Alemania, Estados Unidos, Finlandia, Tokio, Suecia, entre otros. El problema principal de la ausencia de buenas colecciones de referencia en Perú, es que, para una investigación en la que se utilizan líquenes como bioindicadores de contaminación, hay que empezar con detalles básicos, acumulando una adecuada colección de líquenes de referencia debidamente identificados y depositados en un herbario del país que se encuentre accesible para futuros estudiantes del tema.

La lista de los colectores y los detalles de las muestras se encuentran en el Anexo II.

### **1.11.3. Autores y publicaciones**

Existe una gran cantidad de artículos en los cuales se cita información relativa a líquenes del Perú, entre los autores de ellos cabe mencionar por un lado a Erik Acharius (padre de la liquenología), quien publicó en 1810 el tratado *Lichenographia Universalis*, donde describía las especies que había recolectado y aquellas que le habían sido enviadas para su identificación, por otro lado, a Müller Argoviensis (Suiza), uno de los más importantes liquenólogos de la historia y al igual que William Nylander, quien fue el pionero en usar reactivos químicos en la taxonomía de los líquenes.

En el Perú, se puede mencionar a Ricardo Castañeda, quien hizo una de las primeras listas para la provincia de Trujillo en 1969

Igualmente figuran Thomas Nash, especialista en ejemplares del género *Xanthoparmelia*, Tassilo Feuerer, quien efectuó estudios de sistemática de líquenes; Mason Hale, un gran representante de las investigaciones relativas a líquenes a nivel mundial, quien efectuó varias monografías relacionadas a diferentes géneros de líquenes, Thorsten Lumbsch, especialista en el género *Diploschistes* de la familia *Thelotre mataceae*, Rolf Santesson, quien a su avanzada edad se mantiene activo en la investigación y Harry Sipman, quien continúa sus esfuerzos en proyectos relacionados a líquenes que se desarrollan en América Latina.

Para el presente trabajo, la autora logró establecer contacto con varios de estos especialistas, entre ellos, T. Feuerer (Institut fuer Allgemeine Botanik), T. Lumbsch y R. Lücking (Field Museum de Chicago), T. Nash (Arizona State University) y H. Sipman (Botanischer Garten und Botanisches Museum Berlin-Dahlem), para la identificación de los líquenes y también para la discusión de los resultados en términos de bioindicación.

La lista completa de los autores que citan ejemplares en sus publicaciones se encuentra en el Anexo III.

## II. BIOMONITOREO CON LÍQUENES

### 2.1. Uso de bioindicadores

El uso de bioindicadores para monitorear el efecto de la contaminación ambiental tiene gran tradición en los países de Norteamérica y Europa, donde se han desarrollado metodologías estándar para varios de los problemas existentes, en particular relacionadas a la contaminación del aire <sup>(22, 95, 147)</sup>.

Se puede definir un organismo bioindicador, en su sentido amplio, como aquel organismo vivo cuyas funciones vitales están directamente relacionadas con las condiciones medio ambientales, tanto naturales como aquellas influenciadas por la presencia humana, de manera que pueden ser utilizados para señalar la presencia o ausencia de factores que intervienen en la calidad ambiental <sup>(77)</sup>. Otros autores <sup>(78, 80)</sup> utilizan el término en un sentido más restringido, para referirse a aquellos organismos cuya presencia indica la existencia de contaminantes de origen industrial o de cualquier actividad humana, pudiendo éstos reemplazar el uso de equipos o instrumentos técnicos. Hawksworth (1992) ha aportado definiciones precisas de los términos que han sido utilizados frecuentemente de forma confusa en gran cantidad de literatura.

Para el presente trabajo se consideró la definición en sentido restringido, ya que los líquenes fueron utilizados para evaluar la presencia de metales pesados en el ambiente como resultado de la actividad minera.

Entre los bioindicadores usados destacan los líquenes. Como ya se ha mencionado, la simbiosis líquénica es muy sensible a cambios abruptos del ambiente, siendo esa la razón porque la que los líquenes son muy apropiados como bioindicadores de contaminaciones ambientales u otros tipos de perturbación, como la tala de bosques tropicales <sup>(59)</sup>.

En el siglo XIX, los líquenes fueron reconocidos por primera vez como posibles bioindicadores por Nylander (1866), pero no fue hasta 1960 en que al ser identificado el dióxido de azufre como el factor principal que influencia el



crecimiento, distribución y salud de los líquenes, cuando ocurrió un crecimiento exponencial de los estudios que utilizaban los líquenes como bioindicadores, teniéndose hoy en día más de 2000 trabajos publicados sobre este tema, incluyendo varios libros y una literatura periódica acerca de líquenes publicada en "The Lichenologist" (1974 – 2006).

Actualmente se conoce que, además del dióxido de azufre, una amplia gama de otros compuestos (amoníaco, fluoruros, polvo alcalino, metales y metales radioactivos, hidrocarburos clorados), así como la eutroficación y la lluvia ácida, pueden ser detectados y monitorizados utilizando líquenes. En muchos países Europeos y en Estados Unidos se utilizan líquenes para monitorear los efectos causados por la contaminación gaseosa y por metales. Hoy en día se les reconoce como bioindicadores de ciertos contaminantes y daños producidos al medio ambiente en la zona templada.

Entre los numerosos estudios realizados en los países industrializados del hemisferio norte, usando líquenes como bioindicadores se mencionan los realizados por Siegel & Siegel 1976; Lawrey & Rudolph 1975; Seaward *et al* 1978; Beckett *et al* 1982; Bargagli *et al* 1987; Puckett 1988; Mhatre 1991; Hansen 1991; Pilegaard 1994; Tarazona Lafarga *et al* 1994; Seaward 1995; Minger & Krähenbühl 1997; Pankhurst *et al* 1997; Markert *et al* 1999; Loppi *et al* 2000; Garty 2001, 2002; Tsikritzis *et al* 2002; Cuny *et al* 2004, sin embargo, existen muy pocos en los países de Latinoamérica, África y Asia <sup>(42, 131)</sup>.

## **2.2. Líquenes como bioindicadores**

Los estudios señalan tres elementos principales del biomonitorio con líquenes: (1) la identificación de ciertas especies cuya ausencia o presencia en sitios contaminados comparado con los sitios de control sirven como bioindicadores principales de contaminación; (2) la correlación de ciertos daños en los talos liquénicos con niveles crecientes de concentraciones de contaminantes; (3) la acumulación de contaminantes en los talos liquénicos y su papel como extractores "limpiadores" de contaminantes del medio ambiente.

Esto último se debe al hecho de que ciertos hongos, incluso los hongos liquenizados, son capaces de acumular ciertas cantidades de contaminantes en las paredes exteriores de las hifas, donde se mantienen prácticamente insolubles. También se han usado transplantes de líquenes como monitoreo activo <sup>(39, 42, 162)</sup>. Algunos estudios han desarrollado modelos usando líquenes como bioindicadores para evaluar el impacto de metales pesados en función de la distancia al origen de la contaminación <sup>(41)</sup>.

Ventajas del uso de líquenes como bioindicadores:

Los líquenes tienen una amplia distribución geográfica.

La morfología de los líquenes no muestran 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.

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.

### 2.3. Aplicaciones prácticas

De hecho, es posible utilizar líquenes para evaluar los siguientes eventos según Stork y Samways (1995):

#### Contaminantes medio ambientales

- Lluvia ácida
- Eutrofización por amonio
- Hidrocarburos clorados
- Contaminación por metales pesados
- Derrames de hidrocarburos
- Contaminación aérea por dióxido de azufre
- Radionúclidos

#### Cambios climáticos

- Radiación UV
- Niveles en el agua

#### Continuidad ecológica

- Bosques de coníferas
- Fuego
- Estabilidad de superficies

A continuación se detallan los principales contaminantes a los que se encuentran expuestos los líquenes:

***Dióxido de azufre y lluvia ácida.*** El dióxido de azufre es uno de los mayores componentes de la contaminación de aire en áreas urbanas e industriales. Un cambio en una unidad de pH es suficiente para romper los ciclos biológicos y reproductivos de los líquenes. Desde un punto de vista macro, se puede ver que esto no solo altera la existencia de líquenes sino también se alteran los siguientes niveles de la cadena trófica, los peces pierden su alimento y consecuentemente las aves y

mamíferos que se alimentan de los peces, con la posibilidad de provocar daños irreversibles en el ecosistema.

Se ha medido el grado de acidez del agua de lluvia en zonas donde existía una elevada concentración de ciertos contaminantes y se ha visto que el pH es mucho más bajo de lo normal, de hecho algunas lluvias llegan a tener un pH en el rango de 4,2 – 4,3, lo que indica un grado de acidez muy alto, esto es lo que conocemos con el nombre de "lluvia ácida", denominación con la que se designa cualquier agua de lluvia de pH = 5,5 inferior al natural.

En zonas afectadas por la lluvia ácida con alto contenido de metales pesados, existe la posibilidad, de que dichos metales sean absorbidos por plantas, líquenes y algas de ecosistemas terrestres o acuáticos y afecten a organismos superiores (peces, aves, mamíferos, etc.), incluyendo el hombre, después de consumir y acumular cantidades considerables, nuevamente por alteraciones de la cadena trófica.

Los procesos industriales que más contribuyen a la presencia de  $\text{SO}_x$  en la atmósfera son la calcinación de los minerales de sulfuro, la refinación del petróleo, la producción de óxido sulfúrico, y la de cocción utilizando el carbón.

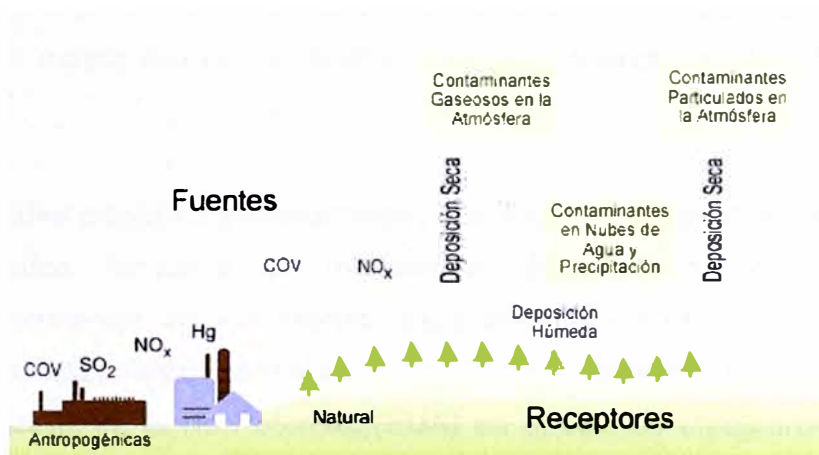


Figura 9: Actividad del  $\text{SO}_2$  en el ambiente (Fuentes y receptores).

**Ozono y compuestos de nitrógeno.** El ozono (O<sub>3</sub>) se ha convertido en un contaminante importante desde que el uso de vehículos de motor se ha vuelto común. Al contrario del ozono natural de la estratósfera, el cual nos protege de la radiación solar peligrosa, el ozono contaminante se forma por la interacción entre el óxido de nitrógeno y varios hidrocarburos provenientes de vehículos motorizados; la reacción es inmediata por la presencia de la luz solar. El ozono es un oxidante agresivo que fácilmente reacciona con moléculas orgánicas. Debido a la doble unión de los ácidos grasos de la membrana celular en las plantas, esta es la más propensa a ser atacada, siendo los cloroplastos los menos afectados (100)

Puede demostrarse el daño que ocasiona el ozono en líquenes en condiciones de laboratorio, pero es difícil demostrarlo en los hábitats naturales, en parte porque el ozono generalmente se forma bajo condiciones secas expuestas a sol radiante, lo cual coincide con la inactividad metabólica de los líquenes, y por lo tanto no los afecta. Los estudios de laboratorio con transplantes dejados en áreas contaminadas durante el verano e invierno revelaron que los niveles de clorofila y fotosíntesis declinaron solo en el verano.

Esto, junto con observaciones relativas a niveles de elementos traza, sugiere que la liberación de estos elementos en condiciones de sequedad es el mayor camino de acumulación en líquenes en las regiones áridas (32, 33)

**Metales pesados y radiactivos.** Los líquenes también absorben metales pesados mediante un mecanismo de absorción que les permite almacenarlos en sus tejidos. La presencia de los metales puede ser estudiada mediante métodos químicos específicos (140). Un estudio realizado en el río Potomac (EUA) en el cual se efectuaron mediciones distribuidas durante un largo período de tiempo, demostró que, a partir de la construcción de la autopista, el nivel de plomo en *Xanthoparmelia baltimoriensis* subió en respuesta al aumento del tráfico, pero luego,

cuando se reguló legalmente el uso del combustible sin plomo <sup>(103)</sup>, este nivel disminuyó al nivel registrado en 1930.

Nayangababo (1987) comparó los niveles de cinco metales en líquenes sobre árboles urbanos y rurales en el interior y en los alrededores de Kampala (Uganda) y verificó que existían diferencias en los niveles de acumulación de dichos elementos. Gordon *et al* analizó la deposición de metales en *Hypotrachyna endochlora* (citado como *Parmelia madagascariana*) y en especímenes trasplantados en bosques nublados argentinos, y encontraron niveles elevados de plomo en el material trasplantado comparado con las muestras *in situ*.

El mismo tipo de acumulación ocurre con metales radiactivos, como se demostró por el desastre de Chernobyl en 1986 <sup>(151)</sup>. Asimismo, Wu *et al* (1988) realizaron un inventario preliminar acerca de la acumulación de isótopos en 22 líquenes de diferentes partes de China. A pesar de que los líquenes se limitan a absorber los metales disueltos en el agua que reciben, si son tóxicos, los líquenes pueden verse afectados. Cuando esto ocurre los líquenes pueden ser bioindicadores de la presencia del tóxico en el ambiente.

Así, los líquenes pueden resultar eliminados de los tejados al recibir continuamente el goteo con alta concentración de cobre proveniente de líneas de alta tensión <sup>(34)</sup>. El plomo resulta aparentemente menos tóxico que el cobre o el hierro, aunque tiene un efecto negativo sobre algunas especies <sup>(65)</sup>. En contraste, los mismos autores señalan que el hierro resulta un sustrato favorable para el crecimiento de algunas especies particulares de líquenes <sup>(34)</sup>. Mientras que los análisis de metales pesados requieren el uso de equipo instrumental especializado, las muestras de líquenes para estudiar patrones de sustitución o de colonización pueden ser observadas y catalogadas rápidamente sobre grandes áreas.

Heinrich y Remele (2002) describen los métodos utilizados para la monitorización de la acumulación de metales radiactivos por líquenes.

Garty (2002) hace otro tanto con los métodos utilizados para el seguimiento de la contaminación causada por metales pesados, y Batic (2002) con la bioindicación de la alteración por dióxido de azufre. Quilhot *et al* (1998) demostraron que los líquenes han desarrollado estrategias a nivel químico, a fin de minimizar los daños inducidos por el aumento de las radiaciones UV como consecuencia de la disminución de la capa de ozono de los últimos años, desarrollando una serie de compuestos fotoprotectores, los cuales podrían ser utilizados para estimar las cantidades de radiación UV.

Como ya se ha mencionado, un aspecto indispensable para usar líquenes como bioindicadores es su conocimiento taxonómico <sup>(152, 153)</sup>. El hecho de que la biota líquénica cambia significativamente desde los polos hacia los trópicos, permite usar los conceptos de bioindicación en su generalidad, siempre y cuando se considere que las comunidades líquénicas en un lugar dado van a ser específicas para este lugar. En el Perú, existen pocos estudios sobre la biota líquénica nativa pese a que se han colectado y extraído del país muchos líquenes. Por lo tanto, el trabajo taxonómico es un fuerte elemento del presente estudio, para lograr la debida identificación de las especies que potencialmente podrían servir como bioindicadores de contaminación con metales pesados en el Perú.

### III. ACTIVIDAD MINERA EN EL ÁREA DE ESTUDIO

#### 3.1. Antecedentes

La minería peruana es la actividad económica más importante en la balanza comercial nacional con alrededor del 50% de las exportaciones del país. Abarca la extracción de cobre, oro, hierro, plata, zinc y plomo, entre otros, metales que son de gran demanda para procesos industriales de alto nivel tecnológico, principalmente en los países de Norteamérica y Europa.

Desafortunadamente, los métodos que las mineras utilizan traen consigo problemas que afectan el ambiente y la salud humana, no solamente en la cercanía de las propias áreas mineras, sino también en las áreas de alcance de los efluentes de agua, las cuales podrían abarcar grandes distancias <sup>(117)</sup>. Estos problemas incluyen: (1) el deslizamiento de grandes volúmenes de relaves y su disposición en los ríos; (2) el uso de grandes volúmenes de agua en regiones caracterizadas por su aridez o estacionalidad marcada y en donde el uso de agua compite fuertemente con usos agrícolas; (3) los efluentes ácidos resultados de las actividades mineras y con ellos los elevados niveles de metales pesados liberados al ambiente y al agua usada por las poblaciones humanas <sup>(16)</sup>.

En el Perú, el sector minero aparece como el sector industrial más contaminante de aguas superficiales y subterráneas, especialmente con cargas contaminantes de metales pesados (cobre, zinc, plomo, cadmio, plata, arsénico, manganeso y otros). Se ha estimado que las actividades mineras y metalúrgicas al año descargan más de 13 billones de metros cúbicos de efluentes en los cuerpos de agua del país <sup>(17)</sup>, incluyendo áreas naturales protegidas como el Lago Junín en la cuenca del Río Mantaro y el Lago Titicaca. Del mismo modo, volúmenes importantes de efluentes con contenidos de metales pesados y otros contaminantes son vertidos directamente al mar.

Los problemas de salud causados por los metales pesados y otros contaminantes relacionados a la actividad minera son variados e incluyen una serie de problemas de diversos tipos. Por tal razón, en los países del hemisferio



norte, tales actividades desde hace muchos años son estrictamente controladas para evitar que afecten la salud de las poblaciones humanas influenciadas por los áreas mineras u otras fuentes de contaminación <sup>(1)</sup>. En el Perú, como en muchos otros países en los cuales la minería juega un papel importante en la economía, se reconocen estos problemas. Los principales contaminantes identificados son plomo, arsénico, dióxido de azufre, cadmio y mercurio (especialmente por los datos históricos relacionados con la extracción de oro).

Las concentraciones de plomo en el aire monitoreadas por la Dirección General de Salud Ambiental <sup>(50)</sup> muestran que estas exceden las normas EPA y OMS. Sin embargo, en la práctica se toma muy pocas medidas para proteger el medio ambiente y las poblaciones humanas, principalmente por falta de estudios particulares para cada zona minera. Los impactos ambientales y sociales del transvase del agua de lagunas alto andinas y el vaciado total de las mismas han sido muy poco estudiados. Una manera de prevenir datos para evaluar el impacto ambiental de actividades mineras es el uso de bioindicadores, es decir, organismos biológicos que por su presencia o ausencia o su estado vital indican tanto el nivel de contaminación como sus efectos al medioambiente <sup>(29, 109)</sup>.

Comparado con la alternativa de estudios que usan aparatos técnicos para medir niveles de contaminación, los bioindicadores tienen tres ventajas significativas:

- (1) los costos de estudio usando bioindicadores son significativamente más bajos, aunque al mismo tiempo pueden abarcar áreas y períodos de monitoreo más extensivo;
- (2) los bioindicadores no solamente indican el estado actual del ambiente, sino también su historia reciente, siendo su presencia o ausencia el resultado de una sucesión biótica la cual a través del tiempo ha sido afectada por contaminantes; por lo tanto, los bioindicadores pueden revelar problemas donde medidas puntuales actuales fallarían;
- (3) en muchos casos, los efectos de contaminantes sobre bioindicadores están altamente correlacionados con los efectos sobre la salud humana.

Gran cantidad de referencias científicas muestran que los líquenes pueden ser utilizados como bioindicadores de presencia de diferentes tipos de



Las poblaciones de esta región tienen una larga experiencia de coexistencia con la minería y, sin lugar a dudas, es una de las zonas ambientalmente críticas en el país.

De la misma manera, la región central ha sido el escenario de los más importantes cambios acontecidos en la minería peruana y de las tendencias imperantes en esta actividad. Desde inicios del siglo pasado, la actividad minera en la sierra central se desarrolló bajo el control principal de una empresa privada transnacional, como fue el caso de la Cerro de Pasco Corporation, que logró agrupar e integrar a un conjunto de minas, concentradoras, fundiciones y refinерías en la región.

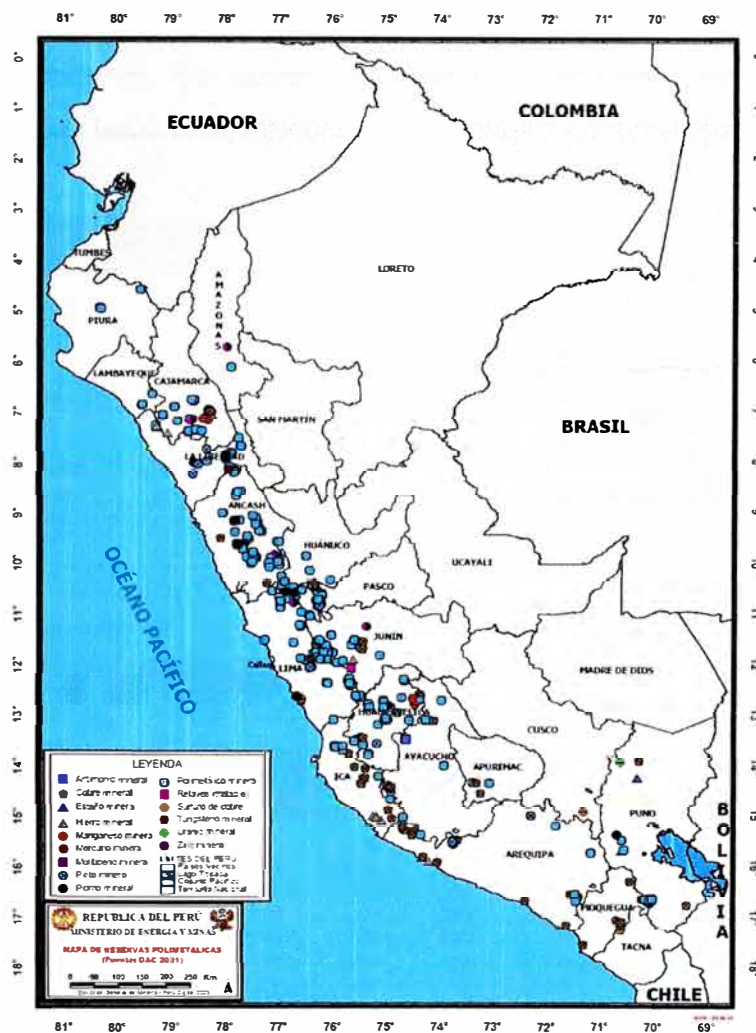


Figura 11: Reservas mineras de producción polimetálica en Perú. Fuente: Ministerio de Energía y Minas.

Posteriormente, esta empresa fue nacionalizada, convirtiéndose en la empresa pública minera más importante del país entre 1973 e inicios de la década de los noventa. Hoy en día, producido el proceso de privatización, las principales minas y operaciones metalúrgicas de la región se encuentran nuevamente bajo el control de empresas privadas, siendo los principales propietarios, la empresa Doe Run (EUA), propietaria del complejo metalúrgico de La Oroya y la empresa minera Volcan, propietaria de minas y concentradoras en las provincia de Yauli y Cerro de Pasco. Por su parte, la intensa actividad de exploración desarrollada en la zona durante los últimos años también ha tenido como principales actores a empresas privadas.

Pese a que a lo largo de toda la costa y sierra peruanas existen reservas minerales de: Cobre, Oro, Zinc, Plata, Plomo, cadmio, Hierro, Estaño y Molibdeno, los andes centrales concentran reservas polimetálicas entre las cuales las que se encuentran en mayor cantidad son: Plomo, Zinc y Plata.

Región	Feb-06		Acum. Ene. - Feb. 06	
	KG.I.	%	KG.I.	%
Pasco	81.588	24.21	138.747	25.31
Umsu	57.557	22.67	109.742	21.34
Ancash	32.705	12.82	54.777	12.48
Jauja	28.252	11.20	93.604	18.42
Arequipa	7.340	2.82	17.039	3.20
Apurímac	70.564	2.75	21.944	4.27
Cajamarca	8.214	3.25	20.079	3.90
Huancavelica	12.815	5.05	19.754	3.75
La Libertad	7.774	3.02	15.470	3.00
Moruega	6.213	2.44	13.479	2.62
Huancayo	4.583	1.80	9.544	1.85
Tarma	4.753	1.83	9.252	1.81
Puno	3.097	1.22	5.415	1.05
Cusco	1.701	0.67	3.722	0.72
Ayacucho	804	0.32	1.377	0.27
<b>Total</b>	<b>254.386</b>	<b>100.00</b>	<b>514.415</b>	<b>100.00</b>

Figura 12: Producción de Plata por regiones (Concentración e hidrometalurgia). Fuente: Ministerio de Energía y Minas (2006).

Región	Feb-06		Acum. Ene. - Feb. 06	
	T.M.F.	%	T.M.F.	%
Pasco	11,673	50.45	25,432	54.00
Umsu	5,152	22.43	6,650	20.49
Ancash	1,863	7.23	3,232	6.39
Jauja	7,214	27.75	1,205	6.31
Huancayo	7,159	30.28	2,402	5.10
Huancavelica	809	3.65	1,232	2.72
Ayacucho	515	2.33	878	1.86
La Libertad	240	1.04	508	1.06
Puno	113	0.50	206	0.41
Arequipa	97	0.43	106	0.23
<b>Total</b>	<b>23.018</b>	<b>100.00</b>	<b>47.096</b>	<b>100.00</b>

Figura 13: Producción de Plomo por regiones (Concentración e hidrometalurgia). Fuente: Ministerio de Energía y Minas (2006).

Región	Feb-06		Acum. Ene. - Feb. 06	
	TMF	%	TMF	%
Pasco	29,814	31,78	65,250	36,17
Utau	22,541	23,89	41,657	26,61
Ancash	25,655	26,83	54,136	30,05
Jirón	12,773	13,29	23,456	13,07
Huancayo	1,610	1,72	3,295	1,82
La Libertad	833	0,86	1,706	0,97
Ayacucho	945	1,00	1,720	0,96
Huancavelica	774	0,75	1,459	0,81
Puno	270	0,28	474	0,26
Arequipa	70	0,07	133	0,07
<b>Total</b>	<b>95.626</b>	<b>100,00</b>	<b>179.457</b>	<b>100,00</b>

Figura 14: Producción de Zinc por regiones (Concentración e hidrometalurgia). Fuente: Ministerio de Energía y Minas (2006).

Tabla 1: Producción minera y principales productos obtenidos en el año 2005. Fuente: Ministerio de Energía y Minas (2005).

#### PRODUCCIÓN MINERA, POR PRINCIPALES PRODUCTOS, 2005

PRODUCTO / TIPO	TOTAL 2005
	<b>COBRE (TMF)</b>
CONCENTRACIÓN E HIDROMETALURGIA	1,009,898
FUNDICIÓN	321,968
REFINACIÓN	344,862
	<b>ORO (Grs.f.)</b>
CONCENTRACIÓN E HIDROMETALURGIA	207,822,144
REFINACIÓN	2,535,699
	<b>ZINC (TMF)</b>
CONCENTRACIÓN	1,201,671
REFINACIÓN	163,603
	<b>PLATA (Kg.f.)</b>
CONCENTRACIÓN E HIDROMETALURGIA	3,193,146
REFINACIÓN	1,222,582
	<b>PLOMO (TMF)</b>
CONCENTRACIÓN	319,345
REFINACIÓN	122,079
	<b>CADMIO (TMF)</b>
REFINACIÓN	481
	<b>HIERRO (TLF)</b>
CONCENTRACIÓN / PELLETIZACIÓN	4,564,989
	<b>ESTAÑO (TMF)</b>
CONCENTRACIÓN	42,145
FUNDICIÓN / REFINACIÓN	36,733
	<b>MOLIBDENO (TMF)</b>
CONCENTRACIÓN	17,325

Cifras Preliminares

FUENTE: DIRECCIÓN GENERAL DE MINERÍA - PDM - Estadística Minera



En la Región Junín, una de las principales empresas que tienen actividad minera es Volcan Compañía Minera, la cual se dedica a la extracción de Plata, Plomo y Zinc, y actualmente se encuentra efectuando estudios en la zona ya que existen indicios de presencia de Níquel y Cobalto.

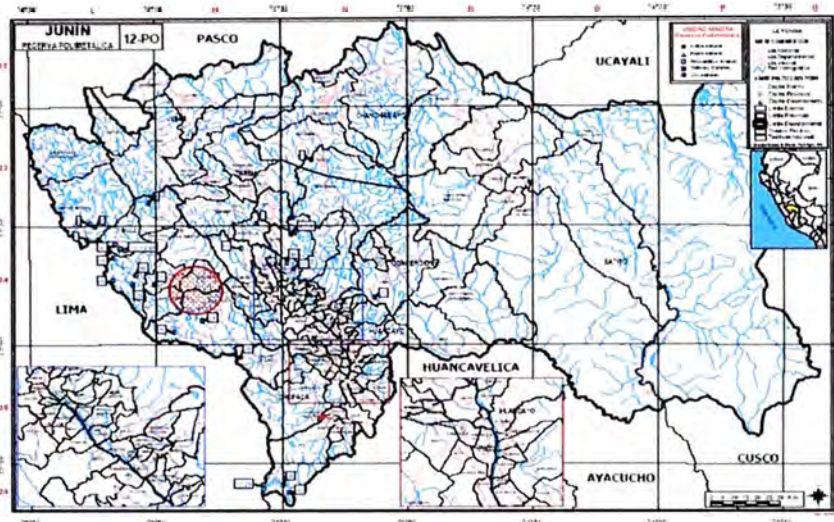


Figura 15: Mapa de reserva minera polimetálica en la Región Junín, el punto marcado en un círculo rojo es la Unidad minera Andaychagua

### 3.3. Programas ambientales

Con la reciente inauguración y puesta en marcha de una planta de neutralización, Volcan Compañía Minera concluyó con todos los proyectos que forman parte del Programa de Adecuación y Manejo Ambiental – PAMA de su Unidad Minera Cerro de Pasco. Desde que adquirió Empresa Minera Paragsha, propiedad de Centromin Perú S. A. en septiembre de 1999, Volcan ha dedicado su máximo esfuerzo en controlar y mitigar la contaminación ambiental, mejorando la calidad ambiental en beneficio de la población ubicada en el entorno de las operaciones.

Volcan ha ejecutado los proyectos del PAMA y, adicionalmente, ha implementado el sistema de gestión ambiental y certificada bajo la norma internacional ISO 14001, para mejorar el manejo ambiental de la unidad

operativa, así como la calidad ambiental en Cerro de Pasco, lo que ha significado una inversión global superior a los cuatro millones de dólares.

Uno de los últimos proyectos culminados ha sido una planta de neutralización de alta densidad para el tratamiento de las aguas ácidas de la unidad Cerro de Pasco, solucionando el problema del vertimiento en la laguna Yanamate. Se trata de una obra que demandó dos millones de dólares y contribuirá a la mejora ambiental de la cuenca alta del lago Chinchaycocha en la región Pasco.

Sin embargo, el problema sigue latente, pues ahora la fuente de contaminación se concentra en el flujo continuo y creciente de las aguas servidas provenientes de la población de Pasco, que son vertidas al río San Juan.

#### **3.4. Tratamiento de aguas ácidas**

La importancia del tratamiento de aguas ácidas radica en que el desplazamiento de las mismas cambia el comportamiento de los metales pesados en solución, lo cual aumenta el riesgo de intoxicación por el proceso de absorción intracelular.

Los organismos que se encuentran en los alrededores de efluentes de aguas ácidas sufren impactos evidentes por el pH de las mismas. Los líquenes, por ejemplo, son sumamente sensibles a la acidez de los cuerpos de agua de los alrededores, ya que provoca que las paredes celulares de los mismos se debiliten y permitan la incorporación de partículas en solución que provocan su intoxicación y posterior desaparición.

Como se conoce, la Unidad Económico-Administrativa Cerro de Pasco de Volcan, desarrolla su actividad minera en la extracción de plomo, zinc y plata en un área aproximada de 2,734 hectáreas; actividades que incluyen la explotación de la mina subterránea, tajo abierto y la planta concentradora.

Producto de las operaciones en la mina subterránea, se generan dos tipos de aguas ácidas: las neutras, que nacen de las infiltraciones del lado sur del

yacimiento, y las barren o drenaje ácido de la mina, que se originan al pasar el agua de infiltración por zonas mineralizadas.

En la superficie, el minado se concentra en el tajo abierto, donde se genera desmonte o mineral estéril como producto del desbroce, que es enviado al botadero de Rumiallana; de igual manera, se tienen minerales de pirita argentífera y los oxidados tipo pacos con contenidos de plata, que son enviados y acumulados en depósitos (stock piles) ubicados en el sector industrial. Esos botaderos generan aguas ácidas por las infiltraciones naturales y por las precipitaciones, las cuales son captadas mediante drenes impermeabilizados y bombeados al sistema de drenaje de aguas ácidas, llegando a la nueva planta de neutralización.

La planta opera a una altitud de 4,380 metros sobre el nivel del mar y está ubicada en la zona de Garacalzón en Cerro de Pasco. Su objetivo es neutralizar las soluciones ácido-ferrosas, asegurando un efluente que cumpla con los Límites Máximos Permisibles de la Resolución Ministerial N° 011-96-E.M./MMM del Ministerio de Energía y Minas, eliminando el vertimiento de aguas ácidas a la laguna Yanamate, la que entrará a un proceso de rehabilitación ambiental. Se estima que los costos operativos anuales de la planta de neutralización ascenderían a US\$ 2.5 millones de dólares. Su capacidad de tratamiento es de 2,500 galones por minuto, y está diseñada para tratar aguas ácidas con 2 de pH, y contenidos de fierro, zinc, cobre, plomo y arsénico.

El tratamiento se inicia bombeando las aguas ácidas a un primer tanque donde se mezclará con los lodos recirculantes del clarificador, el rebose pasa al segundo tanque de mezclado rápido donde se adiciona la lechada de cal que actúa como agente neutralizador. La generación de lodos densos contribuye a la precipitación de metales y se produce un efluente con menor concentración de iones metálicos. Las aguas neutralizadas serán bombeadas al reservorio de Miraflores para uso industrial.



### 3.5. Normatividad legal y ambiental

La gestión ambiental de las empresas mineras se enmarca dentro de la política ambiental sectorial que encabeza el Ministerio de Energía y Minas, quien ha formulado una normatividad adecuada, cubriendo todos los aspectos que prevean los impactos ambientales en la actividad minera que se desarrolla en Perú.

*Tabla 2: Dispositivos legales significativos en la normatividad ambiental que rige la actividad minera en Perú.*

<b>Título</b>	<b>Dispositivo Legal</b>	<b>Descripción</b>
Código del Medio Ambiente y de los Recursos Naturales	D.L. 613, septiembre 8 de 1990	Normatividad específica del medio ambiente y los recursos naturales
Título Décimo Quinto del Texto Único Ordenado (T.U.O.) de la Ley General de Minería, sobre medio ambiente.	D.S. No. 014-92-EM, junio 4 de 1992	Título Décimo Quinto: Medio Ambiente (Arts. 219 al 226)
Reglamento del Título Décimo Quinto del T.U.O. de la Ley General de Minería sobre el Medio Ambiente	D.S. No. 016-93-EM, mayo 01 de 1993	Reglamento del T. U. O. de la Ley General de Minería
Modificación al Reglamento del Título Décimo Quinto del T.U.O. de la Ley General de Minería	D.S. No. 059-93-EM, diciembre 13 de 1993	Modifica el Reglamento del T.U.O. de la Ley General de Minería
Marco Constitucional	Constitución Política del Perú, diciembre 30 de 1993	Capítulo II, artículos 66° al 69°, del Ambiente y los Recursos Naturales
Aprueban publicación de Guías de Monitoreo de Agua y Aire para la actividad minero-metalúrgica	R.D. No. 004-94-EM/DGAA, marzo 2 de 1994	Guía de Monitoreo de Agua y Aire para la Actividad minero-metalúrgica.
Aprueban guías para elaborar Estudios de Impacto Ambiental y Programas de Adecuación y Manejo Ambiental en el sector minero	R.D. No. 015-95-EM/DGAA, setiembre 31 de 1995	Esquemas orientadores para presentar los E.I.A. y los PAMAs del sector minero.
Aprueban Niveles Máximos Permisibles para efluentes líquidos minero-metalúrgicos	R.M. No. 011-96-EM/VMM, enero 13 de 1996	El resultado del monitoreo será puesto en conocimiento de la Dirección General de Minería de acuerdo a la frecuencia de presentación establecida.
Niveles Máximos Permisibles de emisiones de gases y partículas para las actividades minero-metalúrgicas.	R.M. No.315-96-EM/VMM, julio 19 de 1996.	Norma el control de las emisiones, producto de las actividades minero-metalúrgicas
Estudio de Estabilidad del Depósito de Relaves	R.D. No. 440-96-EM/DGM, diciembre 13 de 1996	Las empresas mineras presentarán el estudio de estabilidad de sus depósitos de relaves.
Ley de Evaluación de Impacto Ambiental para obras y actividades	Ley 26786 , mayo 13 de 1997	Las obras a ejecutarse deben sustentarse en estudios previos de impacto ambiental
Disposiciones destinadas a uniformizar la presentación de estudios de impacto ambiental - Depósitos de relaves	R.D. No 224-97-EM/DGM, junio 17 de 1997.	Evaluación especial de Depósitos de Relaves efectuando trabajos necesarios para garantizar su estabilidad.

Aprueban publicación de Guía Ambiental para el Manejo de problemas de Ruido en la Industria Minera y para la Estabilidad de Talues de Depósitos de Residuos Sólidos provenientes de actividades mineras	R.D. No. 034-98-EM/DGAA, setiembre 8 de 1998	Guía Ambiental para la estabilidad de los Depósitos de residuos sólidos.
Reglamento para la aprobación de estándares de calidad ambiental y límites máximos permisibles.	D.S. 044-98-PCM, noviembre 11 de 1998.	Se establece procedimiento y programas para aprobación de estos índices.
Establecen disposiciones destinadas a uniformizar procedimientos administrativos ante la Dirección General de Asuntos Ambientales	D.S. No. 053-99-EM, setiembre, 23 de 1999	Disponen la presentación ante la DGAA de Energía y Minas, los EIA, los Estudios de Impacto Ambiental Preliminar, las Evaluaciones Ambientales o las modificaciones de los PAMA
Modifican los Arts. 81° y 82° del Reglamento de los Títulos I, II y III de la Ley General de Aguas.	D.S. 077-83-SA; 11 de marzo 1983.	Modifican el Reglamento del uso de aguas y Límites Máximos Permisibles en la calidad de las aguas y cuerpo receptor.
Modifican el Reglamento para la Protección Ambiental en la Actividad Minero Metalúrgica	D.S. No. 022-2002-EM de julio 2002	Se modifica el artículo 48° del Reglamento para la Protección Ambiental en la Actividad Minero Metalúrgica

Adicionalmente, cabe mencionar que en Europa, especialmente en Alemania, existe un procedimiento estandarizado (VDI 3957), el cual se basa en el uso de líquenes como bioindicadores para estudios de impacto ambiental, esto fue propuesto por la Asociación Alemana de Ingenieros (Verein Deutscher Ingenieure – VDI) al observar las reacciones de los mismos ante presencia de contaminación de diversos tipos. Dado que la diversidad de líquenes en Perú es sumamente amplia, es posible implementar procedimientos similares, los que reducirían los costos y cuyos resultados son sumamente confiables, por ser organismos vivos.

#### IV. PRESENCIA NATURAL DE METALES PESADOS

La discusión en torno a los metales pesados y su presencia en ambientes contaminados generalmente deja de lado que estos mismos ocurren naturalmente e incluso tienen un rol sumamente importante en el metabolismo de todo organismo, en efecto, solo su liberación en cantidades que se encuentran por encima de los niveles naturales los hace tóxicos.

Todo ser vivo necesita cierta cantidad de metales pesados específicos para varios de sus procesos metabólicos, por ello cuentan con mecanismos de absorción, los que pueden convertirse en una potente ruta de intoxicación cuando la presencia de ciertos metales en el ambiente es excesivamente alta.

Ciertos organismos, como los líquenes, tienen mecanismos de protección, como se explica a mayor profundidad en el Capítulo V, sin embargo, dependiendo de las condiciones ambientales en que se encuentren pueden desaparecer por la intoxicación que se realiza por la incorporación de elementos a espacios internos a los que no deben ingresar.

Desde el punto de vista biológico, los metales pesados pueden dividirse en dos grandes grupos, aquellos que no presentan una función biológica conocida y los que tienen la consideración de oligoelementos o micronutrientes.

Los metales biológicamente importantes pueden funcionar como cofactores o componentes integrales de enzimas y moléculas biológicamente activas. Por ejemplo, Fe en la hemoglobina y citocromos Mg en la clorofila.

Los oligoelementos o micronutrientes se requieren en pequeñas cantidades, o cantidades traza, por las plantas y animales, todos ellos son necesarios para que los organismos completen su ciclo vital pero superado un cierto umbral se vuelven tóxicos. Dentro de este grupo están: As, B, Co, Cr, Cu, Mo, Mn, Ni, Se y Zn, entre otros.



Figura 16: Representación diagramática de la molécula de hemoglobina: los cuatro componentes (dos cadenas alfa y dos cadenas beta) se muestran en colores diferentes, los cuatro grupos hemo en rojo (red) con los átomos de hierro (circulares) en rosado. (Fuente: <http://www.nurseminerva.co.uk/haem.html>)

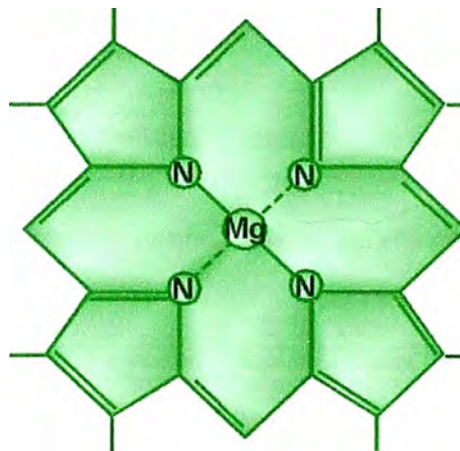


Figura 17: Representación diagramática de una molécula de clorofila en la cual es puede apreciar un átomo de Manganeso como unión de los átomos de Nitrógeno. (Fuente: <http://biology.clc.uc.edu/courses/bio104/photosyn.htm>).

Los elementos traza son aquellos cuya presencia en los tejidos humanos y animales es mínima, habitualmente en cantidades del orden de miligramos por kilo o incluso menores. En consecuencia, los requerimientos nutricionales de estos elementos se expresan en miligramos por día. Los elementos traza, sin embargo, son imprescindibles para la realización de gran número de funciones

bioquímicas. De entre los elementos traza, el zinc (Zn) y el cobre (Cu) destacan por su importancia e implicaciones biológicas. Así, el Zn y el Cu forman parte fundamental de algunas enzimas, llamadas metaloenzimas, presentes en diversas funciones biológicas y, debido a su constitución, actúan transfiriendo electrones y uniendo átomos y moléculas.

Las metalotioneínas (MT) son unas proteínas estrechamente relacionadas con el Zn, Cu y metales traza en general. Entre las funciones de las MT cabe destacar su íntima relación con el metabolismo de los elementos traza, participando tanto en la absorción como en el almacenamiento y eliminación de los mencionados elementos. Asimismo, regulan los niveles celulares de Zn y Cu, participan en los procesos de detoxificación de metales pesados, intervienen en el proceso de inflamación y están implicadas en diversas situaciones como infecciones y neoplasias. Por último, otra importante función de la MT es su participación en la defensa del organismo contra el estrés oxidativo como *scavenger* de los radicales libres.

#### 4.1. Presencia natural de metales pesados en el ambiente

*Tabla 3: Componentes habituales de muchos suelos, su procedencia esta relacionada con la composición del material original.*

Elemento	Granito	Basalto	Esquisto	Caliza	Arenisca	Suelos
Ag	0.04	0.1	0.07	0.12	0.25	0.05
Al	77000	88000	88000	90000	43000	71000
As	1.5	1.5	13	1	1	6
Cd	0.09	0.13	0.22	0.028	0.05	0.35
Co	1	35	19	0.1	0.3	8
Cr	4	90	90	11	35	70
Cu	13	90	39	5.5	30	30
Fe	27000	56000	48000	17000	29000	40000
Hg	0.08	0.012	0.012	0.18	0.29	0.06
Mn	400	1500	850	620	460	1000
Mo	2	1	2.6	0,16	0.2	1.2
Ni	0.5	150	68	7	9	50
Pb	24	3	23	5,7	10	35
Se	0.05	0.05	0.5	0,03	0.01	0.4
Sn	3.5	1	6	0,5	0.5	4
Zn	52	100	120	20	30	90

*Tabla 4: Valores de concentración de metales para suelos considerados "normales", estos valores se comparan con los valores de suelos afectados por anomalías geoquímicas (Bowie y Thomson).*

Elemento	Rango "normal" mg/kg	Valores anormalmente elevado mg/kg
As	<5 - 40	>2500
Cd	<1 - 2	>30
Cu	Feb-60	>2000
Ni	2 - 100	>8000
Pb	10 - 150	<sup>3</sup> 10000
Se	<1 - 2	>500
Zn	25 - 200	<sup>3</sup> 10000

De este modo una concentración de Pb en el suelo de 1000 mg/kg puede ser el fruto de una contaminación externa o de un nivel geoquímico muy alto, es por ello que se debe hablar con precaución de estas situaciones.

#### **4.2. Presencia natural de metales pesados en organismos vivos**

La materia orgánica puede formar complejos con metales y con oxianiones derivados de elementos tóxicos como es el caso del cobre. En otras ocasiones tiene un efecto contrario como la metilación del mercurio que incrementa su toxicidad y su movilidad, este efecto se produce con mayor intensidad en medios reducidos y marinos, razón por la cual se produce una gran acumulación en peces que provocan la contaminación humana por su consumo.

Por contra estas formas metiladas, que también afectan al As y Se, favorecen la volatilidad de los elementos asociados y la descontaminación de suelos por aireación, como más adelante veremos.

Ello nos lleva a considerar las concentraciones existentes en los seres vivos. La variación en la composición media entre plantas y mamíferos puede ser atribuida a las diferentes funciones metabólicas, cuando se trata de elementos sin función biológica conocida las diferencias estriban en la posibilidad de existir una bioacumulación en el caso de los animales, de mayor longevidad.

Tabla 5: Concentraciones de elementos evaluados en seres vivos como plantas, mamíferos y peces.

Elemento	Plantas mg/kg	Mamíferos mg/kg	Peces mg/kg
Ag	0.01-0.8	0.01-0.44	0.04-0.1
Al	90-530	0.7-28	20
As	0.2-7	<1.6	0.2-10
Cd	0.1-2.4	0.1-3.2	0.1-3
Co	<1	<1	0.02
Cr	0.03-10	0.01-33	0.03-2
Cu	May-15	Ene-26	0.7-15
Fe	70-700	3-380	Ene-15
Hg	<0.02	0.02-0.7	0.4
Mn	20-700	0.2-14	0.3-4.6
Ni	01-May	0.7-1.2	0.1-4
Pb	Ene-13	0.2-30	0.01-2
Se	0.03	0.4-9	0.2
Sn	0.02-2	0.01-2	-
Zn	20-400	75-240	10

### 4.3. Metales pesados y salud humana

#### 4.3.1. Los Minerales en la dieta humana

Todos los tejidos y fluidos corporales contienen cantidades variables de minerales que además, son constituyentes de los huesos, los dientes, el músculo, de la sangre y de las células nerviosas. Los minerales actúan como catalizadores de muchas de las reacciones biológicas del cuerpo, incluyendo la respuesta muscular, la transmisión de mensajes a través del sistema nervioso, la producción de hormonas, la digestión y la utilización de nutrientes en las comidas.

En los tejidos humanos se han identificado a los 92 elementos que existen naturalmente y se ha encontrado que 4 cationes "voluminosos" (Na, K, Ca y Mg) y 11 elementos traza (oligoelementos) son esenciales para la salud de acuerdo a lo reportado por Halpern (1990). Además de aquellos minerales para los cuales se han establecido requerimientos diarios, deben incluirse toda una gama de diferentes oligoelementos que se definen como elementos que se encuentran en los tejidos en cantidades diminutas (elementos traza).



*Tabla 6: Minerales que se encuentran dentro de los requerimientos diarios de alimentación humana.*

<b>Oligoelementos que se consideran esenciales para la vida</b>	
Arsénico	Manganeso
Cinc (Zinc)	Molibdeno
Cobalto	Níquel
Cobre	Selenio
Cromo	Silicio
Hierro	Vanadio
Flúor	Yodo

El cobalto forma parte de las moléculas de vitamina B12 y su carencia conduce a anemia megaloblástica, la deficiencia del yodo provoca anomalías en el funcionamiento tiroideo, la carencia de cinc causa úlceras en la piel, pérdida del pelo y enanismo; la deficiencia de cromo provoca resistencia a la insulina, la carencia de flúor aumenta la frecuencia de caries dental, y la deficiencia en hierro produce anemia.

La carencia de cobre, causa anemia y cambios en la osificación y posiblemente aumento del colesterol plasmático. Y así podríamos enumerar una serie de enfermedades provocadas por la ausencia de algunos de esos elementos que deben ser adquiridos en muy pequeñísimas cantidades, pero que la falta de uno sólo de ellos, trae aparejada alguna enfermedad e incluso la muerte.

Pero también el exceso de dichos elementos puede ser tóxico: una sobrecarga de hierro causa hemocromatosis, el exceso de cobre produce daño cerebral, y el envenenamiento por aluminio en pacientes con insuficiencia renal que tienen tratamiento de diálisis, conduce rápidamente a una demencia progresiva que se parece mucho a la enfermedad de Alzheimer, de acuerdo a Ganong (1992). Sin embargo no debemos olvidarnos que hasta no hace mucho tiempo estos elementos, hoy esenciales, eran considerados "impurezas".

Los oligoelementos son catalizadores y reguladores de procesos vitales. Al igual que las vitaminas pueden ser catalizadores directos de enzimas, o bien catalizadores de catalizadores. Su acción favorable sobre los fenómenos vitales sólo se ejerce en concentraciones definidas. Demasiado poco puede ser tan



perjudicial como una cantidad excesiva. La concentración hística (en los tejidos) de la mayor parte es de 10-6 M (1 miligramo por kilogramo) a 10-14 (una cien millonésima de miligramo por kilogramo). La ausencia de un solo elemento esencial conduce a la muerte.

Diversas enfermedades de las plantas se deben a una carencia de oligoelementos. La riqueza del suelo no es el único factor que determina o no las carencias. La absorción de un elemento puede verse dificultada por la presencia de otras sustancias o porque se encuentra en forma insoluble. No se conocen en su totalidad las sustancias contenidas en los vegetales, las que tomamos del suelo y que, si queremos conservar la fertilidad del suelo debemos restituirle en forma de abono.

Al intensificar demasiado los cultivos, empleando abonos artificiales, el hombre altera el equilibrio mineral de los suelos, desequilibrio que se trasmite de modo insidioso a las plantas, a los animales que viven de ellas y por último al hombre mismo. Por otro lado debemos saber que en la actualidad el hombre, al tamizar y refinar las harinas, elimina en forma peligrosa de su alimentación precisamente las partes del grano ricas en oligoelementos.

El cobalto, el cobre, el manganeso, el cinc, el cromo y el selenio se encuentran sobre todo, contenidos en el germen y en la parte exterior de los granos de cereales. Sólo los alimentos naturales (cereales integrales, frutas, miel, nueces, legumbres crudas, carnes y pescados frescos, huevos y leche) aseguran un aporte suficiente de estas sustancias.

Al cocinar los alimentos, al hacer conservas de ellos, el hombre desnaturaliza las proteínas enzimáticas, solubiliza los metales, Al desechar el agua de la cocción de las legumbres disminuye el aporte de muchos minerales, entre ellos los oligoelementos.

Tabla 7: El cuadro siguiente resume características sobresalientes de algunos de los elementos esenciales, y cuáles son los efectos de su carencia así como en qué alimentos es más común encontrarlos.

Elemento	Función	Carencia	Dónde se encuentra
<b>Cromo</b>	Interviene en el metabolismo del azúcar, estabilizando los niveles de azúcar en sangre; reduce los niveles de colesterol y triglicéridos. Activa la insulina.	Diabetes en el hombre de edad; Cataratas; Arteroesclerosis.	Vegetales frescos y cereales de grano entero.
<b>Zinc</b>	Ayuda en la digestión de los hidratos de carbono, la cicatrización de heridas (sobre todo de herpes y úlceras varicosas) y el tratamiento de la anorexia y la bulimia nerviosas. Desempeña papel en la división celular y en los intercambios gaseosos pulmonares.	Esterilidad, deformaciones fetales, enanismo, retardo en la curación de heridas.	Pescado, carne y cereales, trigo, pollo, guisantes y judías secas.
<b>Cobre</b>	Colabora en la absorción y la utilización de hierro, ayuda a la oxidación de vitamina C y trabaja con ella en la formación de elastina, el componente principal de los músculos.	Problemas nerviosos, aneurisma, anemia, lesiones cerebrales, osteoporosis, encanecimiento, caída del pelo.	Pescado de mar, algas marinas, calamares.
<b>Hierro</b>	Prevenir de la anemia, los resfriados, la alopecia y la metrorragia.	Anemia, tendencia a la fatiga.	Carne, hígado, frutos secos, verduras de hoja verde oscuro, sardinas, ciruelas, pasas, cereales integrales y huevos.
<b>Selenio</b>	Retrasa los efectos del envejecimiento y prevenir el cáncer.	Distrofia muscular.	Mantequilla, arenques, germen de trigo, vinagre de manzana, pan integral, langosta, atún, tomates, carne roja.
<b>Silicio</b>	Mantiene la elasticidad de los tejidos conjuntivos.	Envejecimiento acelerado.	Salvado, fibras vegetales.
<b>Molibdeno</b>	Se concentra en los huesos, hígado, riñones y bazo; presente en la Xantinaoxidasa.	Ciertas anemias.	Granos y bulbos; fresas.
<b>Vanadio</b>	Acción antianémica.	Retarda el crecimiento; hipocolesteronemia.	Manzanas, granos oleaginosos, primienta negra.
<b>Flúor</b>	Favorece la estructura ósea y los dientes; funciona en la mineralización de los tejidos duros.	Osteoporosis.	Te, pescado de mar y queso.
<b>Litio</b>	Equilibrante de importancia en los enfermos afectados de psicosis maniaco-depresivas. Efecto calmante.	Inestabilidad psíquica.	Raíces vegetales.

Los cationes de varios metales (Ca, Fe, Cu, Na, K, Mg, Zn, Mn y Cr) juegan un papel importante como elementos traza en reacciones bioquímicas y en el metabolismo humano. Otros elementos, como Al, Si, As y Ni también se encuentran en el cuerpo, pero su función exacta no se ha determinado.

Ciertos metales funcionan como “venenos” metabólicos, ya que pueden reaccionar e inhibir una serie de sistemas enzimáticos; algunos iones de estos

elementos ( $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  y  $\text{Ag}^+$ ) forman complejos tóxicos inespecíficos en la célula, lo que produce efectos tóxicos para cualquier función biológica.

Elementos como el Hg, As, Sn, Tl y Pb, pueden formar iones órgano-metálicos liposolubles capaces de penetrar membranas y acumularse en las células. Aun, elementos sin propiedades tóxicas en baja concentración, como  $\text{Zn}^{2+}$  o  $\text{Ni}^{2+}$  y, especialmente  $\text{Cu}^{2+}$ , son tóxicos en concentraciones mayores.

En relación con lo anterior, cationes tri o tetravalentes de otros metales (Sn, Ce, Ga, Zr y Th), debido a su baja solubilidad, no poseen influencia biológica. Del resto de los metales, el Fe, Mo y Mn son elementos traza importantes con baja toxicidad; el Zn, Ni, Cu, V, Co, W y Cr son tóxicos con importancia biológica moderada; y elementos como As, Ag, Sb, Cd, Hg, Pb y U, no tienen importancia biológica significativa como elementos traza y se consideran tóxicos.

Como puede verse, algunos metales no implican peligro para los sistemas biológicos; en cambio, algunos no metales y metaloides, como el Se y el As, respectivamente, son potencialmente tóxicos, dependiendo de su concentración. Por esta razón, un término más adecuado, y por lo tanto adoptado en el presente documento, para denominar a los elementos de importancia ambiental y/o toxicológica es el de elementos potencialmente tóxicos (EPT). En el Anexo se describe brevemente la forma química, especiación y funciones biológicas de algunos de los EPT de mayor importancia ambiental (As, Be, Cd, Cu, Cr, Hg, Pb, Se, Tl, V y Zn), que se encuentran regulados en México y comúnmente presentes en sitios contaminados.

Es importante mencionar que si este tipo de elementos se encuentran biodisponibles y se movilizan hacia poblaciones cercanas, pueden ocasionar problemas de intoxicación. En este sentido, la forma química de un elemento, tiene influencia directa en su solubilidad, movilidad y toxicidad en el suelo; ésta, a su vez, depende de la fuente de contaminación y de la química del suelo en el sitio contaminado (Nies 1999).

De esta manera, para poder evaluar la utilización de una alternativa de remediación para un sitio en particular, es indispensable llevar a cabo la

caracterización del sitio con el objeto de determinar el tipo y concentración del (los) contaminante(s) presente(s). En la siguiente sección, se presentan y describen algunas de las consideraciones más importantes para llevar a cabo la caracterización de un sitio contaminado.

## V. LÍQUENES Y METALES PESADOS

### 5.1. Definición de “metal pesado”

Desde que fueron notados diversos problemas de contaminación, los estudios que se enfocaban en el análisis de la toxicología ambiental atribuían a ciertos metales y a algunos de sus compuestos, los efectos observables en el ambiente. Acerca de los problemas asociados con algunos metales y su metalurgia, el historiador griego Plutarco relataba, hace más de 1900 años, lo que ahora denominaríamos como severos efectos nocivos ambientales y sanitarios provocados por la exposición que experimentaban los trabajadores de las minas y fundiciones.

Al mismo tiempo, corresponde nuevamente enfatizar que numerosos elementos catalogados como “metales pesados” son necesarios para los seres vivos. Efectivamente, cantidades muy pequeñas de cobre, cromo y zinc, son esenciales para la vida. De hecho, algunos de los denominados “metales pesados” ingresan habitualmente a nuestro organismo en porciones menores, transportados por los alimentos, el agua o el aire que respiramos. Varios persisten en el ambiente o son acumulados a través de procesos biológicos durante largo tiempo en ciertos organismos vivos, como es el caso de los líquenes.

Actualmente, los contaminantes ambientales más peligrosos son el cadmio, mercurio y plomo, ya que, aún en concentraciones pequeñas, resultan nocivos para el hombre, los animales, las plantas, los líquenes, los hongos y el ambiente. Al mismo tiempo, se atribuye a algunos compuestos de cromo ser carcinógenos y provocar daños genéticos. El mercurio es considerado un contaminante universal. El plomo, que es el “metal pesado” con propiedades tóxicas que más se ha propagado en el ambiente, fue ampliamente usado por los romanos para construir tuberías para conducir agua, vasijas para vino y objetos similares. Hasta la década de 1970 fue muy utilizado en pinturas, conductos para agua en las viviendas y hasta no hace mucho tiempo en algunos combustibles para automotores.

Como se puede notar, el término "metal pesado" se usa para hacer alusión, de una manera relativamente imprecisa, a ciertos elementos del grupo de los metales encontrados en la tabla periódica de elementos químicos y también a algunos de los compuestos que se forman con los mismos, a los que se atribuyen determinados efectos de contaminación y toxicidad ambiental.

Asimismo, cabe destacar que en la actualidad no se dispone de una definición oficial generalmente aceptada, ni de un listado de esos elementos o una referencia clara y exacta de las propiedades o caracteres de los metales pesados que provenga de alguna sociedad científica u organismo referente de alto nivel, como podría ser la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada – IUPAC o la Agencia de Protección Ambiental de EUA - US EPA, por ejemplo.

Como consecuencia, en muchos artículos y documentos no se definen los metales pesados en su conjunto, o se los presenta acotados, de un modo válido sólo en el contexto del propio documento.

Otro aspecto notable es que diversas fuentes bibliográficas mencionan entre los metales pesados a distintos elementos, tanto metales como semimetales y, además, a algunos de sus compuestos. En ciertas oportunidades, se incluye a un no metal, lo cual puede contribuir a causar cierta confusión sobre este tema.

#### **5.1.1. Algunos elementos considerados Metales Pesados**

Entre los elementos que suelen citarse como "metales pesados", se cuentan principalmente los referidos en el cuadro siguiente, en orden alfabético. Por ejemplo, los siguientes elementos son los que comúnmente se tratan como metales pesados, pero que en realidad son metales, semimetales y, sorprendentemente, también se puede observar un no metal: Aluminio, arsénico, bario, berilio, cadmio, cobalto, cobre, cromo, estaño, hierro, manganeso, mercurio, molibdeno, níquel, plata, plomo, selenio, talio, vanadio, zinc; cabe destacar que As es un semimetal y Se es un no metal.

Tabla 8: Relación de elementos ordenados por sus pesos atómicos.

Ref.: (Número atómico); [Símbolo]				
Berilio (4) [Be]	Aluminio (13) [Al]	Vanadio(23)[V]	Cromo (24) [Cr]	Manganeso(25)[Mn]
Hierro (26) [Fe]	Cobalto (27) [Co]	Níquel (28) [Ni]	Cobre (29)[Cu]	Zinc (30) [Zn]
Arsénico* (33) [As]	Selenio**(34) [Se]	Molibdeno (42) [Mo]	Plata (47) [Ag]	Cadmio (48)[Cd]
Estaño (50)[Sn]	Bario(56) [Ba]	Mercurio (80) [Hg]	Talio (81) [Tl]	Plomo (82) [Pb]

## 5.2. Nutrientes, acumulación elemental y ciclo mineral en líquenes

Como con muchos organismos, la acumulación y absorción tanto de macronutrientes como micronutrientes esenciales para las funciones fisiológicas de la vida es crítica para el crecimiento y desarrollo de los líquenes. Es importante considerar la fisiología de los nutrientes ya que entre ellos también figuran ciertos metales, incluso metales pesados, como son el Fe y Mn. De esta forma, no todos los metales pesados que se podrían encontrar en un organismo como el líquen, significan contaminación, de modo que es necesario hacer estudios muy detallados para separar las fracciones que representan contaminación y las que forman parte del metabolismo natural.

Al contrario de las plantas vasculares, las cuales absorben las sustancias del ambiente o por las raíces o por los estomas de las hojas, y por lo tanto tienen control de lo que absorben, los líquenes no poseen raíces, las que funcionan como el sistema de absorción de nutrientes eficiente que tienen las plantas vasculares, de este modo, ellos dependen de las fuentes de nutrientes atmosféricas en lugar del suelo, el cual es explotado por las plantas vasculares<sup>(124)</sup>, aunque existen ciertas especies que absorben estos nutrientes de la tierra, como algunas especies del género *Peltigera*<sup>(68)</sup>. Por lo tanto, una gran parte de la absorción de nutrientes en los líquenes es pasiva y no puede ser controlada fácilmente por el líquen.

Como las fuentes de nutrientes atmosféricas son menores que las del suelo, los mecanismos de concentración de nutrientes son críticos para la sobrevivencia de un líquen. El hecho de que exista este tipo de organismo ha despertado un

mayor interés científico sobre la posibilidad de que los mismos sean receptores de liberación atmosférica.

Por ejemplo, aunque la mayor parte de las áreas en las que se realizaban experimentos nucleares estaban en zonas remotas, los líquenes de esas áreas eran acumuladores eficientes de radionúclidos, esto ha llevado a que en los últimos años se utilicen a los líquenes para estudios de liberación de metales en atmósferas regionales y otros contaminantes atmosféricos <sup>(138)</sup>. De estudios de este tipo resulta evidente que algunos líquenes son muy tolerantes a concentraciones altas de metales. Los mecanismos para ese tipo de tolerancia han sido elucidados <sup>(120)</sup> y la ocurrencia natural de concentraciones altas de metales ha sido utilizada en estudios de prospección geológica.

### **5.3. Propiedades químicas y físicas de nutrientes**

Los nutrientes de importancia para el metabolismo de una planta existen principalmente como iones, sea cargados positivamente (cationes) o negativamente cargados (aniones).

Espacios con enlaces aniónicos negativamente cargados, como grupos carboxilos presentes en las paredes celulares y espacios de enlaces positivamente cargados son los responsables, en teoría, de la capacidad de intercambio que tiene la pared celular de los líquenes. La absorción hacia el citoplasma ocurre también con soluciones externas.

### **5.4. Requerimiento de nutrientes**

Debido a que los líquenes, como tales, no pueden crecer en cultivo, es necesario tener concentraciones precisas de nutrientes para el crecimiento de los mismos; estas concentraciones, aún son desconocidas para lograr el crecimiento del organismo en simbiosis, sin embargo, los requerimientos de nutrientes específicos para el crecimiento de simbiontes separados está muy bien definida

<sup>(3)</sup>



Existen requerimientos de nutrientes que pueden ser medidos indirectamente. Por ejemplo, algunos líquenes muestran un alto grado de especificidad en relación al sustrato <sup>(35)</sup> y esto puede estar ligeramente relacionado con el estado en que se encuentran los nutrientes. De modo interesante, *Trebouxia*, el fotobionte liquénico más común, es un heterótrofo facultativo que puede mostrar cierto crecimiento en la oscuridad cuando dispone de una fuente orgánica de nutrientes.

Evidencia adicional relacionada al requerimiento de nutrientes puede ser tomada de estudios de campo en los cuales las dinámicas de intercambio de nutrientes son monitoreadas. Por ejemplo, Knops (1994), en un estudio de dosel de bosque, documentó que los líquenes del dosel removían sulfatos y fosfatos liberados por acción de las lluvias y por lo tanto infirió que esos nutrientes estaban limitando el crecimiento de robles en un bosque de California.

En adición, es probable que estos nutrientes en concentraciones demasiado altas podrían causar un rompimiento en la simbiosis, por ejemplo, la liberación de nitratos en el Oeste de Europa excede en gran cantidad a la liberación natural que existe en ecosistemas no alterados, y en regiones como Suecia, existe documentación sobre el empobrecimiento de líquenes referida a este fenómeno <sup>(179)</sup>

## **5.5. Fuentes de nutrientes**

### **5.5.1. Fuentes atmosféricas**

Existen procesos mediante los cuales ocurren liberaciones atmosféricas que incluyen precipitaciones visibles y precipitaciones no visibles, principalmente niebla y rocío.

La precipitación no visible es muy importante para los líquenes tanto por los nutrientes como por ser fuente de humedad. Las concentraciones de los nutrientes y contaminantes en las precipitaciones no visibles podrían ser

sustancialmente más altas que las presentes en las lluvias porque dichos elementos tienen mayor dilución en la formación de la lluvia.

La sedimentación de elementos contaminantes y su incorporación en el talo liquénico está muy bien demostrado por la comparación de perfiles químicos, los que se basan en datos obtenidos a partir de la difracción con rayos X, de contaminantes atmosféricos muestreados directamente del aire y de las partículas atrapadas en el interior de los líquenes <sup>(60)</sup>. Los rangos de impacto no han sido específicamente medidos en líquenes, pero la forma ligeramente lobulada o segmentada de muchos de ellos es consistente con la hipótesis de que el nivel de impacto debe ser alto. Para el caso de los gases, como por ejemplo SO<sub>2</sub>, la incorporación del líquen ártico *Cladonia rangiferina* es por lo menos un orden de magnitud mayor que en una típica planta vascular <sup>(182)</sup>.

### 5.5.2. Sustrato

Muchos líquenes ocurren en los suelos o las rocas, como en el presente estudio, y por lo tanto, están íntimamente en contacto con fuentes de nutrientes líticas (piedras). Los líquenes pueden afectar la erosión de superficies rocosas a través de medios mecánicos y químicos <sup>(165)</sup> y una vez que los nutrientes son solubilizados pueden ser incorporados por el líquen a través de mecanismos de acumulación, lo cual se explicará con mayor detalle posteriormente. La gran disponibilidad de calcio y el pH alcalino de rocas calcáreas son diferencias evidentes y sustanciales si se les compara con rocas ácidas.

La solubilidad de muchos nutrientes es afectada por el pH y esto implica que la disponibilidad de nutrientes debe ser diferente para sustratos calcáreos y ácidos. Como consecuencia, existen comunidades diferentes de líquenes que ocurren en piedras calcáreas y en rocas ácidas <sup>(145, 183)</sup>. En rocas sedimentarias, tanto el azufre como el calcio están presentes en concentraciones mucho mayores y existen algunos líquenes, como *Acarospora clauzadeana*, que crecen únicamente de este tipo de rocas.

Cabe mencionar que muchos líquenes producen ciertas sustancias químicas que son capaces de diluir elementos desde el sustrato rocoso. Esto tiene ciertas implicaciones sobre su uso como bioindicadores de metales pesados, ya que se puede asumir que una parte de los metales pesados encontrados en un talo dado, no se originan en la contaminación del área sino directamente de la actividad del liquen sobre la roca que éste utiliza como sustrato, la cual contiene ciertas cantidades de metales pesados. De hecho, existen comunidades de líquenes especializadas que únicamente se desarrollan sobre rocas con alto contenido de metales pesados <sup>(26)</sup>

La mayoría de los líquenes, especialmente aquellos que ocurren en los suelos y las rocas, también son afectados por el polvo que se transporta por viento, la mayoría del cual se origina de superficies de suelo expuestas. Estas partículas pueden ser incorporadas fácilmente en espacios extracelulares en los líquenes y resultar en concentraciones significativamente altas de Al, Fe, Sc, Ti y otros elementos de origen lítico en el interior del talo. La solubilización de esas partículas es una fuente potencial de nutrientes, pero este proceso es muy lento y la mayoría de elementos en esas partículas posiblemente permanecen inmóviles (inaccesibles para el liquen).

Para entender el estado de nutrientes de un liquen, es importante distinguir entre la concentración total de elementos versus las concentraciones solubilizadas o iónicas. Actualmente no hay forma de medir esto, pero la contribución relativa de las partículas de suelo a la carga total de elementos de los líquenes puede ser medida comparando los rangos de macro o micronutrientes de elementos inertes, como Sc o Ti <sup>(124)</sup>.

Los líquenes epífitos son también afectados por las dinámicas de procesamiento de nutrientes tanto en el dosel de un bosque como en la corteza en que son hallados. Elementos como potasio son fácilmente irrigados desde el follaje y subsecuentemente pueden ser tomados por epífitos. En algunos árboles, la corriente de agua que se desliza fácilmente por los troncos sucede durante las precipitaciones y forma cursos de nutrientes que irrigan uno de los lados del tronco.

Algunos líquenes son restringidos para estas áreas por la cobertura de nutrientes. Adicionalmente, hay muchas diferencias en los elementos nutritivos de diferentes tipos de corteza y la disponibilidad de esos nutrientes es afectada por el pH. Como en el caso de la rocas, esto resulta en comunidades de líquenes muy diferentes que ocurren en árboles con corteza ácida (por ejemplo, coníferas, *Betula sp.*, etc.) a diferencia de los líquenes que pueden encontrarse en árboles cuyas cortezas muestran pH neutro (por ejemplo, *Fraxinus*, *Tilia*, etc.) Las fuentes de contaminación pueden modificar el estado de nutrientes de la corteza, tanto añadiendo elementos como afectando el pH. La liberación de ácidos frecuentemente resulta en el decremento del pH y esto resulta en el cambio de las comunidades liquénicas presentes <sup>(159)</sup>.

## **5.6. Mecanismos de acumulación**

Se sabe que los líquenes no cuentan con un sistema de raíces vascular, la superficie de los líquenes no tiene una cutícula cerosa como la que se encuentra en las hojas de plantas vasculares, sin embargo, la mayoría de los líquenes tienen un córtex superior formado por un tejido de hifas de hongo enredadas fuertemente. Como consecuencia, el intercambio de elementos en líquenes ocurre a través de toda la superficie. Es importante entender adecuadamente los procesos de acumulación porque juegan un papel central en las aplicaciones de líquenes como bioindicadores.

### **5.6.1. Intercambio iónico**

Los iones metálicos existen inicialmente como cationes, aunque algunos aniones de elementos como uranio son conocidos. La cinética y termodinámica (definidas por capacidades de incorporación, constantes de unión y balance de masa y carga) de la incorporación de cationes también son conocidas <sup>(126)</sup>. Inicialmente la incorporación de cationes es un proceso rápido, pasivo y fisicoquímico que ocurre extracelularmente en líquenes <sup>(124)</sup>.

Los niveles de saturación son alcanzados en cuestión de minutos y la capacidad de retener cationes en el interior de la pared celular está estimada con una

variación entre 6 y 77  $\mu\text{mol g}^{-1}$  dependiendo de la especie <sup>(120)</sup>. Estos cationes son retenidos principalmente externos al citoplasma del fotobionte o micobionte en un sitio de intercambio de cationes.

En base a los experimentos de competición, la afinidad de iones para sitios de intercambio varía de acuerdo a la secuencia: Clase A Monovalente < Clase A divalente < borderline divalente < Clase B divalente, la cual fue establecida por Evert Nieboer <sup>(125)</sup>.

La incorporación de aniones por líquenes ha sido investigada de manera limitada. En general, se puede decir que es un proceso más lento (horas) que el intercambio de cationes y resulta en una menor acumulación total. En los experimentos de competición <sup>(125)</sup>, el complejo aniónico uranilo, acumuló mucho más lentamente que los cationes uranilo y el total de incorporación de aniones fue mucho menor ( $1.6 \mu\text{mol g}^{-1}$  vs  $49 \mu\text{mol g}^{-1}$ ) que cationes.

En contraste, la incorporación de la forma aniónica de arsénico fue mucho mayor ( $10 \mu\text{mol g}^{-1}$ ) y siguió la cinética Michaelis-Menten, un hecho que implica una incorporación activa <sup>(144)</sup>, como había establecido previamente Farrar para el caso de fosfatos (1976d). Por otro lado, en condiciones de liberación seca y ambientes altamente contaminados, Boonpragob *et al* (1989) encontraron que las cargas externas de aniones eran potencialmente altas (sobre  $200 \mu\text{mol g}^{-1}$ ).

### **5.6.2. Incorporación intracelular**

En contraste a la incorporación por intercambio iónico, la incorporación intracelular involucra un flujo mucho menor de procesos de intercambio iónico <sup>(28)</sup>. Por ejemplo, después de 2 horas de exposición a una solución de cadmio, la incorporación intracelular era menor al 10% de la incorporación total <sup>(38)</sup>.

La incorporación intracelular se incrementa con el tiempo (horas) frecuentemente siguiendo los patrones cinéticos de Michaelis-Menten <sup>(37)</sup>. Por ejemplo, la incorporación intracelular muestra una cinética de saturación con respuesta al incremento en la concentración externa de cadmio debido a que la incorporación

es asumida como el proceso mediador-llevador y por esto involucra desgaste de energía. Esta dependencia de energía es demostrada por la incorporación de fosfato intracelular <sup>(56)</sup>.

### 5.6.3. Atrapamiento de partículas

En el interior de los líquenes existe un espacio intercelular considerable. Por ejemplo, Collins y Farrar (1978) estimaron un espacio estimado del 18% del total del líquen *Xanthoria parietina*. Existe evidencia directa e indirecta que muestra que las partículas pueden ser atrapadas en estos espacios <sup>(124)</sup>.

Entre muchos líquenes existe una relación linear entre las concentraciones elementales de Al y Ti. Debido a que la desviación de esta relación se aproxima a ratios conocidos de estos elementos en 12 de los 13 minerales mayormente encontrados en la corteza terrestre, Nieboer *et al* (1978) infirieron que el polvo de suelo era frecuentemente atrapado por el líquen. Alrededor de fuentes de contaminación, la ocurrencia de partículas en el interior de los líquenes ha sido frecuentemente demostrada con procedimientos de análisis y escaneo con microscopio electrónico <sup>(60, 86)</sup>.

Este tipo de atrapamiento de partículas ricas en metales es dudosamente responsable de cargas de elementos extremadamente altas reportadas en literatura relativa al tema. Por ejemplo, Tomassini *et al* (1976) midieron las concentraciones de Ni ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) de 221 a 310; Fe, de 1700 a 5200; y Cu, hasta 250.

Similarmente, en la cercanía de un complejo de acero en Inglaterra, Seaward (1873) reporta concentraciones ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) en *Pertigera rufescens* tan altas como 90000 en Fe, 5000 Mn, 91 Cu, 127 Cr, 454 Pb y 38 Ni. En la ciudad de Leeds, Seaward (1988) también reportó concentraciones ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) tan altas como 35800 Fe, 349 Mn, 159 Cu, 97 Cr, 3124 Pb y 183 Ni, para *Lecanora muralis*. Para visualizar las concentraciones de otros estudios se muestra la siguiente tabla, una mayor cantidad de referencia es citada por Nash (1989).

Tabla 9: Contenido de elementos elegidos en líquenes de sitios cercanos a regiones industrial / urbana y regiones de entomo. Nash (1996).

Elemento	Industrial / urban (ug g-1 dry wt)	Fuente (Referencia)	Entorno (ug g-1 dry wt)	Referencia
Ce	2.2 - 7.2	Planta de energía (Olmez <i>et al</i> 1985)	0.18 - 0.89	Gough <i>et al</i> (1988)
Na	1000 - 6000	Brisa marina (Nieboer <i>et al</i> 1978)	50 - 1000	Nieboer <i>et al</i> (1978)
U	3.0 - 151	Mining (Boileau <i>et al</i> , 1982)	0.5 - 1.0	Beckett <i>et al</i> (1982)
As	128 - 11400	Fundidora de oro (Hocking <i>et al</i> , 1978)	0.06 - 2.21	Puckett (1978)
Ni	8 - 312	Fundidora de Niquel (Tomassini <i>et al</i> , 1976)	1.7 - 5.5	Puckett (1978)
V	150 - 578	Wood pulp mill (Laaksovirta y Olkkonen, 1979)	0.17 - 9.7	Puckett (1978)
Zn	1000 - 25000	Fundidora (Nash, 1975)	10 - 30	Nash (1975)
Cu	15 - 250	Fundidora de Niquel (Tomassini <i>et al</i> , 1976)	0.7 - 5	Puckett y Burton (1981)
Hg	0.40 - 0.87	Planta cloro - alcalina (Lodenus y Laaksovirta, 1979)	0.009 - 0.101	Pakarinen y Haesaenen (1983)
Pb	111 - 270	Helsinki (Laaksovirta <i>et al</i> , 1976)	0.4 - 9.2	Puckett (1978)

## 5.7. Acumulación de metales

La acción de la lluvia, superficie de agua y la difusión ascendente del sustrato, hacen que minerales disueltos entren en contacto con el talo líquénico <sup>(124, 126)</sup>. La cantidad de cada tipo de ión metálico que puede ser acumulado por un líquen depende de las características de incorporación que tiene esa especie en particular y la cantidad y disponibilidad de iones metálicos que hay en el ambiente que lo rodea.

La incorporación extracelular de iones metálicos es esencialmente un proceso pasivo de intercambio iónico determinado por el carácter de los ligandos que existen en la pared celular fúngica. La incorporación intracelular está limitada por la naturaleza del ión metálico, la permeabilidad de la membrana celular y la concentración de los ligandos extracelulares con afinidad por cationes <sup>(175)</sup>.

### 5.7.1. Comportamiento de metales acumulados por líquenes

**Plomo:** Los líquenes son acumuladores de plomo muy eficientes, el cual es captado a través de aerosoles, caída de partículas de metales o lluvia ácida. El plomo 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. Los efectos tóxicos de Pb en líquenes son mínimos. Algunas especies pueden acumular más de 2000 ppm, luego estas concentraciones no se incrementan, indicando un grado de disminución fisiológica. Los restos de contenido de plomo han probado ser útiles para establecer límites máximos de emisiones (preindustriales) los cuales pueden ser referenciados para presentar niveles de emisión oficiales <sup>(102)</sup>.

**Niquel:** El niquel es tomado por las células de alga en los líquenes.

**Mercurio:** El mercurio es fácilmente acumulado por los líquenes. Para este elemento, se tomaron valores base de aproximadamente 0.233 ppm, sin embargo, Lodenius (1981), efectuó un estudio a 8 km de una planta cloro alcalina y las muestras que analizó resultaron con concentraciones de 0.53 ppm.

**Cromo:** Schutte (1977) reportó que la acumulación de cromo en líquenes de Ohio incrementó de dos a diez sobre las concentraciones medidas durante el siglo anterior.

**Cobre:** Nieboer *et al* (1978) <sup>(124)</sup> documentaron 2 fases de incorporación de cobre en *Umbilicaria muhlenbergii*. En la primera fase los iones de cobre se unen a sitios receptores en células de algas. En la segunda fase, los iones de cobre se unen a células fúngicas, como ha sido evidenciado por el flujo de K<sup>+</sup>.

**Zinc:** El zinc es encontrado en concentraciones altas (200 – 600 ppm) en líquenes cercanos a fundidoras de dicho elemento.

## 5.8. Compartimentalización de elementos entre líquenes

Existen iones entre las diferentes capas de los líquenes, y por esto es que no están igualmente distribuidos en el talo liquénico. Analizando fracciones extraídas de líquenes, Brown y colaboradores estimaron las distribuciones de cationes en: (i) fracción intercelular y superficial, (ii) fracción de espacio de intercambio iónico, (iii) fracción intracelular y (iv) fracción residual. Ellos realizaron un procedimiento de extracción con ácido nítrico y los resultados que



se obtuvieron indican que es necesaria mayor investigación. Por ejemplo, asumir que la fracción residual es parte de la fracción intracelular podría no ser correcto.

El atrapamiento externo de partículas es probablemente una ocurrencia común para ambientes limpios y ambientes contaminados. Los procedimientos de lavado no necesariamente remueven todo o una gran fracción de las partículas atrapadas en el talo liquénico. Sin embargo, es esencial saber donde están localizados los elementos para comprender su importancia fisiológica.

### **5.9. Estudios de liberación**

Los líquenes son útiles como biomonitores en estudios de liberación ambiental por varias razones <sup>(138)</sup>. Muchas especies tienen una distribución geográfica amplia y eso permite generar documentación de patrones espaciales. En adición, como organismos de lento crecimiento, mantienen una morfología bastante uniforme con el tiempo y sus partes no se separan tan fácilmente como las plantas vasculares (Por ejemplo, hojas). Además, los cambios morfológicos en los líquenes afectan mínimamente las características de liberación.

En algunos casos, como el liquen *Cladonia stellaris* y la epifita, *Evernia prunastri*, las ramificaciones tienen formas definidas y por tanto, es posible contar con documentación sobre los contaminantes que ingresan, ya que éstos se inmovilizan una vez depositados.

Quizás lo más importante es que los líquenes son capaces de acumular muchos elementos en concentraciones que exceden sus requerimientos fisiológicos y por ello, los patrones de liberación son distinguibles de las cargas normales de elementos.

Estudios de acumulación elemental en líquenes alrededor de fuentes de contaminación son numerosos <sup>(120)</sup>. Algunos ejemplos son citados en la Tabla 7 y pueden ser utilizados como referencia para estudios más recientes. En la mayoría de los casos, las concentraciones distintamente elevadas son encontradas cerca a fuentes de contaminación en comparación a aquellas en

áreas que se encuentran alejadas. En el caso de fuentes de contaminación aisladas, las concentraciones decrecen logarítmicamente en razón a la distancia<sup>(126)</sup>

La definición de lo que son concentraciones “naturales” podría ser bastante compleja, debido a problemas como la heterogeneidad de sustratos, la influencia de fuentes limpias en la acumulación y los valores impuestos por límites de detección analítica, del mismo modo, la cada vez más amplia ocurrencia de industrialización en latitudes templadas ha llevado al transporte de contaminantes a través de largas distancias a áreas remotas.

Otro reto es la medida del efecto de la incorporación de elementos al interior de los líquenes. Una solución es usar el procedimiento de calcular factores de enriquecimiento (Enrichment Factor – EF) para cualquier elemento (X) en la relación líquen-roca o suelo<sup>(137)</sup> de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$EF = \frac{\text{(X/elemento referencia) en líquen}}{\text{(X/elemento referencia) en roca}}$$

Los elementos escandio y titanio son indicadores particularmente útiles de material rocoso porque no tienen función biológica conocida. Puckett y Finegan usaron escandio junto a la composición promedio aplicable de las rocas para un número de localidades a través del Norte de Canadá, al enfocar los ratios fue posible obtener un entendimiento de datos heterogéneos con respecto a valores absolutos.

Por ejemplo, los elementos: Al, Cr, Co, Fe, Na, Ti y V tenían ratios EF menores a 5 (aunque los valores absolutos de Al variaban marcadamente, el ratio Al/Sc era relativamente constante) y esto fue interpretado implicando que el origen era principalmente material rocoso. En contraste, los valores EF para otros elementos eran mayores y en un rango mayor a 1958 para Cl en *Thamnolia subuliformis*. Los elementos con valores EF generalmente sobre 100 para las especies de líquenes más comunes incluyen Sb, Cl, Pb y S, y esos ratios EF fueron interpretados como indicadores de origen no-rocoso.

Los estudios de liberación no son limitados a metales, también incluyen la liberación de aniones asociados con la lluvia ácida y los compuestos orgánicos persistentes asociados con las actividades agrícolas e industriales. Por ejemplo, tanto Bruteig (1993) en Noruega y Takala *et al* (1985) en Finlandia han documentado las gradientes de liberación de sulfatos a lo largo de los transectos trazados de sur a norte entre sus países. Al desplazarse hacia el sur, los contaminantes con nitrógeno son más comunes en regiones con alto tráfico vehicular.

En Los Angeles, Boonpragob *et al* (1989) documentó la existencia de liberación de nitrato, de la cual, la mayor parte posiblemente se debía a  $\text{HNO}_3$  (más de  $170 \mu\text{mol g}^{-1}$ ), en relación a un líquen transplantado por más de 10 semanas durante el periodo de verano. Los contaminantes orgánicos persistentes tienen como mayor ventaja que la mayoría no ocurre naturalmente, de este modo, las confusiones concernientes a los valores máximos que deben mantener no son preocupantes.

Las gradientes de sur a norte de hidrocarburos clorados, los congéneres del bifenil policlorado (PCB) y los isómeros de hexaclorocicloexano (HCH) fueron establecidos por Muir *et al* (1993) en Canadá, y similarmente, Carlberg *et al* (1983) encontraron en Noruega gradientes de acumulación de hidrocarburos clorados e hidrocarburos poliaromáticos (PAH) cuyo desplazamiento se realizaba de sur a norte. La acumulación de hidrocarburos clorados en líquenes en áreas tan remotas como Antártica <sup>(10)</sup> es prueba de la eficiencia de desplazamiento amplio de estos contaminantes.

### **5.10. Toxicidad de metales sobre líquenes**

Uno de los más claros ejemplos de toxicidad por metales fue encontrado por Nash en 1975 <sup>(119)</sup> alrededor de una fundidora de Zinc en Palmerton, Pennsylvania, EUA. En un área de control, 84 especies de líquenes fueron encontradas, pero en la zona de impacto extremo solo 9 especies sobrevivieron <sup>(118)</sup>. Solo dos de los sobrevivientes, *Micárea trisepta* en las rocas y *Scoliciosporum chlorococcum* en árboles, eran abundantes en el sitio contaminado y ambas tenían mayor abundancia en el área contaminada que en

el área de control. Las especies restantes encontradas en cantidades pequeñas en el área contaminada incluían a: *Acarospora fuscata*, *Aspicilia cinerea*, *Cladonia sp*, *Hypocenomyce scalaris*, dos especies del género *Lepraria* y *Verrucaria nigrescens*.

Cerca a la fundidora, los elementos como: Zn, Cd y SO<sub>2</sub> estaban presentes en concentraciones suficientes para ser tóxicos para muchas especies de líquenes. Buchauer (1973) reportó concentraciones de zinc y cadmio tan altas como 13.5% (Zn) y 0.18% (Cd). Ciertamente, mucho de Zn y Cd representaban óxidos metálicos insolubles, pero soluciones equilibrio hechas como una mezcla de agua de suelos superiores resultó en concentraciones de 200 – 1000 μM g<sup>-1</sup> Zn dentro de a 2 a 3 km de la fábrica y hasta 8 μM g<sup>-1</sup> Cd.

Sin embargo, a una distancia de 16 km las concentraciones se redujeron de 7.6 μM g<sup>-1</sup> Zn y 0.18 μM g<sup>-1</sup> Cd. Esa solución de equilibrio brindó la mejor aproximación para concentración de solución de suelo y del mismo modo una medida de soluciones de metales a la cual los líquenes habitantes de suelo habían estado expuestos y del mismo modo brindaron una medida de las soluciones de metales a los cuales los líquenes habitantes de suelo habían estado expuestos (Por ejemplo, especies de *Cladonia* y *Peltigera*).

La compartimentalización de los metales en los líquenes no fue especialmente investigada, pero es claro, de estudios subsecuentes <sup>(28)</sup> que una mayor porción del sitio de intercambio de cationes había sido ocupado por Zn y secundariamente Cd y que Zn y Cd adicional serían transferidos al citoplasma. Experimentalmente cuatro especies, encontradas en el área de control pero no en el área contaminada, fueron encontradas sensibles a la solución de Zn y Cd. En particular, para *Cladonia uncialis* y *Lasallia papulosa*, se hizo evidente una disminución en la fotosíntesis, así como la cantidad de energía que se utiliza para la respiración ocurrida respectivamente a 200 μM Zn o Cd <sup>(119)</sup>.

Adicionalmente, el crecimiento de los cultivos de alga de *Cladonia cristatella* y *Flavoparmelia caperata* revelaron una inhibición de crecimiento significativa a los 50μM Zn o Cd. Aunque las pocas especies sobrevivientes cerca de la fundidora

no fueron especialmente investigadas, estos datos, junto con la ocurrencia de más de 2.5% de Zn y 334  $\mu\text{g g}^{-1}$  Cd en *Verrucaria nigrescens* y 2.3% Zn y 329  $\mu\text{g g}^{-1}$  Cd en *Micárea trisepta* en áreas a 2 km de la fundidora <sup>(119)</sup>, permitieron concluir que las especies sobrevivientes deben ser tolerantes a Zn y Cd.

Un trabajo subsecuente en Inglaterra con soluciones de Zn 1 mM por Brown y Beckett en 1984 <sup>(37)</sup> mostró la reducción en la fotosíntesis (como tal) del 5 al 40% en diez especies de líquenes que contienen cianobacterias en los géneros: *Collema*, *Lichina*, *Lobaria*, *Nephroma*, *Peltigera* y *Sticta*. Adicionalmente, para *Peltigera horizontalis*, las reducciones en fotosíntesis a menos del 50% fue demostrada por soluciones 100  $\mu\text{M}$  Cd, Cu o Zn.

Estos resultados podrían ayudar a explicar porque las especies de *Peltigera* fueron encontradas en el área de control, pero no cerca de la fundidora de Zn de Pennsylvania <sup>(118)</sup>. En un trabajo previo, Beckett y Brown <sup>(28)</sup> investigaron las poblaciones de *Peltigera* en una gran variedad de sitios mineros naturales, viejos y abandonados. Utilizando la siguiente formula, el índice de tolerancia de Zn (ZTI) puede ser calculado como:

$$\text{NTI} = 100 \times \frac{\text{Ratio de fotosíntesis después de tratamiento con metales}}{\text{Ratio de fotosíntesis después de tratamiento con agua}}$$

Donde el tratamiento con metales consistía en sumergir las muestras en soluciones de 100  $\mu\text{M}$  Zn por 30 minutos. Las respuestas de 10 a 88% con mayor tolerancia venían de las zonas mineras.

### 5.11. Tolerancia a metales

Los líquenes que ocurren en sustratos metalíferos acumulan una concentración significativa de metales y forman distintas asociaciones de especies (Por ejemplo, la "alianza" *Acarosporion sinopicae* con tres asociaciones llamadas *Acarosporium sinopicae* Hil. 1923, *Lecanoretum epanorae* Wirth 1972, y *Lecideion inopis* Purvis), lo que refleja la variación en el contenido de metales del sustrato. Los géneros más comunes que contienen especies altamente tolerantes a metales incluyen *Acarospora*, *Aspilicia*, *Cladonia*, *Lecanora*,

*Lecidea*, *Porpidia*, *Rhizocarpon*, *Stereocaulon* y *Tremolecia*. Muchas especies muestran un algo grado de especificidad por estos sustratos y de hecho, podrían tener distribuciones separadas reflejando la disponibilidad de los mismos.

Naturalmente, la ocurrencia de concentraciones elevadas puede ser bastante extraordinaria (Tabla 7), por ejemplo, en las Montañas Harz de Alemania, Noeske *et al* (1970) reportaron las siguientes concentraciones ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) de 60 a 410 Cu, 125 a 2750 Pb, 150 a 436 Zn y 170 a 270 Sb, en 5 líquenes. En Noruega y Suiza, alrededor de minas de Cu abandonadas, Purvis en 1984 <sup>(139)</sup> reportó concentraciones de 5.3 a 5.9 % en dos especies. Similarmente en California, Czehura (1977) reportó valores de Cu de 0.25 a 2.3 % en cuatro especies. Finalmente, en los viñedos de Europa central, reportó a la especie *Lecanora vinetorum* con concentraciones de Cu arriba de 5000  $\mu\text{g g}^{-1}$ , esta especie es famosa por su tolerancia a esprays antifúngicos con contenido de Cu.

Lange y Ziegler (1963) propusieron que los mecanismos de tolerancia podrían involucrar (i) tolerancia inherente al citoplasma, (ii) inmovilización y detoxificación citoplasmática de iones por combinación química y (iii) transporte (o retención) de iones en regiones externas a la membrana e incluso la pared celular. Actualmente existe evidencia sustancial que señala varios mecanismos diferentes que involucren la última posibilidad, sin embargo, no hay información a favor o en contra de las primeras dos alternativas. Adicionalmente, Beckett y Brown (1984) <sup>(28)</sup> han demostrado que la competición entre iones puede llevar a la reducción en la incorporación de iones tóxicos al interior del citoplasma. El secuestro externo de metales como parte de los cristales formados externamente en las hifas es un mecanismo de evadir la intoxicación. Por ejemplo, Purvis (1984) <sup>(139)</sup> demostró por una combinación de difracción de rayos X, espectroscopía infrarroja y microanálisis de sondeo de electrones, que los líquenes *Acarospora rugulosa* y *Lecidea theiodes*, con una concentración de 5% de Cu (peso seco) habían secuestrado la mayor parte del Cu como cristales de oxalato de Cu. Subsecuentemente Purvis *et al* (1987) mostraron que otros dos líquenes tolerantes a Cu, *Acarospora smaragdula* y *Lecidea lactea*, son capaces de formar complejos de ácido Cu-norstictico en las cortezas de especímenes distintivamente verdes. El ácido norstictico es un producto secundario muy

común en los líquenes y se cristaliza en el exterior de las hifas del hongo liquenizado.

En el caso de entornos contaminados, está claro que la mayor porción de los metales están presentes en formas no solubles (como óxidos metálicos) y por esto podrían encontrarse fisiológicamente inactivos mientras no se solubilicen.

Los efectos competitivos de los diferentes iones en diferentes concentraciones deberían afectar también la incorporación de los mismos. Por ejemplo, Beckett y Brown (1984) <sup>(28)</sup> mostraron que soluciones equi-molares de los cationes Co, Mg, Mn y Ni inhiben del 40 al 50 % y Zn inhibe 32 % de la incorporación intracelular de Cd. Debido a que metales como Zn y Cd frecuentemente co-ocurren, los efectos competitivos podrían resultar en bajas concentraciones internas de metales.

En particular Beckett y Brown (1984) <sup>(28)</sup> observaron una reducción en la incorporación intracelular de Cd en poblaciones de *Peltigera* colectadas respectivamente de un viejo sitio minero donde las concentraciones de Zn y Cd más altas ocurrían en el suelo, y un área control. De este modo, la exclusión competitiva de iones desde el citoplasma es un mecanismo adicional de tolerancia.

La relación entre el área de intercambio de cationes extracelular en la pared celular y las incorporaciones intracelulares necesitan mayor investigación. Inicialmente Brown y Beckett (1984) <sup>(28)</sup> sugirieron que esta área debería actuar como un catalizador para el flujo interno de cationes. Sin embargo, luego reconocieron que es más bien una fuente de cationes, porque las uniones hacia sitios de intercambio externo es reversible. En particular para especies de *Cladonia* y *Peltigera*, Brown y Beckett (1985) <sup>(38)</sup> demostraron movilización de Cd desde sitios extracelulares y transferencia al interior del citoplasma durante la incubación en agua deionizada seguida de una saturación inicial de sitios de intercambio externo con soluciones de 300  $\mu$ M Cd.

Una vez que los metales están dentro del citoplasma se sabe que los centros de unión en proteínas y enzimas satisfacen los requerimientos de reactividad de ciertos iones metálicos, llamados Clase A, B y borderline por Nieboer y Richardson (1980) <sup>(125)</sup>. La especificidad de los metales que ocupan estos centros de unión esta relacionada a su tamaño y geometría tanto como a su tipo de ligando.

Consecuentemente, Ochiai (1977) dividió los mecanismos de toxicidad de iones metálicos en tres categorías: (i) bloqueo de funciones biológicas esenciales de grupos de proteínas y enzimas (ii) desplazamiento de metales esenciales en proteínas y enzimas, o (iii) modificación de la conformación activa de enzimas y proteínas (biomoléculas). En estudios de iones específicos, Nieboer *et al* (1978) <sup>(124)</sup> encontraron que el Pb también afecta la permeabilidad de la pared celular y causa un flujo de K<sup>+</sup>, lo cual está correlacionado con un decremento en la fijación de carbono.

Existe evidencia de que al menos algunos líquenes son más tolerantes a concentraciones internas de iones metálicos que otros líquenes, pero el mecanismo particular celular que permite esta tolerancia aún se desconoce. La tolerancia a metales podría ser una característica adquirida fenotípicamente, pero la sensibilidad de los líquenes a elevadas concentraciones de metales en los tejidos varía en gran medida entre especies, poblaciones y elementos <sup>(175)</sup>.



## VI. OBJETIVOS

### **Objetivo general**

Demostrar que se puede utilizar líquenes como bioindicadores y mostrar que el uso de bioindicadores para medir contaminación ambiental es más eficiente, de acuerdo a las ventajas que presentan por permitir el acceso a datos relativos a un organismo vivo y, del mismo modo, comprobar la factibilidad del mismo, en relación a las condiciones socio-económicas de las comunidades que se encuentran en los alrededores de las empresas mineras.

### **Objetivos específicos**

Demostrar que diferentes fuentes y niveles de contaminación con metales pesados afectan a la estructura de comunidades liquénicas en las regiones altoandinas, tanto la presencia y ausencia y la abundancia como la diversidad de las especies

Identificar las especies de líquenes que pueden servir como principales bioindicadores para contaminación con metales pesados en áreas mineras, concentrándose en especies indicadores de diferentes formas de contaminación.

Elaborar una guía de campo con imágenes para las especies bioindicadores que podrían ser usadas por las comunidades locales.

Medir las concentraciones de metales pesados (cobre, zinc, plomo, cadmio, plata, arsénico, manganeso) en muestras de líquenes seleccionados de áreas con diferentes fuentes de contaminación, para evaluar el nivel de acumulación.

Determinar si existe absorción de metales pesados en talos liquénicos al enjuagarlos con soluciones específicas de metales pesados, y determinar si existe remoción de metales pesados al sumergir líquenes en agua ultra pura, con el fin de utilizarlos como indicadores de nivel de contaminantes en el agua y como posibles agentes de "limpieza".

## VII. MATERIALES Y MÉTODOS

### 7.1. Áreas de colecta

Las tomas de muestras se realizaron en dos áreas adyacentes, ubicadas en el distrito de Huay Huay, provincia de Yauli, Región Junín, entre 4700 - 4900 msnm



Figura 18: Mapa de la Región Junín y ubicación en la República del Perú, indicando ubicación y tipo de unidades mineras. Fuente: Empresa Minera Volcan S.A.A.

### 7.2. Datos generales

Junín es una región que en su mayor parte está constituida por altiplanicies elevadas, por encima de los 4000 msnm, comprendidas entre la cordillera occidental de los Andes y el río Ene. El clima es frío en las tierras altas y más cálido y húmedo en la parte oriental. Una de las actividades económicas más importante de la región es la minería, la cual se encuentra concentrada principalmente en la provincia de Yauli. En la región se encuentran parte de los yacimientos más importantes de bismuto, cadmio, estaño, sílice, plata, plomo, zinc, oro, cobre y antimonio. De acuerdo a las actividades de exploración recientes se ha descubierto también yacimientos de níquel y cobalto.

La flora que se desarrolla en los alrededores de las lagunas altoandinas es quizás una de las menos conocidas por su difícil acceso y por las condiciones extremas del clima, lo que dificulta su estudio; no obstante, algunas

contribuciones recientes, como las de: Tovar (1973, 1990), Tapia & Flores (1984), Smith (1988), Young & León (1990), Young & Cano (1994) <sup>(160, 171, 172, 187, 188)</sup> referidas a esta vegetación resultan de suma importancia. De este modo, son conocidos ciertos grupos de vegetación como el césped de puna, los afloramientos rocosos, las herbáceas en los cauces de ríos, las hierbas sumergidas y ciertas comunidades anfibias que sobreviven en los ambientes acuáticos y que a su vez, gracias a adaptaciones vegetativas, también lo hacen en temporadas de carencia de lluvias.



*Figura 19. Vista general del pasaje en el área de colecta entre San Cristóbal y Andaychagua, con la vegetación de puna y afloramientos rocosos cubiertos con líquenes.*

Para obtener los datos de una posible contaminación diferencial entre las dos áreas de muestreo, éstas se ubicaron de modo que ambas quedaran a lo largo del río Andaychagua, con el área 1 cerca del punto nacimiento del río, geográficamente encima de cualquier actividad minera, y el área 2 directamente abajo del campamento minero de la Unidad Minera Andaychagua de Volcan Compañía Minera. Por otro lado, el área 1 se ubicó de tal manera que representaba una cumbre expuesta al viento y por lo tanto, también a la contaminación atmosférica difusa, mientras el área 2 quedó en un valle protegido de las corrientes de aire y por lo tanto menos expuesto a contaminación atmosférica.

Se asumió que el área 1 situada arriba del campamento minero no tenía una influencia directa de los posibles contaminantes disueltos en el agua y por lo tanto sirvió como “área de control”, mientras que el área 2 situada directamente abajo, al quedar a la par del lago de tratamiento de los efluentes de la unidad minera, sirvió como “área minera”, siempre teniendo en cuenta que el área de control podría tener una posible influencia por la contaminación atmosférica difusa.

### 7.3. Área minera

Debido a que el objetivo de la tesis que se presenta es demostrar la actividad de los líquenes en torno a lugares de alta actividad minera, se tomó como punto de base a la Unidad Minera Andaychagua (Volcan Compañía Minera S.A.A.), por ser una unidad minera de tipo Polimetálico en la cual se efectúa una alta extracción de minerales plata, plomo y zinc.



Figura 20: Unidad Minera Andaychagua. Fuente: Empresa minera Volcan.



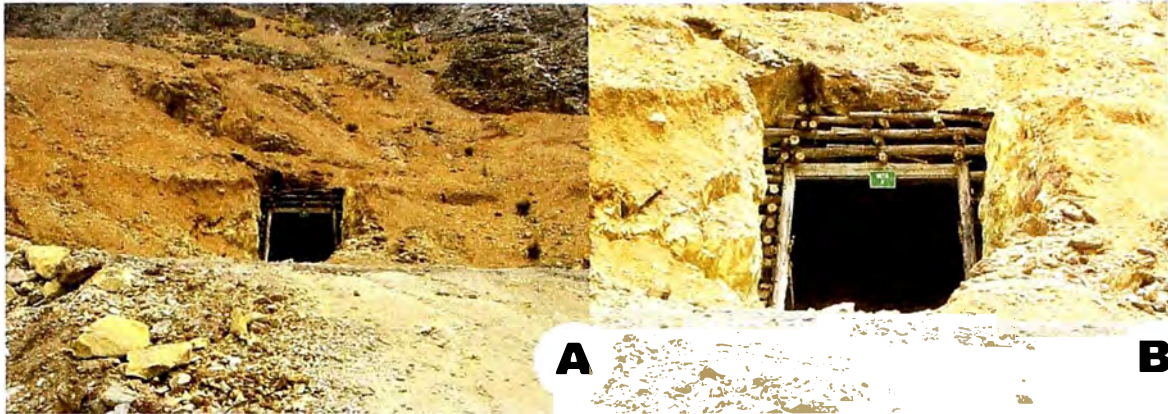


Figura 21: (A) Vista de Veta desde punto de colecta inicial, a 300 m. aproximadamente. (B) Acercamiento de imagen para visualizar el rótulo de la Veta (Veta X).

Volcan Compañía Minera administra también la unidad minera San Cristóbal y dos unidades adicionales, asimismo, una planta de procesamiento. Todas ellas se encontraban bajo la administración de la empresa Mahr Túnel, del mismo modo, Volcan adquirió las unidades de CENTROMIN que se encontraban en Cerro de Pasco (involucradas en la contaminación que llega al Río Mantaro y el Lago Junín).

Existen unidades mineras con las características mencionadas pertenecientes a otras empresas, pero debido a la dificultad que existe en acercarse a las mismas para realizar colectas (se había intentado previamente en una Unidad Minera de menor altitud), se eligió una con mayor facilidad de colecta para realizar el estudio.

El área de toma de muestras cercanas a la mina se encuentra a 300 m del túnel de extracción (Fig. 21).

#### 7.4. Área de control

El área de control se eligió debido a que en teoría debía ser un área con una calidad ambiental no afectada directamente por la actividad minera. Por tanto se ubicó en un punto (Fig. 22) aproximadamente 3 km al noreste del área minera, estableciéndose como primer punto de colecta uno adyacente a un curso de agua naciente del río Andaychagua.



*Figura 22: Vista de proceso de toma de datos en el área de control, aprox. a 3 km del área minera, junto al curso naciente del río Andaychagua.*

Una revisión bibliográfica previa a la visita al área de control mostró que el material particulado (producto de la actividad de extracción de tres unidades mineras que se encuentran a distancias mayores de 50 km del punto de toma de datos de control) podría llegar por corrientes de aire hasta el área de control, lo cual se consideró como un factor adicional. Por lo tanto, técnicamente no se puede considerar al área de control como un área de contaminación debidamente baja o ausente, si no, sirve como área de control solo en términos de contaminación acuática por actividad minera directa, siendo que también sirve como referencia para estimar la contaminación indirecta por corrientes de aire.

### **7.5. Colecta de especies**

Para efectuar la colecta se decidió usar un muestreo estratificado en las áreas debido a que se sabe que la presencia de líquenes en zonas con las características ambientales como las elegidas se concentran en la superficie rocosa. Por lo tanto, mientras la estrategia general de muestreo fue un transecto longitudinal a lo largo del río por un total de 50 m en cada área, en cada punto de muestreo se eliminaron los estratos no rocosos y se eligieron 4 subpuntos de superficies rocosas, resultando en  $10 \times 4 = 40$  muestras en el área minera y 40 muestras en el área de control.

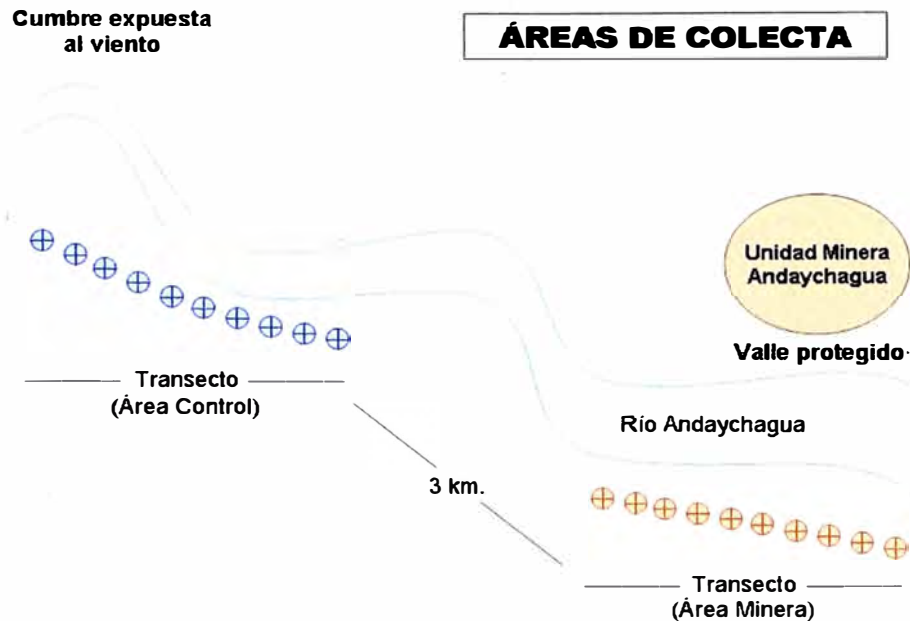


Figura 23: Plano de transectos trazados para efectuar las colectas de muestras tanto en el área de control como en el área minera. (Se consideraron como puntos del transecto aquellos que fueran rocas).

En el área de control, el punto inicial del transecto se localizó directamente en la cumbre, siguiendo el transcurso del río Andaychagua por 50 m y siempre manteniéndose 0-10 m al este del mismo río. En el área minera, el punto inicial del transecto se eligió tan cerca como fue posible al túnel de extracción y siguiendo el curso del río hasta la laguna de tratamiento de relaves de la unidad minera Andaychagua.

Para efectuar el muestreo, se utilizó una cámara digital CANON Powershot A620, con la cual se tomó fotos de cada muestra directamente en el campo, cada muestra tuvo una medida 75 x 50 cm<sup>2</sup>. Para algunas muestras seleccionadas, se utilizaron transparencias de 75 x 50 cm<sup>2</sup>, las cuales se colocaron sobre la superficie de la roca en la que coincidía el transecto y se delineó la cobertura de los líquenes presentes en el punto a muestrear con un plumón indeleble.



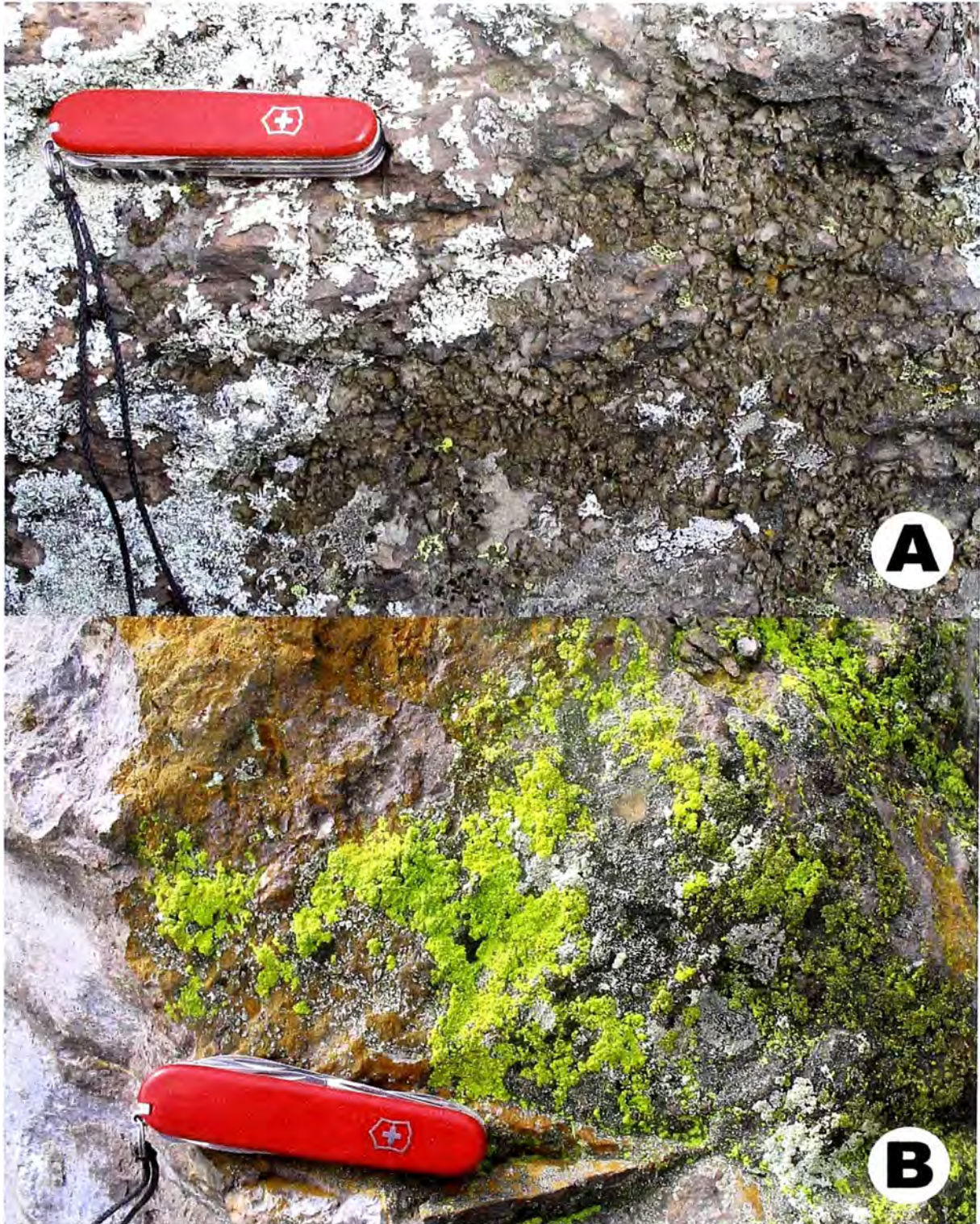


Figura 24. Muestras selectas del área minera. (A) Muestra no. 4, con talos umbilicados de *Umbilicaria hirsuta* y *U. leprosa* y talos ligeramente dañados de *Xanthoparmelia sp* (gris verde claro). (B) Muestra no. 33, con talos amarillos claros de *Acarospora squamosa* y algunos talos pequenos de *Xanthoparmelia sp*, entre otros.





Figura 25. Muestras selectas del área de control. (A) Muestra no. 18, con talos amarillos de *Candelaria vitellina*, talos negros umbilicados de *Umbilicaria kraschenikoswkii*, talos gris claros crustosos de *Rhizocarpon album*, entre otros. (B) Muestra no. 32, con talos grandes de *Xanthomendoza mendozae* (amarillo) y *Xanthoparmelia* sp (gris verde claro).



Debido a que en cada punto del transecto se encontraban varias especies de líquenes, se asignaron cuatro datos a cada muestra, de modo que se llevara un registro exacto de las muestras tomadas y las zonas visitadas.

De este modo, todas las muestras colectadas contaban con información relativa al área (control vs. minera), punto de transecto (de 1 a 10), subpuntos de cada punto de transecto (de 1 a 4) y afinidad taxonómica (de 1 a n, donde cada número representa un taxón visualmente diferente y n corresponde al número total de especies de líquenes que se encontraron en cada subpunto del transecto). Este método de colecta sigue los procedimientos acordes con los estándares internacionales establecidos para líquenes foliosos y crustosos, publicados por diversos autores <sup>(95)</sup>.

Se colectaron muestras de referencia (“vouchers”). Una vez retiradas del sustrato con ayuda de una navaja, las muestras fueron colocadas en sobres confeccionados con papel Kraft. Aquellas muestras que resultaron en trozos muy pequeños (por la dificultad de retirarlas del sustrato) fueron colocadas en tubos eppendorf de 10 µl para facilitar el transporte.

En ambas áreas también se tomaron muestras de suelo y agua para evaluar la presencia de metales y acidez, estos análisis fueron realizados en el laboratorio de Química de la Facultad de Ingeniería Geográfica de la Universidad Nacional de Ingeniería

#### **7.6. Identificación de las especies liquénicas**

Se procedió a realizar la identificación de los líquenes recolectados tanto en las muestras de control como minera hasta el nivel de género(s) y especie(s), para lo cual se consultó la bibliografía relacionada a identificación de líquenes, considerando también las características geográficas y ambientales del área estudiada.

Se tomaron porciones pequeñas de las muestras y se procedió a efectuar cortes tanto del talo como de los cuerpos fructíferos (en los casos en que fueron

necesarios) para efectuar una identificación exacta <sup>(36)</sup>. Para la identificación inicial a nivel de géneros, se utilizaron las claves disponibles en Internet de Harry Sipman y del libro de Brodo *et al* (2001) <sup>(36)</sup>, así como los dos volúmenes del libro de líquenes de Sonora <sup>(122)</sup>, y para las especies se utilizó la literatura particular relativa a para cada género y del mismo modo se efectuó una cromatografía de capa fina ('Thin Layer Chromatography' TLC). Una vez identificadas, se fotografiaron los talos haciendo uso de una cámara digital NIKON Coolpix 5400. Del mismo modo, se tomaron macrofotos de varias especies directamente en el campo usando una cámara digital CANON Powershot A620. Estas imágenes también sirvieron para elaborar una guía de campo para ser usada por las comunidades del área estudiada y que del mismo modo servirán de referencia para zonas aledañas.

En algunos casos, como el de la familia *Candelariaceae* y los géneros *Acarospora* y *Rhizocarpon*, se consultaron a los especialistas (Dr. Tassilo Feuerer - Institut fuer Allgemeine Botanik, Dr. Kerry Knudsen - UC Riverside Herbarium, Dr. Martin Westberg - Lund University), enviándoles fotografías y muestras en calidad de préstamo.

### **7.7. Análisis de datos**

Para visualizar los patrones diferenciales sobre la abundancia y composición de especies de líquenes en el área de control y minera, se utilizaron las técnicas de análisis multivariado <sup>(64, 111, 180)</sup>.

Estas técnicas se basan en la idea de que se pueden colocar las muestras de líquenes con sus correspondientes abundancias dentro de un "espacio" de especies de líquenes y viceversa. Ya que tanto el número de muestras como de líquenes es alto (en el presente caso 80 y 39, respectivamente), el "espacio" correspondiente es hiper- o multidimensional y no es posible hacer visualizaciones gráficas del mismo. Por lo tanto, las técnicas de análisis multivariado funcionan de tal manera que matemáticamente reducen el espacio hiperdimensional a través de un extracto de la información principal.

Esto es posible porque en general, existen correlaciones tanto entre muestras (abundancias de líquenes) como entre líquenes (abundancia de los mismos entre muestras). Estas correlaciones representan una redundancia en la información que se puede extraer de los datos, y eliminando esta redundancia se puede reducir el espacio hiperdimensional y calcular aproximaciones que permiten ser reproducidas y visualizadas en un gráfico de dos dimensiones.

Existen dos tipos principales de análisis multivariado: ordenamiento y clasificación. En el ordenamiento, los métodos correspondientes reducen el espacio multivariado a dos dimensiones, los que se pueden visualizar en un diagrama de ordenación. La localización de los puntos en tal diagrama se basa en las abundancias medidas, por ejemplo, en el presente caso, una ordenación de las 80 muestras funciona de tal manera que las muestras se colocan en el diagrama final como puntos según las abundancias de los líquenes presentes en cada muestra. Por lo tanto, los puntos de las muestras que se acercan en el diagrama tienen abundancias y composición de líquenes semejantes, mientras que los puntos de muestras que son distantes se distinguen significativamente en su composición y abundancia de las especies de líquenes.

El otro tipo de análisis multivariado es la clasificación o análisis de grupos ("clusters"), la cual generalmente resulta en un dendrograma. Un dendrograma ya no tiene dimensiones, es decir, se pierden completamente las posiciones relativas entre los puntos. Sin embargo, un dendrograma sirve para elucidar la estructura jerárquica en las muestras, analizando el patrón para la formación de los grupos.

Mientras en general los análisis multivariados trabajan solamente con las abundancias (u otros valores correspondientes), en algunos casos también se puede incluir variables ambientales en el cálculo. Esto puede hacerse directamente obteniendo correlaciones lineales entre los puntajes que se calculan durante el análisis para muestras y especies, y las variables ambientales; o indirectamente, sacando correlaciones lineales entre los ejes finales extraídos de un ordenamiento con las variables ambientales. En general no se sabe si las variables ambientales que se han medido tienen influencia en

la abundancia y composición de especies, por lo tanto es preferible hacer un análisis indirecto, porque el análisis directo podría enmascarar la estructura real de los datos colocando demasiado énfasis en correlaciones con las variables ambientales medidas en el campo.

Como se asumió la existencia de contaminación diferencial en las áreas de colecta, se esperaban patrones de distribución de líquenes correspondientes a la misma y por ello se realizó un análisis multivariado. En este análisis, la contaminación diferencial asumida entre el área de control y minera era una variable ambiental establecida en el diseño, y se asumió que era la variable dominante para la distribución diferencial de las especies en las muestras del área de control y área minera. Sin embargo, como fue mencionado anteriormente, hay que asumir que existen otras variables ambientales responsables de ciertos patrones de distribución, como por ejemplo la variación climática existente en el área de control y área minera. Estas variables, aunque no fueron medidas, podrán ser visualizadas en la distribución de los puntos en un diagrama de ordenamiento, y figurarán como gradientes eminentes en los datos o como "ruido" estocástico.

En el presente caso, se analizaron las comunidades liquénicas en el área de control y el área minera usando los siguientes métodos <sup>(64, 111, 180)</sup>:

- (1) el promedio ponderado ('weighted average' WA) para ordenar las especies según su preferencia por el área de control y el área minera, dándole peso 1 al área de control y peso 3 al área minera (de modo que las especies intermedias no diferenciadas recibieran un peso 2);
- (2) el ordenamiento de muestras basándose en la composición y abundancia de especies liquénicas, usando el método de escala multidimensional no métrica ('non-metric multidimensional scaling' – NMS) y el índice de similitud o semejanza de Sørensen (relativo);
- (3) los análisis de agrupamientos (cluster) de las muestras para verificar si existe estructura jerárquica en la composición y abundancia de especies liquénicas y evaluar las causas de tal estructura, usando el método de beta flexible (-0.25) y el mismo índice de similitud de Sørensen (relativo); y

(4) el análisis de especies indicadoras, para verificar cuales especies muestran preferencias significativas por el área de control y el área minera, respectivamente.

Para elegir los métodos de ordenación apropiados, se evaluó primero la existencia de linealidad y distribución normal con respecto a la relación de las abundancias de especies entre las muestras, analizando los gráficos, diagramas (scatterplots) e histogramas de todos los datos <sup>(111)</sup>. En caso de que existiera linealidad y distribución normal, se podrían utilizar métodos de ordenamiento particulares como el análisis de componentes principales o PCA.

Otros métodos de ordenación populares como el análisis de correspondencia requieren que exista un gradiente dominante en los datos. Sin embargo, los resultados iniciales mostraron que las relaciones no eran lineares y que existían al menos dos gradientes dominantes (una de ellas, la presencia de contaminación en las áreas de control y minera), y por lo tanto el método de ordenamiento más apropiado fue el de escala multidimensional no métrica. Se revisaron también otros métodos de ordenamiento como el Análisis de Correspondencia (Correspondence Analysis – CA), Análisis de Correspondencia Corregido (Detrended Correspondence Analysis – DCA), y Análisis de Correspondencia Canónica (Canonic Correspondence Analysis), pero la mejor representación de la estructura de los datos se reveló en el Análisis de Escala Multidimensional (NMS), por ser el que reflejó de manera más exacta el comportamiento de las muestras observado en el campo.

Los análisis estadísticos multivariados se hicieron utilizando el programa PC-ORD 4.0.

## **7.8. Diseño de análisis y experimentos**

Para los experimentos se utilizaron ocho isótopos de metales pesados los cuales corresponden a los elementos: Mn, Fe, Cu, Zn, As, Ag, Cd y Pb (Tabla 8). Estos isótopos se encuentran presentes en la naturaleza en los porcentajes que se mencionan (Tabla 8: Abund. Natural en % del total del elemento), cabe destacar

que en el caso del Fe, el isótopo más abundante es el Fe<sup>56</sup>, sin embargo, no se utilizó por generar interferencia con otro elemento de la misma masa (por esto se eligió el isótopo Fe<sup>57</sup>), esto se debe a la sensibilidad del equipo de análisis elemental.

Tabla 10: Descripción de isótopos utilizados tanto para el experimento como para las medidas en el análisis realizado con el equipo ICP-MS.

Símbolo	Descripción	Isótopo utilizado	Peso atómico	Número neutrones	Abund. Natural (%)	Vida Media	Observaciones
Mn	Manganeso	Mn <sup>55</sup>	54.9381	30	100	estable	Natural: Mn <sup>55</sup> . Sintético: Resto
Fe	Fierro	Fe <sup>57</sup>	56.9354	31	2.2	estable	Natural: Fe <sup>54</sup> , Fe <sup>56</sup> , Fe <sup>57</sup> , Fe <sup>58</sup> . Sintéticos: Resto
Cu	Cobre	Cu <sup>65</sup>	64.9278	36	30.83	estable	Natural: Cu <sup>63</sup> , Cu <sup>65</sup> . Sintético: Resto
Zn	Zinc	Zn <sup>66</sup>	65.926	36	27.9	estable	Natural: Zn <sup>64</sup> , Zn <sup>66</sup> , Zn <sup>67</sup> , Zn <sup>68</sup> , Zn <sup>70</sup> . Sintético: Resto
As	Arsénico	As <sup>75</sup>	74.9216	42	100	estable	Natural: As <sup>75</sup> . Sintético: Resto
Ag	Plata	Ag <sup>107</sup>	106.905	60	51.84	estable	Natural: Ag <sup>107</sup> , Ag <sup>109</sup> . Sintético: Resto
Cd	Cadmio	Cd <sup>111</sup>	110.904	63	12.8	estable	Natural: Cd <sup>106</sup> , Cd <sup>108</sup> , Cd <sup>110</sup> , Cd <sup>111</sup> , Cd <sup>112</sup> , Cd <sup>114</sup> , Cd <sup>116</sup> . Sintético: Resto
Pb	Plomo	Pb <sup>208</sup>	207.9766	126	52.4	estable	Natural: Pb <sup>206</sup> , Pb <sup>207</sup> , Pb <sup>208</sup> . Sintético: Resto

Debido a que se deseaba determinar, primero, la concentración de metales pesados en las muestras del área de control y minera, segundo, la absorción y tercero, la remoción de metales al exponer a las muestras a condiciones características de agua, se realizaron tres diseños experimentales y tres diseños de mediciones (véase abajo).

### 7.8.1. Análisis elemental utilizando espectrometría de masas con fuente de plasma acoplada inducidamente (ICP-MS)

La espectrometría de masas con fuente de plasma acoplada inducidamente ICP-MS es una poderosa técnica analítica multi-elemental desarrollada a principios de los años ochenta, que ha revolucionado los análisis inorgánicos, fundamentalmente debido a la rapidez del análisis, los límites de detección, la capacidad isotópica y la versatilidad, lo que hace posible la determinación de prácticamente cualquier elemento químico presente a nivel de traza en todo tipo de muestra <sup>(178)</sup>. El ICP-MS es una técnica de análisis inorgánico que es capaz

de determinar y cuantificar la mayoría de los elementos de la tabla periódica en un rango dinámico lineal de 8 órdenes de magnitud (ng/l-mg/l).

Para medir la concentración de metales pesados con el equipo ICP-MS, se utilizó el protocolo de preparación de muestras para análisis de metales en líquenes escrito por Laure Dussubieux, encargada del laboratorio de Análisis Elemental del Field Museum de Chicago (Sample preparation for analysis of metal in lichens, January 2006 - Written by Laure Dussubieux, Field Museum of Natural History).

Se tomó una muestra de 60 a 200 mg de muestra de líquen deshidratado y pulverizado y se colocó en un recipiente contenedor de Teflón para ser utilizado en el sistema de digestión luego se colocaron 9 ml de HNO<sub>3</sub> ultra puro y 1 ml de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al contenedor. Antes de sellar los contenedores, fue necesario esperar aproximadamente 30 minutos para permitir el escape del gas.

Los contenedores sellados (10) fueron colocados en el sistema de digestión de microondas. El programa utilizado para la digestión fue:

- 5 min., 1000 W de potencia, temperatura ambiente a 180 °C
- 10 min., 1000 W de potencia, temperatura estable a 180 °C

La solución resultante fue filtrada utilizando papel filtro para remover las partículas sólidas que hubieran haber quedado y fue diluida 4 veces en agua ultra pura. Esta solución fue diluida 100 veces más, debido a la agudeza de la lectura que efectúa el equipo. Se añadió un estándar interno, "Indio" (In<sup>115</sup>) fue añadido a la solución de modo que su concentración en los análisis sería de 20 mg.L<sup>-1</sup> ppb. Se utilizaron 4 soluciones estándar, las cuales contenían los elementos de interés (Mn, Fe, Cu, Zn, As, Ag, Cd, Pb) con concentraciones de 20, 40, 100 y 200 mg.L<sup>-1</sup>ppb. Estas soluciones estándar contienen también al elemento "Indio" como estándar interno.

El cálculo para determinar la concentración de cada elemento en la muestra de líquen se hizo de la siguiente manera:



Para el elemento X en la muestra, la concentración en la solución utilizando ICP-MS  $[X]^s_{\text{muestra}}$  fue:

$$[X]_{\text{estándar}} = K^x_{\text{estándar}} \times S^x_{\text{estándar}}$$

$$[X]^s_{\text{muestra}} = K^x_{\text{muestra}} \times S^x_{\text{muestra}}$$

Se asumió que:  $K^x_{\text{estándar}} = K^x_{\text{muestra}}$ .

$$[X]^s_{\text{muestra}} = ([X]_{\text{standard}} / S^x_{\text{standard}}) \times S^x_{\text{muestra}}$$

$[X]^s_{\text{muestra}}$  estaba expresado en  $\text{mg.L}^{-1}$  ppb

La solución analizada fue diluida 400 veces (4 veces y luego 100 veces). La concentración en la mezcla de digestión de  $\text{HNO}_3$  y  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $[X]^d_{\text{muestra}}$  fue:

$$[X]^d_{\text{muestra}} = 400 \times [X]^s_{\text{muestra}}$$

$[X]^d_{\text{muestra}}$  estaba expresada en  $\text{mg.L}^{-1}$  pb o ppm si es dividida entre  $10^3$ .

La masa del elemento  $m^x_{\text{muestra}}$ , correspondiente a la concentración del elemento en la mezcla de digestión fue:

$$m^x_{\text{muestra}} (\text{g}) = \{[X]^d_{\text{muestra}} (\text{ppm}) / 10^6\} \times m_{\text{mezcla de digestión}} (\text{g})$$

Finalmente, la concentración (en  $\text{mg.L}^{-1}$  ppm) del elemento X en el líquen,

$[X]^l_{\text{muestra}}$  fue:

$$[X]^l_{\text{muestra}} (\text{mg.L}^{-1} \text{ ppm}) = m^x_{\text{muestra}} (\text{g}) / m_{\text{liquen}} (\text{g}) \times 10^6$$

### A. Experimento 1: Enriquecimiento de líquenes selectos con metales pesados

Tomando como base el experimento realizado por Haas *et al* (1998), se preparó 100 ml de solución de agua ultra pura con una concentración de 100 ppm cada uno de los elementos Mn, Fe, Cu, Zn, As, Ag, Cd, Pb, la cual fue repartida en tubos de 15 ml donde se sumergieron muestras de líquenes por un período de 24 horas a temperatura de ambiente. El pH de la solución fue controlado a  $\text{pH} = 5$ . Estas muestras fueron posteriormente deshidratadas y sometidas al análisis elemental.

### B. Experimento 2: Liberación de metales pesados

Tomando como base el experimento mencionado anteriormente, se repartió 100 ml de agua ultra-purificada en tubos de 15 ml donde se sumergirían muestras de líquenes por un período de 24 horas a

temperatura de ambiente. El pH del agua fue controlado a pH = 5, el cual era el pH que se midió en el agua ultra pura. Estas muestras serían posteriormente deshidratadas y sometidas a análisis elemental.

### 7.8.2. Selección y preparación de muestras

Las muestras de líquenes que se sometieron a medidas de metales pesados y a los dos experimentos anteriormente mencionados fueron recolectadas tanto en el área de control como en el área minera. Para obtener tanto una representación taxonómica como una comparación entre las áreas de control y minera, se eligió por un lado especies de líquenes diferenciales entre los dos áreas, considerando los géneros *Lecanora* (control), *Leprocaulon* (minera), *Paraparmelia* (control), *Punctelia* (control) *Umbilicaria* (diferentes especies de control y minera), y *Xanthomendoza* (control), y por otro lado una especie común en ambas áreas (*Xanthoparmelia sp.*).

Las muestras fueron tomadas cuidadosamente con una navaja y colocadas en sobres de papel y frascos eppendorf, y una vez colectadas, se transportaron a Lima, donde fueron debidamente deshidratadas, exponiéndolas a temperatura de ambiente por 48 horas. Una vez deshidratadas se colocaron en sobres nuevos (exactamente como los primeros) y frascos eppendorf nuevos y se procedió a empaquetarlas para realizar el análisis de las mismas en el Field Museum of Chicago.

Una vez en el Museo, las muestras fueron limpiadas a profundidad y debido a que se deseaba determinar, primero: la concentración de metales pesados en las muestras, y segundo, tanto la absorción como la remoción de metales al exponer a las muestras a condiciones características de agua; se realizó lo siguiente:

1. Se evaluó el volumen de cada muestra disponible de cada ejemplar.
2. Aquellas muestras que contaban con un volumen cuyo peso seco sobrepasaba los 1000 mg (1 g), fueron separadas en dos grupos, un grupo de muestras con un peso de como mínimo 400 mg que serían sometidas a dos tipos de experimentos y análisis elemental y otro grupo que sirvió para preparar

especímenes de referencia para la identificación para ser depositados en la colección de líquenes de la Universidad Peruana Cayetano Heredia y en el Field Museum (F).

3. Del grupo formado para realizar el análisis elemental se eligieron aquellas que superaban los 300 mg; que fueron repartidas en dos grupos, los que serían sometidos a los experimentos necesarios para verificar tanto la absorción como la remoción respectivamente de metales pesados.

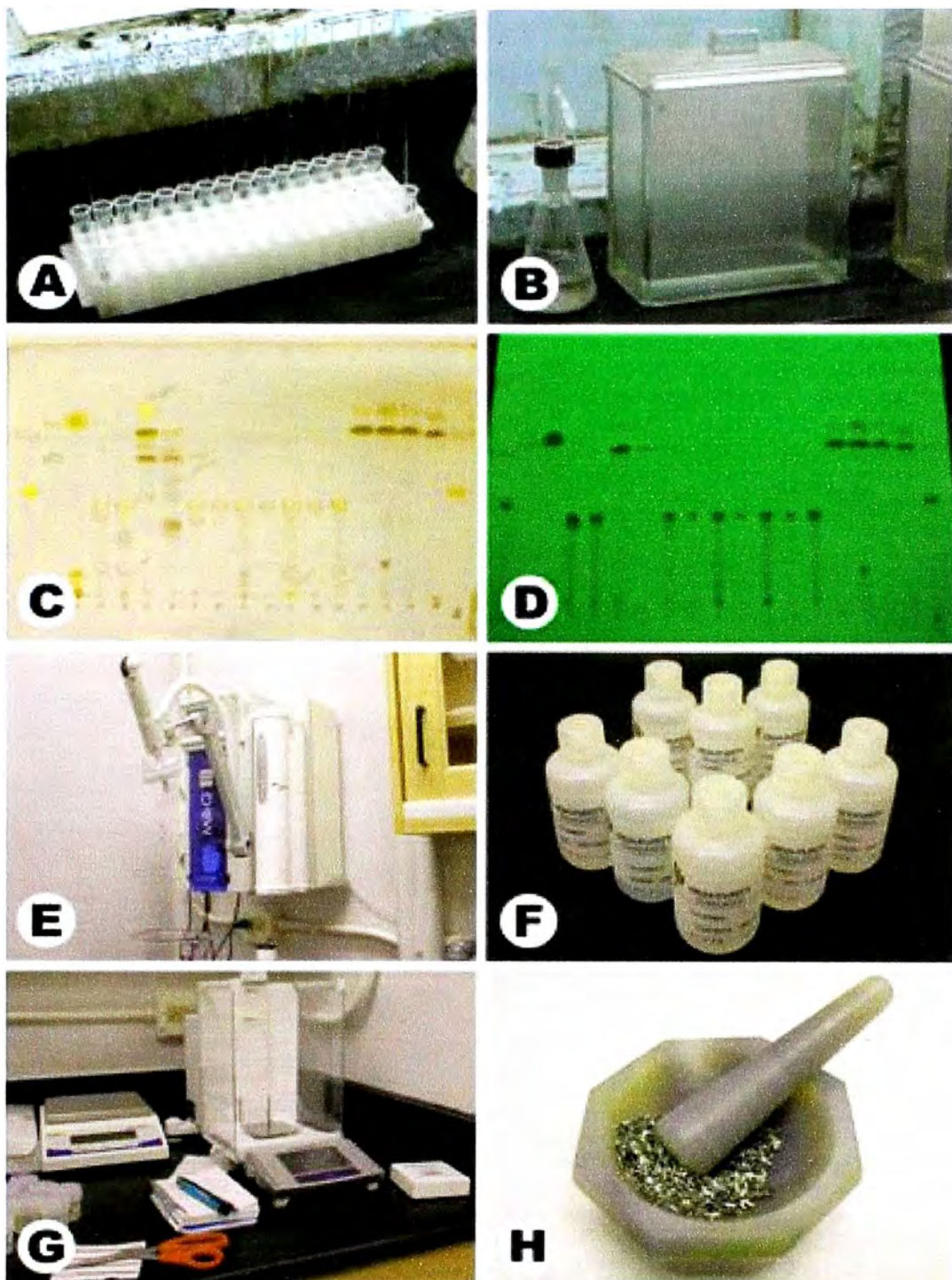
De este modo, se formaron los siguientes grupos:

- Grupo A: Muestras recolectadas en el campo para el análisis elemental, en total 14 de control (entre ellos 6 muestras de *Xanthoparmelia sp*) y 10 de influencia minera (entre ellos 4 muestras de *Xanthoparmelia sp*).
- Grupo B: Duplicados de las muestras de *Xanthoparmelia sp* del grupo A de control, para someterse al experimento de enriquecimiento.
- Grupo C: Duplicados de las muestras de *Xanthoparmelia sp* del grupo A de influencia minera, para someterse al experimento de lavado.

### **7.8.3. Exposición al diseño experimental y análisis de datos**

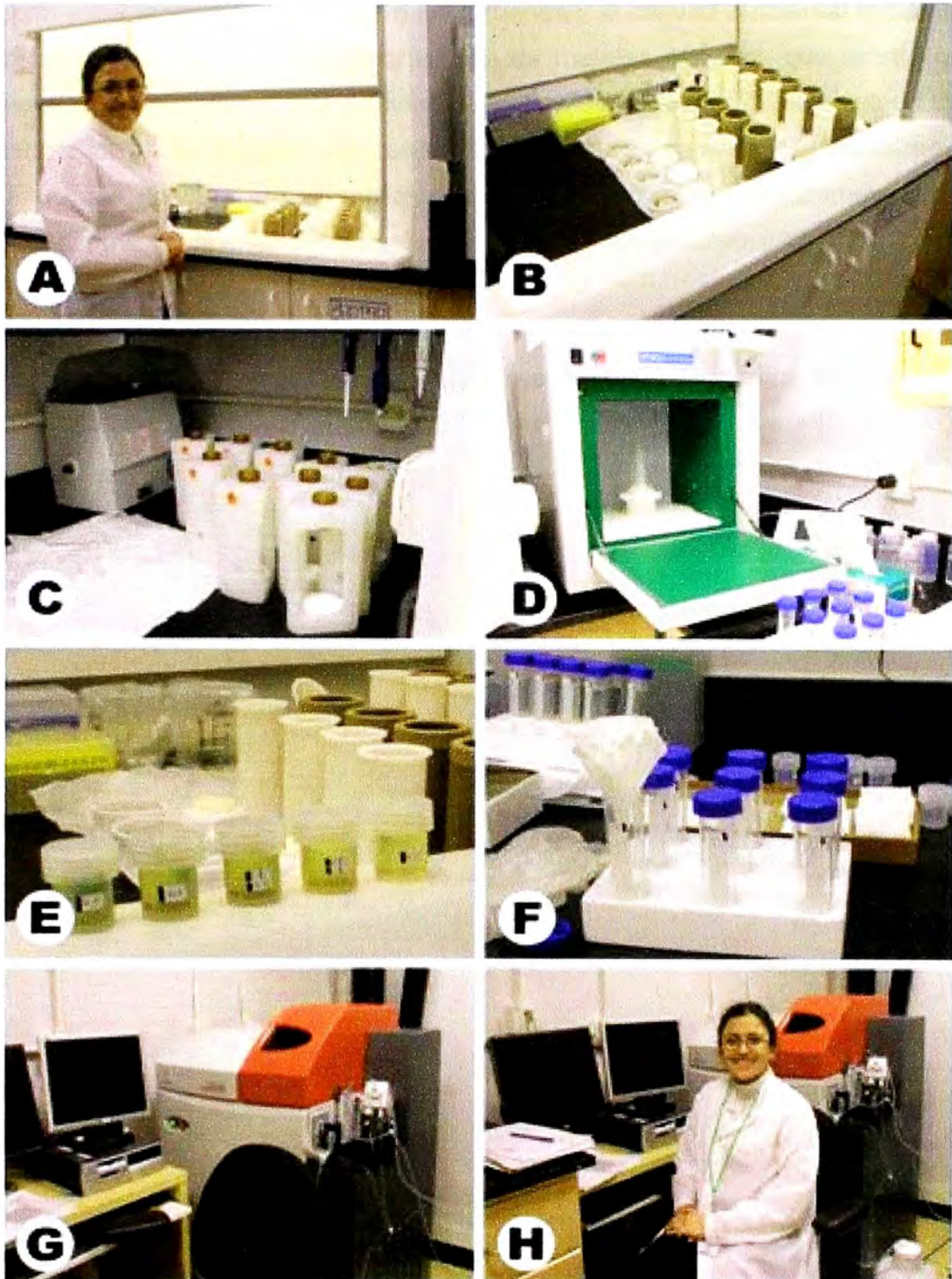
Se expuso a los ejemplares a los experimentos de enriquecimiento y lavado en paralelo, para lo cual los diez ejemplares a ser estudiados fueron sometidos a una hidratación con agua corriente durante 3 minutos y luego fueron colocados uno a uno en la solución correspondiente, siendo que las seis muestras de *Xanthoparmelia sp* del área de control fueron sumergidas en la solución que contenía metales (Enriquecimiento) y las cuatro muestras de *Xanthoparmelia sp* del área minera fueron sumergidas en agua ultra pura (Lavado). Todas las muestras permanecieron sumergidas 24 horas, luego se procedió a retirarlas y exponerlas a temperatura de ambiente durante 24 horas adicionales para su deshidratación.

Una vez terminados los experimentos, se procedió a preparar todas las muestras para el análisis elemental, el cual se realizó según lo detallado en el Análisis elemental utilizando espectrometría de masas con fuente de plasma acoplada inductivamente (ICP-MS).



*Figura 26: Preparación de muestras para análisis elemental. (A-D) Cromatografía de capa fina (TLC) para identificar las muestras de líquenes. (E-H) Preparación de muestras para análisis elemental. (E) Dispensador de agua ultra pura. (F) Soluciones elementales para análisis de metales pesados. (G) Balanza electrónica. (H) Muestra de líquen pulverizado para análisis elemental.*





*Figura 27: (A-B) Preparación de muestras para digestión. (B-C) Aseguradores de teflón y horno para digestión. (E) Muestras digeridas. (F) Tubos utilizados para filtrar las muestras digeridas. (G-H) Equipo ICP-MS con el que se realizó el análisis elemental.*

Del mismo modo, con los resultados obtenidos de las lecturas del ICP-MS se pudieron establecer relaciones entre los líquenes y la calidad ambiental tomando como parámetro principal la concentración de metales pesados que existía en las muestras analizadas. Para calcular si existían diferencias significativas en las concentraciones de metales con respecto a las diferentes áreas de muestreo y los diferentes diseños experimentales, se aplicó la prueba no paramétrica de Mann-Whitney, en la cual se aceptó  $p < 0.05$  como significativo y  $p < 0.001$  como altamente significativo.

Los cálculos de la prueba Mann-Whitney se hicieron utilizando el programa STATISTICA 6.0.

## VIII. RECURSOS Y MATERIALES

Los utensilios, instrumentos y materiales utilizados se detallan a continuación:

Materiales para colecta: navaja, martillo, cincel, sobres de papel kraft, tubos eppendorf de 15 ul, tubos de plástico de 15 y 50 ml, plumones indelebles, bolsas de plástico transparentes, cámara digital, y vehículo para transporte.

Materiales y equipos de laboratorio: estereoscopio, microscopio, reactivos para identificación, navajas, láminas porta objeto, láminas cubre objeto, fijador de láminas, aceite de inmersión, papel toalla.

Materiales y equipos para análisis elemental: Equipo de análisis elemental ICP-MS, campana extractora, horno de digestión, ácido nítrico ( $\text{HNO}_3$ ), peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), agua ultra pura, soluciones estándar (conteniendo: Mn, Fe, Cu, Zn, As, Ag, Cd, Pb, In), contenedores de teflón, envases de plástico, microondas, tubos de 15 y 50 ml

Materiales para experimentos: Tubos de 15 ml, agua ultra pura, soluciones conteniendo: Mn, Fe, Cu, Zn, As, Ag, Cd, Pb en concentraciones de 100 ppb.

Materiales de análisis de datos: computadora personal, software de manejo de datos, software de análisis estadístico, software de edición de imágenes.

Otros: Cámara digital, CDs, materiales de escritorio.

Las instalaciones utilizadas para el desarrollo de la investigación fueron las del Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales de la Universidad Peruana Cayetano Heredia y el laboratorio de análisis elemental del Field Museum de Chicago.

## IX. RESULTADOS

### 9.1. Liquenobiota del área de estudio

El estudio reveló 41 especies de líquenes crustosos, foliosos y fruticulosos distribuidos en 19 géneros, 14 familias y ocho órdenes (Tabla 11). De esas, 39 aparecieron en las muestras estudiadas y dos más en colectas adicionales (*Umbilicaria rugulosa* y *Xanthoria elegans*). Las diez especímenes más abundantes son (independientemente del área de control o minera): *Xanthoparmelia* sp, *Rhizocarpon similis*, *Rhizocarpon geographicum*, *Candelariella vitellina*, *Xanthomendoza mendozae*, *Lecanora polytropa*, *Rhizocarpon irregularis*, *Acarospora squamosa*, *Umbilicaria leprosa*.

Tabla 11: Distribución sistemática de líquenes identificados en las áreas de estudio.

Clase	Orden	Familia	Género	Especie
Lecanoromycetes	Acarosporales	Acarosporaceae	<i>Acarospora</i>	<i>flava</i>
Lecanoromycetes	Acarosporales	Acarosporaceae	<i>Acarospora</i>	<i>molybdina</i>
Lecanoromycetes	Acarosporales	Acarosporaceae	<i>Acarospora</i>	<i>squamosa</i>
Lecanoromycetes	Agyriales	Hymeneliaceae	<i>Aspicilia</i>	<i>cinerea</i>
Lecanoromycetes	Agyriales	Hymeneliaceae	<i>Aspicilia</i>	<i>contorta</i>
Lecanoromycetes	Teloschistales	Teloschistaceae	<i>Caloplaca</i>	<i>leprosa</i>
Lecanoromycetes	Lecanorales	Lecanoraceae	<i>Candelariella</i>	<i>coralliza</i>
Lecanoromycetes	Lecanorales	Lecanoraceae	<i>Candelariella</i>	<i>vitellina</i>
Lecanoromycetes	Peltigerales	Coccocarpiaceae	<i>Coccocarpia</i>	<i>palmicola</i>
Lecanoromycetes	Ostropales	Thelotremataceae	<i>Diploschistes</i>	<i>scruposus</i>
Eurotiomycetes	Verrucariales	Verrucariaceae	<i>Endocarpon</i>	<i>pusillum</i>
Lecanoromycetes	Lecanorales	Physciaceae	<i>Heterodermia</i>	<i>sp</i>
Lecanoromycetes	Lecanorales	Lecanoraceae	<i>Lecanora</i>	<i>garovaglii</i>
Lecanoromycetes	Lecanorales	Lecanoraceae	<i>Lecanora</i>	<i>polytropa</i>
Lecanoromycetes	Lecanorales	Lecideaceae	<i>Lecidea</i>	<i>athallina</i>
Lecanoromycetes	Lecanorales	Lecideaceae	<i>Lecidea</i>	<i>immersa</i>
Lecanoromycetes	Lecanorales	Lecideaceae	<i>Lecidea</i>	<i>lithophila</i>
Lecanoromycetes	Lecanorales	Stereocaulaceae	<i>Leprocaulon</i>	<i>gracilis</i>
Lecanoromycetes	Lecanorales	Parmeliaceae	<i>Paraparmelia</i>	<i>sp</i>
Lecanoromycetes	Lecanorales	Parmeliaceae	<i>Punctelia</i>	<i>stictica</i>
Lecanoromycetes	Lecanorales	Rhizocarpaceae	<i>Rhizocarpon</i>	<i>album</i>
Lecanoromycetes	Lecanorales	Rhizocarpaceae	<i>Rhizocarpon</i>	<i>fuscum</i>
Lecanoromycetes	Lecanorales	Rhizocarpaceae	<i>Rhizocarpon</i>	<i>geographicum</i>
Lecanoromycetes	Lecanorales	Rhizocarpaceae	<i>Rhizocarpon</i>	<i>irregularis</i>
Lecanoromycetes	Lecanorales	Rhizocarpaceae	<i>Rhizocarpon</i>	<i>obscuratum</i>
Lecanoromycetes	Lecanorales	Rhizocarpaceae	<i>Rhizocarpon</i>	<i>petraeum</i>
Lecanoromycetes	Lecanorales	Rhizocarpaceae	<i>Rhizocarpon</i>	<i>similis</i>
Lecanoromycetes	Lecanorales	Rhizocarpaceae	<i>Rhizocarpon</i>	<i>sublecanorinum</i>
Lecanoromycetes	Lecanorales	Parmeliaceae	<i>Rimelia</i>	<i>sp</i>
Lecanoromycetes	Lecanorales	Ramalinaceae	<i>Tephromela</i>	<i>atra</i>



Lecanoromycetes	Umbilicariales	Umbilicariaceae	<i>Umbilicaria</i>	<i>africana</i>
Lecanoromycetes	Umbilicariales	Umbilicariaceae	<i>Umbilicaria</i>	<i>calvescentoides</i>
Lecanoromycetes	Umbilicariales	Umbilicariaceae	<i>Umbilicaria</i>	<i>calvescens</i>
Lecanoromycetes	Umbilicariales	Umbilicariaceae	<i>Umbilicaria</i>	<i>cylindrica</i>
Lecanoromycetes	Umbilicariales	Umbilicariaceae	<i>Umbilicaria</i>	<i>hirsuta</i>
Lecanoromycetes	Umbilicariales	Umbilicariaceae	<i>Umbilicaria</i>	<i>kraschenikowskii</i>
Lecanoromycetes	Umbilicariales	Umbilicariaceae	<i>Umbilicaria</i>	<i>leprosa</i>
Lecanoromycetes	Umbilicariales	Umbilicariaceae	<i>Umbilicaria</i>	<i>polyphylla</i>
Lecanoromycetes	Lecanorales	Parmeliaceae	<i>Xanthoparmelia</i>	<i>sp</i>
Lecanoromycetes	Teloschistales	Teloschistaceae	<i>Xanthomendoza</i>	<i>mendozae</i>

La mayoría de los géneros identificados, los cuales son *Acarospora*, *Aspicilia*, *Caloplaca*, *Candelariella*, *Coccocarpia*, *Diploschistes*, *Endocarpon*, *Heterodermia*, *Lecanora*, *Lecidea*, *Leprocaulon*, *Punctelia*, *Rhizocarpon*, *Rimelia*, *Tephromela*, *Umbilicaria*, *Xanthoparmelia*, *Xanthomendoza*, incluyen líquenes saxícolas, lo que significa que el sustrato en el que crecen es piedra, aunque algunos géneros como *Candelariella*, *Coccocarpia*, *Heterodermia* y *Lecanora* frecuentemente se observan también sobre corteza de árbol.

Del mismo modo, todos estos géneros son encontrados en zonas templadas y boreales, y la liquenobiota de las zonas andinas es bastante semejante a la de zonas templadas; sin embargo, la liquenobiota de estas áreas no ha sido estudiada en profundidad, y se sabe muy poco de la diversidad líquénica real de los Andes.

De las especies encontradas en este estudio, comparándose con la lista de líquenes para el Perú, un total de 34 son nuevos reportes para el país, se citan a continuación: *Acarospora flava*, *Acarospora molybdina*, *Acarospora squamosa*, *Aspicilia cinerea*, *Aspicilia contorta*, *Caloplaca leprosa*, *Candelariella corallizans*, *Candelariella vitellina*, *Coccoarpia palmicola*, *Diploschistes scruposus*, *Endocarpon pusillum*, *Heterodermia sp*, *Lecanora polytropia*, *Lecidea athallina*, *Lecidea immersa*, *Lecidea lithophila*, *Leprocaulon gracilis*, *Punctelia stictica*, *Rhizocarpon album*, *Rhizocarpon fuscum*, *Rhizocarpon irregularis*, *Rhizocarpon obscuratum*, *Rhizocarpon petraeum*, *Rhizocarpon similis*, *Rhizocarpon sublecanorinum*, *Rimelia sp*, *Tephromela atra*, *Umbilicaria africana*, *Umbilicaria calvescentoides*, *Umbilicaria cylindrica*, *Umbilicaria hirsuta*, *Umbilicaria kraschenikowskii*, *Umbilicaria leprosa*, *Umbilicaria polyphylla*.

La literatura menciona que existen comunidades liquénicas que se desarrollan en tipos de rocas diferentes, por ejemplo, dentro de los líquenes característicos de rocas de sílice se encuentran especies de *Rhizocarpon*, *Lecidea*, *Lepraria*, *Umbilicaria* y *Parmelia*, mientras que la flora de rocas calcáreas es bastante diferente <sup>(49)</sup>, con abundancia de especies de *Aspicila* y *Caloplaca*, entre otros géneros.

En el norte de Finlandia, Räsänen (1927)<sup>(143)</sup> reconoció hasta seis grupos de tipos de rocas de acuerdo a la flora liquénica presente, cada grupo distinguible por un color y mineral característico.

Pese a la reducida importancia que se les ha dado a las comunidades de estos sustratos, existen algunas publicaciones al respecto <sup>(52, 96, 97, 143, 154, 173)</sup>. En un trabajo considerado como clásico de la liquenología, usando el famoso método de análisis de comunidades de Braun-Blanquet, Wirth (1972) <sup>(183)</sup> se describieron comunidades de líquenes saxícolas en Europa central que están presentes también en zonas boreales. La literatura de comunidades saxícolas en Asia y Norte América es más escasa, salvo la publicada por Lambert y Maycock (1968) <sup>(99)</sup>

Si bien es cierto, que las características climáticas de las zonas boreales y andinas no son exactamente las mismas, las bajas temperaturas y el bajo porcentaje de humedad son condiciones que permiten inferir que la biota liquénica presente en ambos lugares tiene un alto grado de similitud.

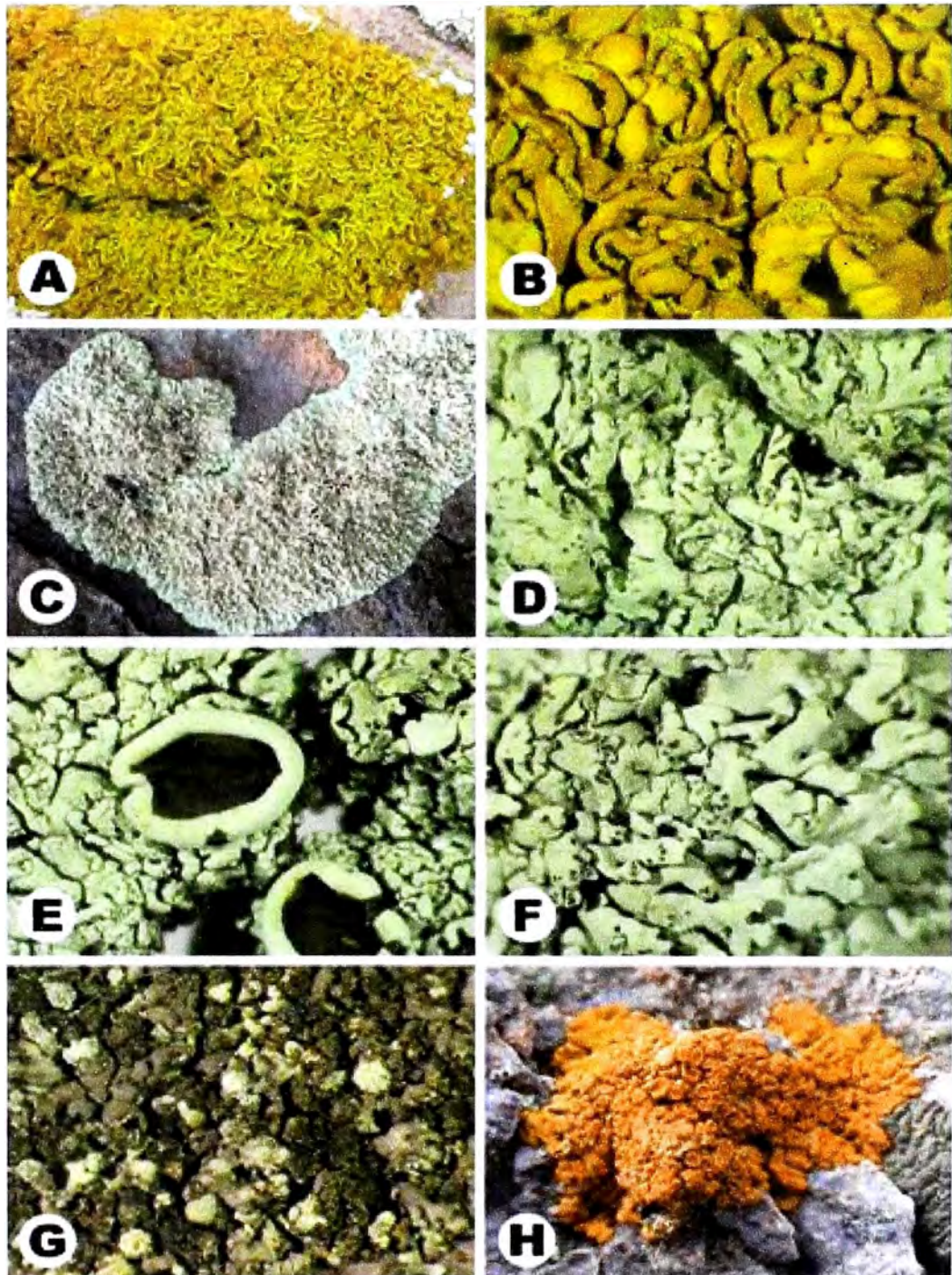


Figura 28: Líquenes del área de estudio. (A-B) *Xanthomendoza mendozae*. (C-F) *Xanthoparmelia* sp. (G) *Xanthoparmelia* sp (especie con soralios). (H) *Xanthoria elegans*.



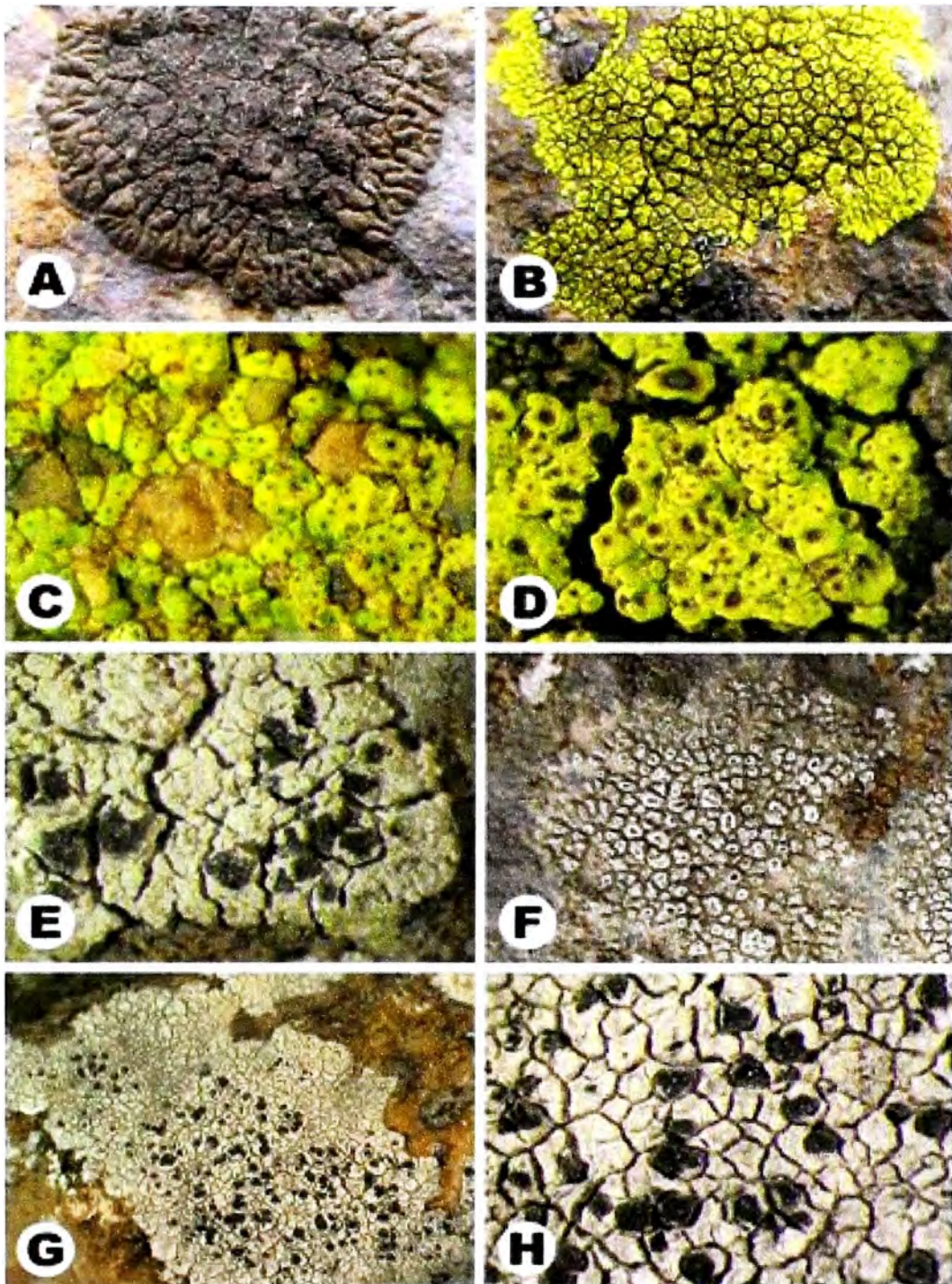


Figura 29: Líquenes de área de estudio. (A) *Acarospora molybdina*. (B) *A. contigua*. (C-D) *A. smaragdula*. (E) *Aspicilia cinereocaesia*. (F) *A. contorta*. (G-H) *Buellia aethalea*.



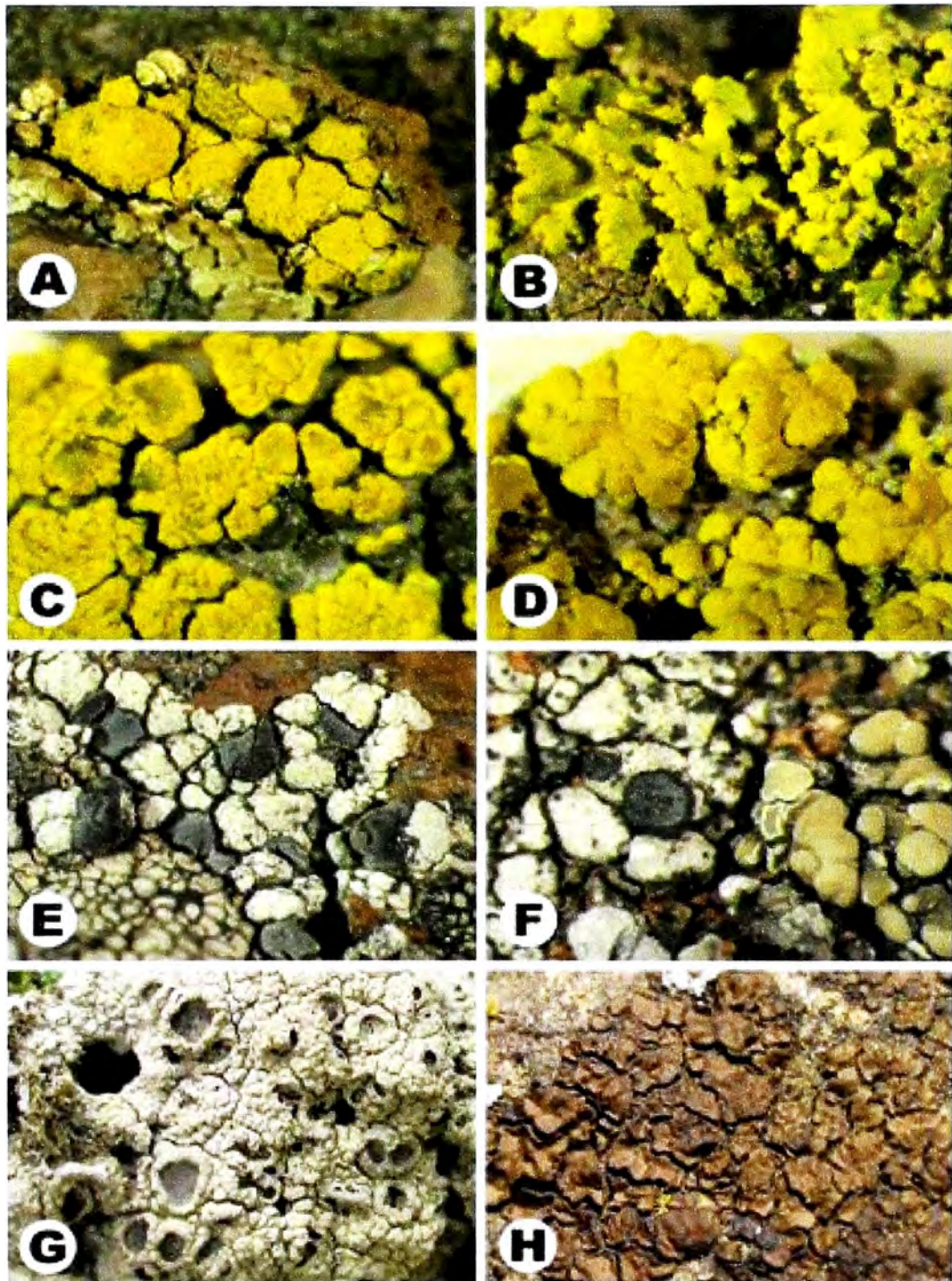


Figura 30: Líquenes del área de estudio. (A) *Candelariella coralliza*. (B) *Candelaria murrayi*. (C) *Candelariella vitellina*. (D) *C. rosulans*. (E-F) *Carbonea* sp (G) *Diploschistes scruposus*. (H) *Endocarpon pusillum*.



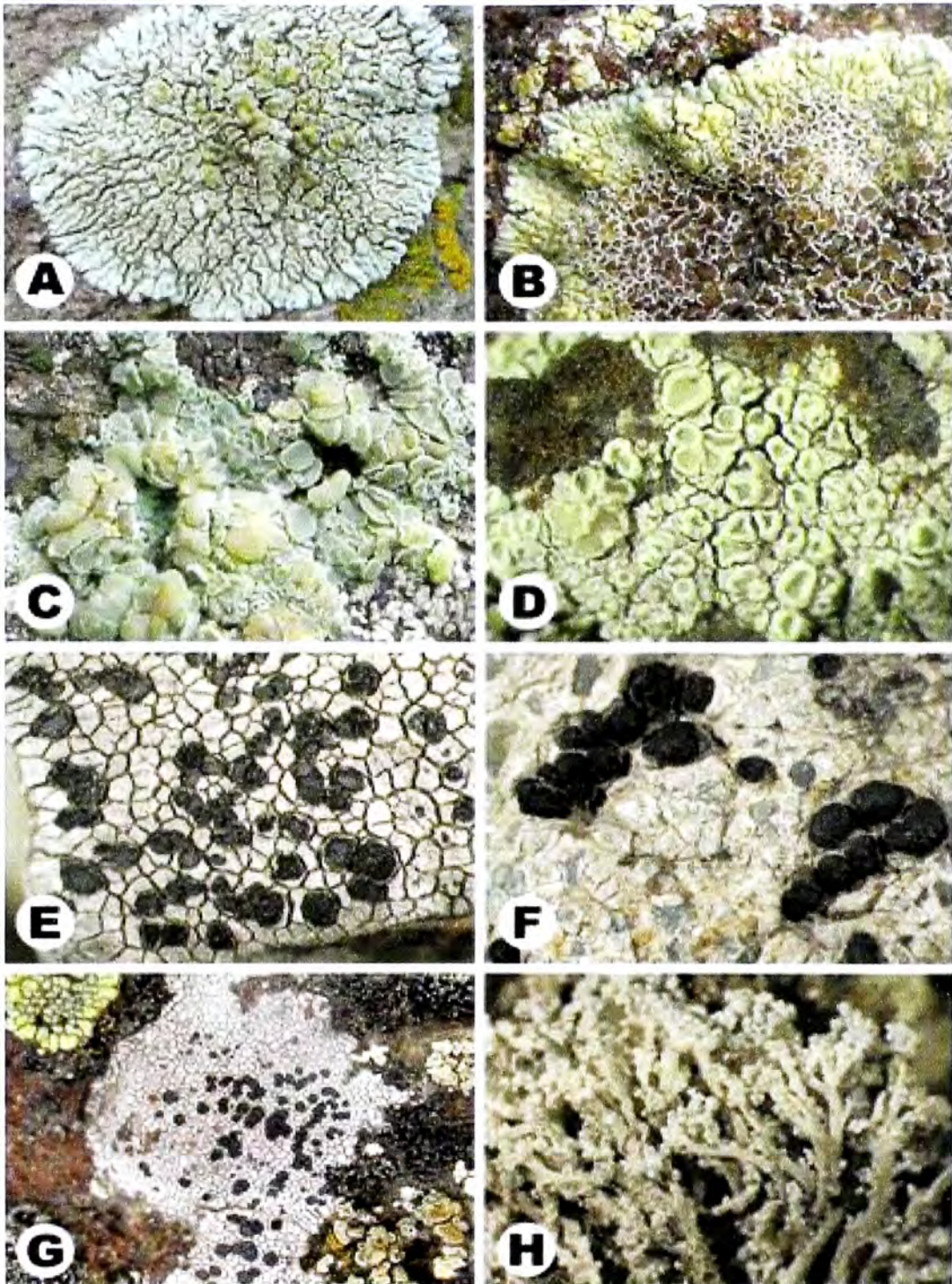


Figura 31: Liqueles del área de estudio. (A) *Lecanora garovaglii*. (B) *Lecanora muralis*. (C) *Lecanora polytropa*. (D) *Lecanora sp.* (E) *Lecanora immersa*. (F-G) *Lecidea lithophila*. (H) *Leprocaulon gracilis*.



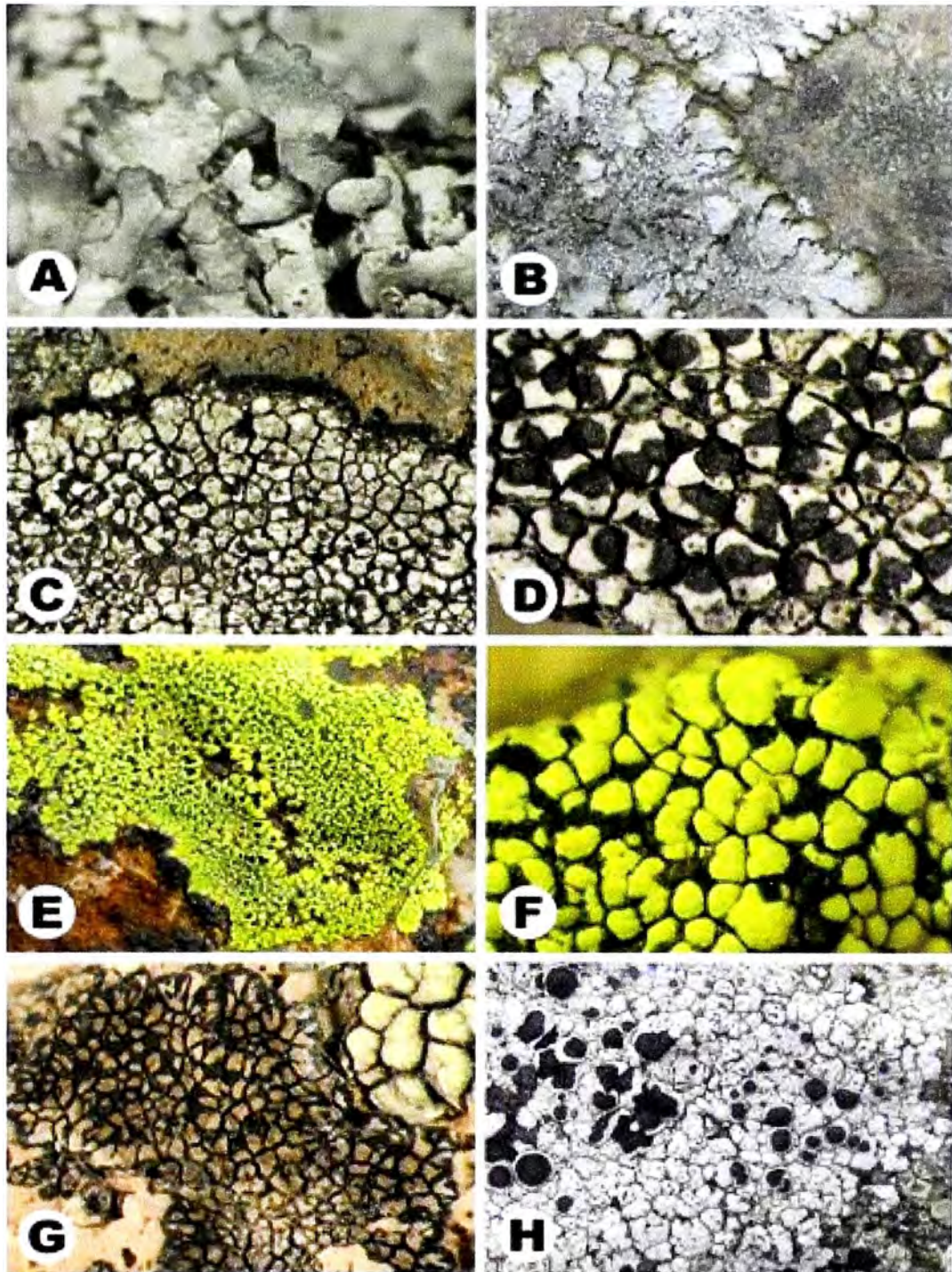


Figura 32: Líquenes del área de estudio. (A) *Paraparmelia* sp. (B) *Punctelia stictica*. (C-D) *Rhizocarpon album*. (E-F) *Rh. geographicum*. (G) *Rh. obscuratum*. (H) *Rh. petraeum*.



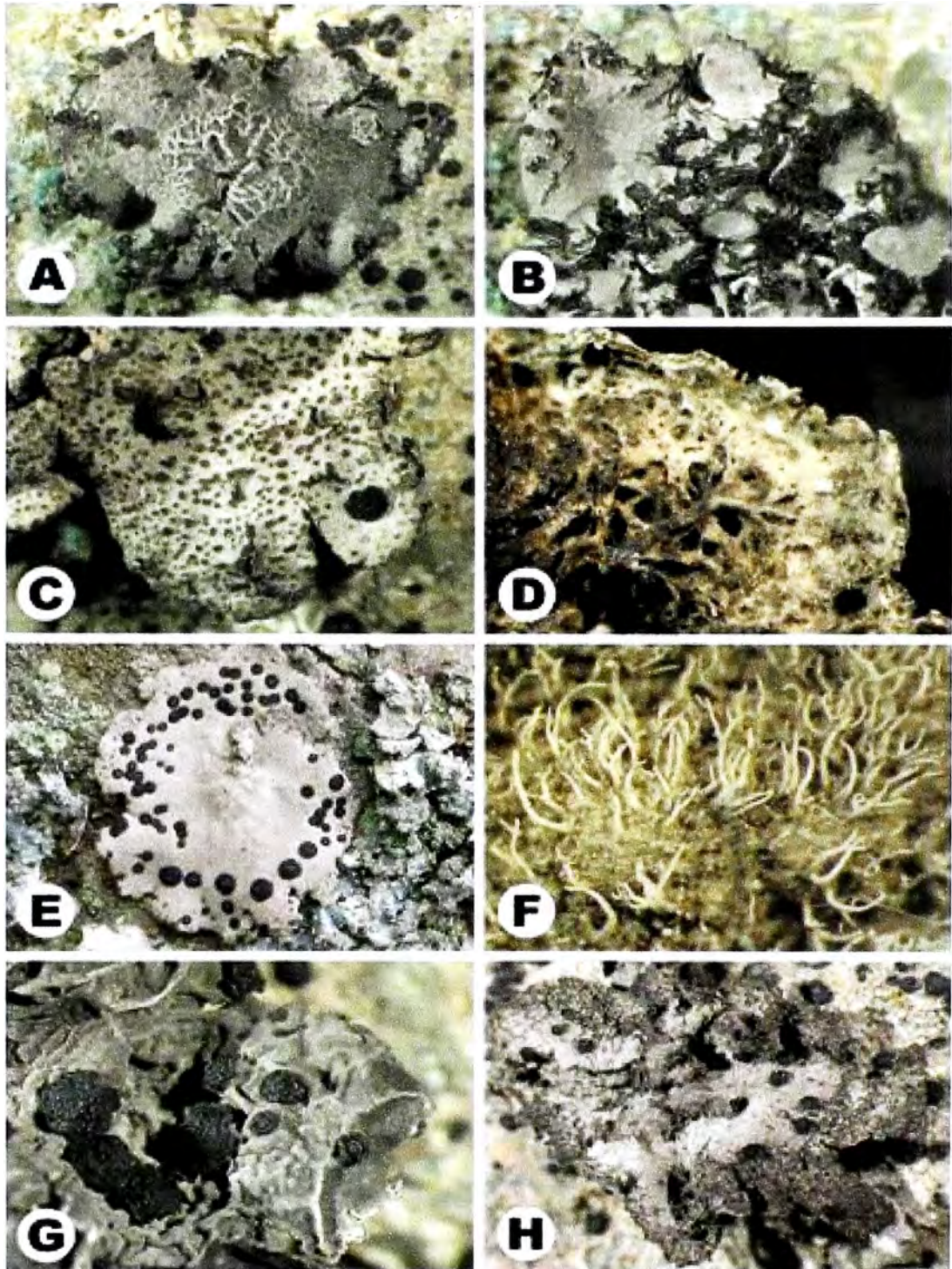


Figura 33: Liqueños del área de estudio. (A) *Umbilicaria africana*. (B) *U. cylindrica*. (C-D) *U. calvescens*. (E) *U. calvescentoides*. (F) *U. hirsuta*. (G) *U. krascheninnikovii*. (H) *U. leprosa*.



## 9.2. Guía de campo

La guía de campo fue diseñada en base a los líquenes representativos de las áreas estudiadas, se limitó a una página de modo que fuera sencilla de usar y pueda ser aplicada por los habitantes de comunidades locales.

Para facilidad de lectura se dividió en tres partes, la primera muestra ocho especies de líquenes típicos y comunes del área de control, entre las cuales se encuentran: *Xanthomendoza mendozae*, *Rhizocarpon geographicum*, *Lecanora muralis*, *Lecanora garovaglii*, *Paraparmelia sp*, *Umbilicaria africana*, *Lecidea lithophila*, *Buellia aethalea*, *Acarospora molybdina* y *Rhizocarpon obscuratum*.

La segunda expone aquellas especies representativas que se encuentran presentes tanto en el área minera como en el área de control, entre ellas se muestran: *Candelariella rosulans*, *C. coralliza*, *Xanthoparmelia sp*, *Lecanora polytropa*, *Punctelia stictica*, *Umbilicaria cylindrica*, *Rhizocarpon album* y *Lecidea immersa*.

La tercera presenta las especies típicos y representativos del área minera, entre las cuales se encuentra: *Acarospora squamosa*, *Leprocaulon gracilis*, *Umbilicaria leprosa* y *Endocarpon pusillum*.

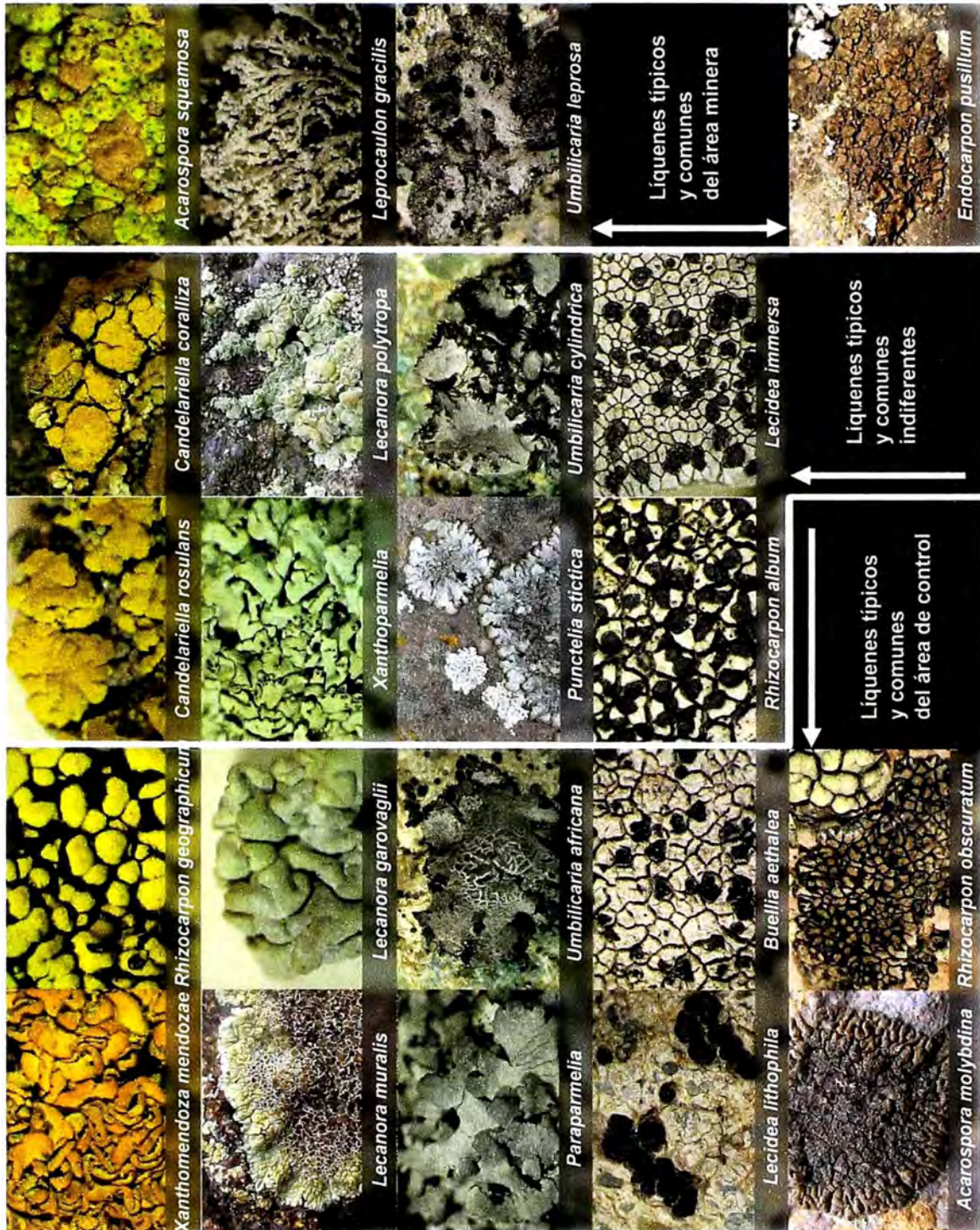


Figura 34: Guía de campo de líquenes bioindicadores. Tres divisiones: 1. Líquenes típicos y comunes del área de control (especies presentes SÓLO en el área de control). 2. Líquenes típicos y comunes indiferentes (especies presentes en ambas áreas). 3. Líquenes típicos y comunes del área minera (especies presentes SÓLO en el área minera)

### 9.3. Cobertura y Frecuencia

Evaluando la cobertura de las muestras analizadas en las 80 muestras realizadas, 40 en el área minera y 40 en el área de control, resulta la siguiente relación de especies (Tabla 12).

Utilizando los pesos 1 para el área de control y 3 para el área minera, se logró ordenar las 39 especies encontradas en las muestras según sus ocurrencias preferenciales, calculándose el promedio ponderado (Tabla 13). Así se puede apreciar tres grupos:

(1) especies solamente encontradas en el área de control: 11 especies, todas con promedio ponderado de 1.0 que incluyen especies tan abundantes como *Umbilicaria kraschenikowskii*, *Lecanora garovaglii* y *Rhizocarpon obscuratum*;

(2) especies que ocurren tanto en el área de control como en el área minera: 24 especies que incluyen taxones frecuentes como *Xanthoparmelia sp*, *Rhizocarpon similis*, *Rh. geographicum*, y *Candelaria vitellina*; y

(3) cuatro especies restringidas al área minera, entre ellas *Acarospora flava*, *Leprocaulon gracilis* y *Umbilicaria leprosa*.

Dentro del segundo grupo, hay especies con tendencias evidentes hacia el área de control, como *Acarospora molybdina* y *Xanthomendoza mendozae*, y otras especies con tendencias evidentes hacia el área minera, las que incluyen *Acarospora squamosa* y *Rhizocarpon irregularis*.



**Tabla 12: Valores de cobertura y frecuencia de aparición de especies en las muestras analizadas ordenada en base al promedio ponderado (ascendente). En la primera columna se muestra un código de especie que se forma uniendo las cuatro primeras letras del género y las cuatro primeras de la especie, esto es necesario para efectuar los análisis estadísticos. Las columnas rotuladas como: Control Cobertura o Minera Cobertura, muestran la cobertura de las especies en relación a la dimensión total de la muestra, las columnas: Control Frecuencia o Minera Frecuencia muestran el número de veces que la especie se encontró en la muestra.**

<b>CODIGO</b>	<b>Género</b>	<b>especie</b>	<b>Control Cobertura</b>	<b>Control Frecuencia</b>	<b>Minera Cobertura</b>	<b>Minera Frecuencia</b>	<b>Promedio Ponderado</b>
COCCPALM	<i>Coccoarpia</i>	<i>palmicola</i>	2	1	0	0	1.0
DIPLSCRU	<i>Diploschistes</i>	<i>scruposus</i>	1	1	0	0	1.0
LECAGARO	<i>Lecanora</i>	<i>garovaglii</i>	5	5	0	0	1.0
LECILITH	<i>Lecidea</i>	<i>lithophila</i>	16	13	0	0	1.0
RHIZOBSC	<i>Rhizocarpon</i>	<i>obscuratum</i>	14	8	0	0	1.0
RHIZPETR	<i>Rhizocarpon</i>	<i>petraeum</i>	13	11	0	0	1.0
RHIZSUBL	<i>Rhizocarpon</i>	<i>sublecanorinum</i>	5	2	0	0	1.0
RIMELIA	<i>Rimelia</i>	<i>sp</i>	8	3	0	0	1.0
TEPHATRA	<i>Tephromela</i>	<i>atra</i>	2	2	0	0	1.0
UMBICALV	<i>Umbilicaria</i>	<i>calvescens</i>	2	2	0	0	1.0
UMBIKRAS	<i>Umbilicaria</i>	<i>kraschenikowskii</i>	26	18	0	0	1.0
XANTMEND	<i>Xanthomendoza</i>	<i>mendozae</i>	38	15	3	2	1.1
ACARMOLY	<i>Acarospora</i>	<i>molybdina</i>	14	9	3	3	1.4
ASPICONT	<i>Aspicilia</i>	<i>contorta</i>	3	3	1	1	1.5
RHIZFUSC	<i>Rhizocarpon</i>	<i>fuscum</i>	9	7	3	3	1.5
LECIIMME	<i>Lecidea</i>	<i>immersa</i>	10	10	4	4	1.6
RHIZGEOG	<i>Rhizocarpon</i>	<i>geographicum</i>	39	28	20	16	1.7
UMBIAFRI	<i>Umbilicaria</i>	<i>africana</i>	9	8	5	5	1.7
CANDVITE	<i>Candelariella</i>	<i>vitellina</i>	39	24	22	16	1.7
LECIATHA	<i>Lecidea</i>	<i>athallina</i>	7	6	4	4	1.7
UMBICYLI	<i>Umbilicaria</i>	<i>cylindrica</i>	17	16	11	11	1.8
RHIZSIMI	<i>Rhizocarpon</i>	<i>similis</i>	50	31	49	29	2.0
XANTHOPA	<i>Xanthoparmelia</i>	<i>sp</i>	82	31	81	31	2.0
UMBIHIRS	<i>Umbilicaria</i>	<i>hirsuta</i>	15	14	16	16	2.0
UMBIPOLY	<i>Umbilicaria</i>	<i>polyphylla</i>	10	8	11	9	2.0
LECAPOLY	<i>Lecanora</i>	<i>polytropa</i>	32	30	36	28	2.1
PUNCSTIC	<i>Punctelia</i>	<i>stictica</i>	5	3	6	4	2.1
RHIZALBU	<i>Rhizocarpon</i>	<i>album</i>	19	14	23	21	2.1
CANDCORR	<i>Candelariella</i>	<i>corallizans</i>	5	5	9	9	2.3
CALOLEPR	<i>Caloplaca</i>	<i>leprosa</i>	7	6	13	11	2.3
ASPICINE	<i>Aspicilia</i>	<i>cinerea</i>	2	2	4	4	2.3
UMBICALO	<i>Umbilicaria</i>	<i>calvescentoides</i>	6	5	15	15	2.4
ENDOPUSI	<i>Endocarpon</i>	<i>pusillum</i>	6	6	17	15	2.5
RHIZIRRE	<i>Rhizocarpon</i>	<i>irregularis</i>	2	2	30	25	2.9
ACARSQUA	<i>Acarospora</i>	<i>squamosa</i>	1	1	30	24	2.9
ACARFLAV	<i>Acarospora</i>	<i>flava</i>	0	0	5	5	3.0
HETERODE	<i>Heterodermia</i>	<i>sp</i>	0	0	1	1	3.0
LEPRGRAC	<i>Leprocaulon</i>	<i>gracilis</i>	0	0	6	5	3.0
UMBILEPR	<i>Umbilicaria</i>	<i>leprosa</i>	0	0	25	18	3.0

#### **9.4. Ordenamiento de datos**

El método de escala multidimensional no-métrica ordena las muestras según la composición y abundancia de los especies liquénicas que se encuentran en ellas. La idea es que para ordenar una muestra en relación a otra muestra, se usan las abundancias de las especies en cada muestra y de este modo se establece un sistema de coordenadas. Prácticamente, esto no es posible porque cada especie de líquen representa un eje o dimensión y el conjunto de especies representa un espacio hiperdimensional.

Por lo tanto, los métodos de ordenación, incluso escala multidimensional, trabajan con algoritmos que reducen la información de tal manera que se puede extraer el arreglo de los puntos (muestras), a un sistema de dos dimensiones (ejes). De este modo, se puede interpretar una ordenación de tal manera que las muestras que se encuentran cerca una a la otra son aquellas que tienen especies de líquenes semejantes, en cambio, aquellas que se encuentran alejadas la una de la otra tienen especies diferentes.

En el presente caso de uso de escala multidimensional no-métrica, se puede observar que la gran mayoría de las muestras del área de control y del área minera se separan en dos grandes grupos, de tal manera que confirman las diferencias entre las dos áreas (Fig. 35). De la posición y la forma en la que se encuentran arreglados los puntos (la forma alargada que muestran) se puede concluir también que la distribución de especies de líquenes dentro de cada área muestra un gradiente dominante adicional a lo largo de cada grupo, el cual se explicará con mayor detalle posteriormente.

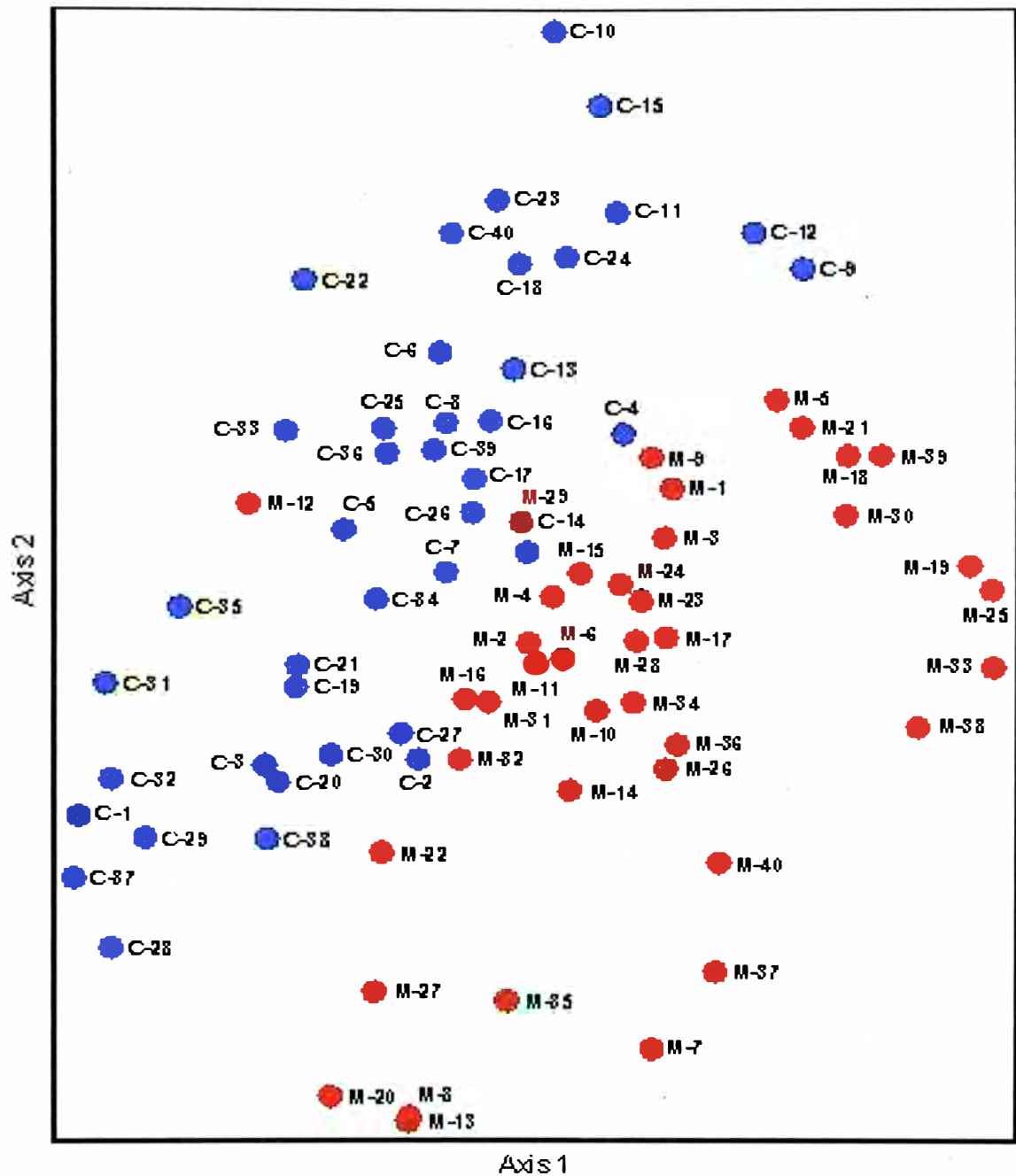


Figura 35: Diagrama de ordenación NMS (escala multidimensional no métrica) de las muestras del área de control (azul) y del área minera (rojo). Los dos grupos se separan relativamente bien a lo largo de una línea diagonal del izquierdo inferior a la derecha superior. Algunas pocas muestras se mezclan con el otro grupo, como el M-12 y el M-29 del área minera.



El análisis de grupos (cluster) sirve para detectar estructura jerárquica en la composición y abundancia de especies de líquenes, la cual se manifiesta en la agrupación particular de las muestras. A diferencia del ordenamiento, un dendrograma resultante de un análisis de grupos no tiene dimensiones, pero se puede comparar el resultado con un ordenamiento basada en el mismo índice de semejanza, como se trata en este caso el índice de Sørensen (relativo).

Mientras en el diagrama de ordenamiento (Fig. 35) se puede apreciar dos grupos grandes, donde evidentemente se separan las muestras del área de control y del área minera; en el dendrograma (Fig. 36) se puede observar dos grupos representativos dentro de los cuales se mezclan muestras del área de control y del área minera. Dentro de cada grupo, sin embargo, se puede observar que las muestras del área de control y del área minera se separan, salvo algunas muestras individuales que se mezclan con las de la otra área.

El patrón, aparentemente diferente, entre el diagrama de ordenación y el dendrograma se explica cuando se grafican los grupos principales del dendrograma sobre el diagrama de ordenamiento (Fig. 37). Aquí se puede apreciar que las muestras del grupo 1 del dendrograma se concentran a un lado del grupo de puntos, mientras las muestras del grupo 2 están al otro lado.

Si se compara con la ordenamiento anterior (Fig. 35), el dendrograma indica que además del gradiente inicial considerado para el área de control versus área minera, existe un segundo gradiente que está presente tanto en el área de control como en el área minera, y este gradiente coincide con la orientación alargada de las muestras del área de control y el área minera (Fig. 31).

Viendo las muestras que forman parte de cada grupo en el dendrograma, se puede verificar que las muestras del primer grupo, incluyendo tanto las muestras del área de control como del área minera, son las que generalmente tienen un número reducido de especies, mientras en el grupo 2 las muestras tienen número de especies mayor. Esto indica que el segundo gradiente evidente en el diagrama de ordenación podría relacionarse con el número de especies, lo cual generalmente indica la presencia de un gradiente de sucesión.

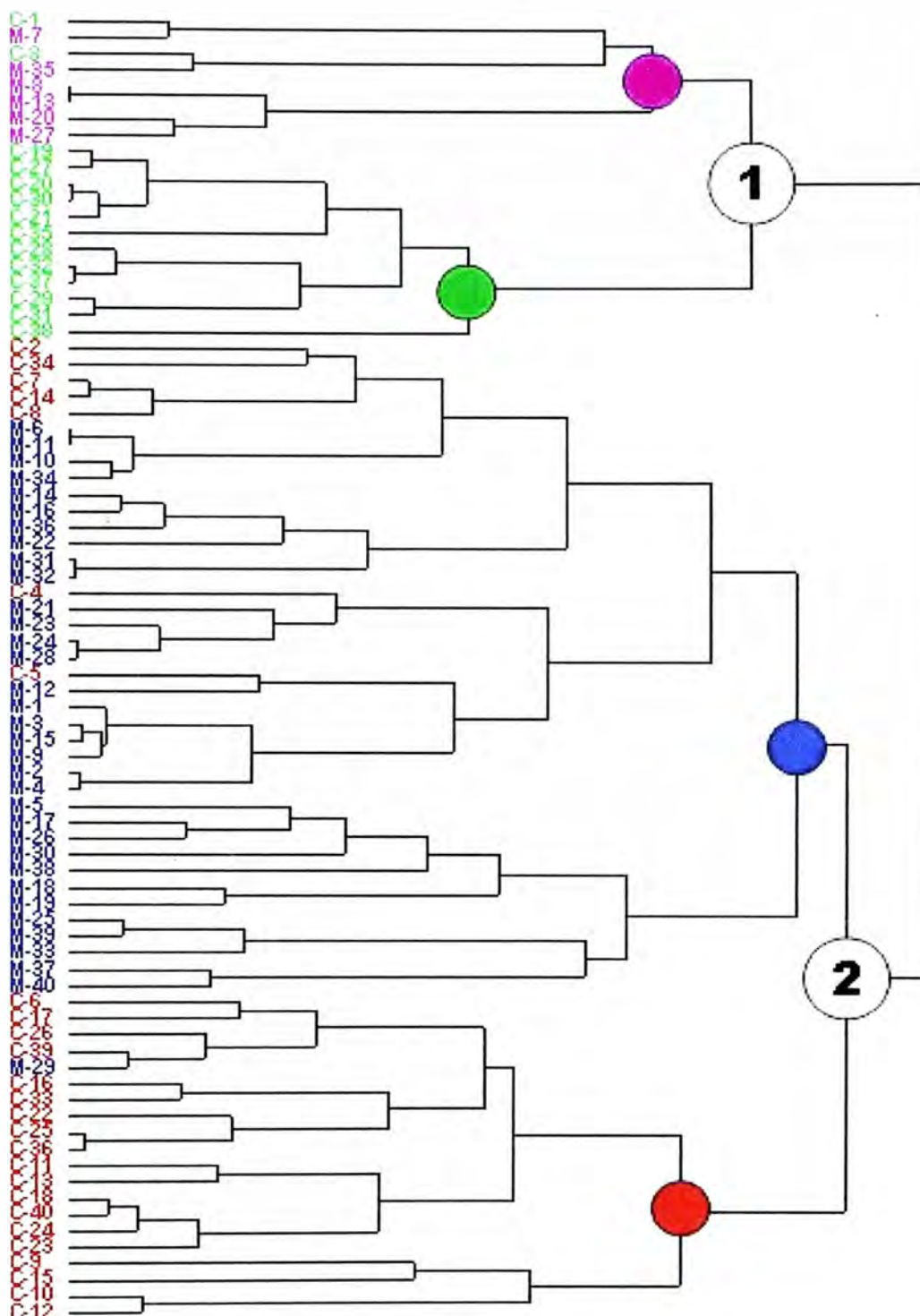


Figura 36: Dendrograma del análisis cluster de las muestras del área de control y área minera. Las muestras del grupo 1 y del grupo 2 y las del área de control y área minera se separan por colores diferentes.

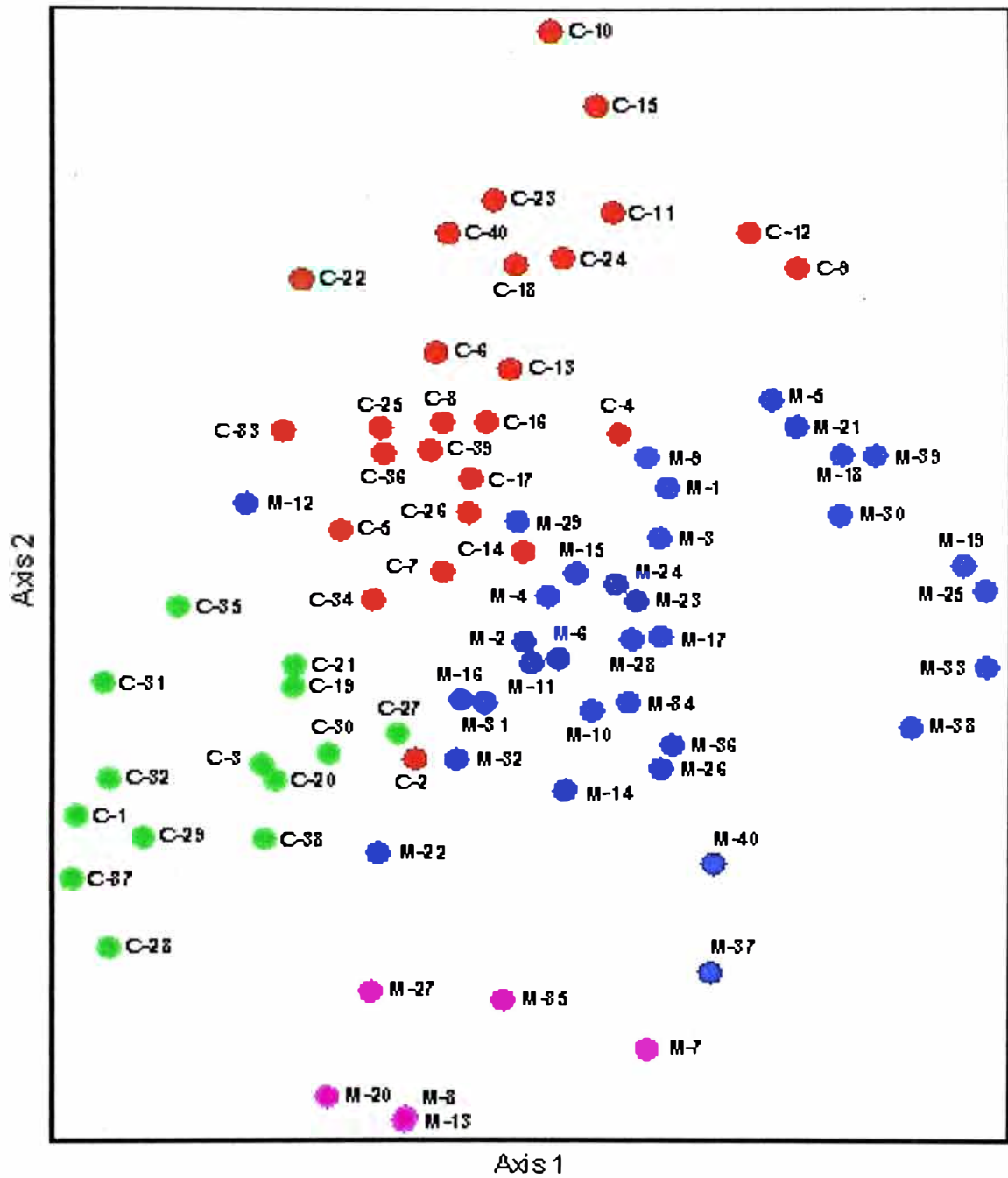


Figura 37: Diagrama de ordenación NMS (escala multidimensional no métrica) de las muestras del área de control (rojo y verde claro) y del área minera (azul y rosado), reflejando los grupos del dendrograma del análisis cluster. Se nota que el grupo 1 del dendrograma se encuentra en el lado izquierdo inferior, incluyendo tanto muestras del área de control como del área minera, mientras el grupo 2 se encuentra en la parte superior derecha.

Además de la ordenación de las especies usando el promedio ponderado, el análisis de especies indicadoras permite calcular un nivel de significancia para la preferencia de cada especie de líquen hacia el área de control o el área minera. Para esto, se hace una prueba de Monte-Carlo, la cual rearrregla los datos al azar. Aplicando esa prueba de manera repetitiva (100-1000 veces), se puede establecer una distribución de los datos asumiendo que hay estructura correlacionada al diseño experimental.

Con dicha distribución se puede calcular si las diferencias observadas en los datos reales son significativas. En el presente caso, estas diferencias se refieren tanto a la abundancia, es decir, los valores de cobertura total dentro de cada área para cada especie (Tabla 13) como a la frecuencia – número de muestras en las cuales la especie ocurre – (Tabla 14). Estos dos valores se combinan (Tabla 15) y en base a ello se calcula el nivel de significancia  $p$  con la prueba de Monte-Carlo (Tabla 16).

Se puede apreciar que las especies que se encuentran presentes únicamente en el área de control son: *Coccocarpia palmicola*, *Diploschistes scruposus*, *Lecanora garovaglii*, *Lecidea lithophila*, *Rhizocarpon obscuratum*, *Rh. petraeum*, *Rh. sublecanorinum*, *Rimelia sp.*, *Tephromela atra*, *Umbilicaria calvescens* y *U. kraschenikowskii*, mientras que las especies presentes únicamente en el área minera son: *Acarospora flava*, *Heterodermia sp.* y *Leprocaulon gracilis*. (Tabla 13).

Tabla 13: Abundancia relativa de las 39 especies en las 80 muestras analizadas, todos los valores están expresados en porcentajes, aquellas especies sombreadas son las que se encuentran presentes únicamente en una de las dos áreas, siendo que aquellas que pertenecen al grupo 1 son las presentes solo en el área de control y las del grupo 2, aquellas presentes en el área minera. Maxgrp indica en que grupo es más abundante la especie, por ejemplo, ACARFLAV es más abundante en grupo 2 (área minera).

Grupo:		Control	Minera		
Identificador:		1	2		
Número de muestras:		40	40		
Especie	Promedio	Max	MaxGrp	Abund	Total
ACARFLAV	50	100	2	0	100
ACARMOLY	50	82	1	82	18
ACARSQUA	50	97	2	3	97
ASPICINE	50	67	2	33	67
ASPICONT	50	75	1	75	25
CALOLEPR	50	65	2	35	65
CANDCORA	50	64	2	36	64
CANDVITE	50	64	1	64	36
COCCPALM	50	100	1	100	0
DIPLSCRU	50	100	1	100	0
ENDOPUSI	50	74	2	26	74
HETERODE	50	100	2	0	100
LECAGARO	50	100	1	100	0
LECAPOLY	50	53	2	47	53
LECIATHA	50	64	1	64	36
LECIIMME	50	71	1	71	29
LECILITH	50	100	1	100	0
LEPRGRAC	50	100	2	0	100
RHIZALBU	50	55	2	45	55

Grupo:		Control	Minera		
Identificador:		1	2		
Número de muestras:		40	40		
Especie	Promedio	Max	MaxGrp	Abund	Total
RHIZFUSC	50	75	1	75	25
RHIZGEOG	50	66	1	66	34
RHIZIRRE	50	94	2	6	94
RHIZOBSC	50	100	1	100	0
RHIZPETR	50	100	1	100	0
RHIZSIMI	50	51	1	51	49
RHIZUBL	50	100	1	100	0
RIMELIA	50	100	1	100	0
TEPHATRA	50	100	1	100	0
UMBIAFRI	50	64	1	64	36
UMBICALO	50	71	2	29	71
UMBICALV	50	100	1	100	0
UMBICYLI	50	61	1	61	39
UMBIHIRS	50	52	2	48	52
UMBIKRAS	50	100	1	100	0
UMBILEPR	50	100	2	0	100
UMBIPOLY	50	52	2	48	52
XANTHOPA	50	50	1	50	50
XANTMEND	50	93	1	93	7

Del mismo modo, aquellas que tienen mayor frecuencia de aparición son: *Xanthoparmelia sp.*, *Lecanora polytropha*, *Rhizocarpon similis*, *Rh. geographicum* y *Candelariella vitelina*, en el área de control y *Acarospora squamosa* en el área minera. (Tabla 12).

Finalmente, el resultado de la prueba de Monte-Carlo muestra que las especies indicadoras significativas para el área control son: *Acarospora molybdina*, *Lecidea lithophila*, *Rhizocarpon petraeum*, *Rh. obscuratum*, *Rh. geographicum*, *Candelariella vitelina*, *Umbilicaria kraschenikowskii* y *Xanthomendoza mendozae* y para el área minera son: *Acarospora squamosa*, *Rhizocarpon irregularis*, *Umbilicaria leprosa*, *U. calvescentoides*, *Endocarpon pusillum* y *Leprocaulon gracilis*. (Tabla 14).



Tabla 14: Porcentaje de muestras (en relación a cada grupo) en donde se encuentra una especie, nuevamente, las especies sombreadas son aquellas cuya frecuencia es exclusiva para un área de estudio, sin embargo, si se observan las filas sombreadas de color, existen especies que se encuentran en ambas áreas, siendo que en algunos casos, son predominantes en una de las dos áreas o se encuentran en gran porcentaje en ambas. Todos los valores están expresados en porcentajes

Grupo:	Control	Minera			
Identificador:	1	2			
Número de muestras:	40	40			
Especie	Promedio	Max	MaxGrp	Grp 1	Grp 2
ACARFLAV	6	13	2	0	13
ACARMOLY	15	23	1	23	8
ACARSQUA	31	60	2	3	60
ASPICINE	8	10	2	5	10
ASPICONT	5	8	1	8	3
CALOLEPR	21	28	2	15	28
CANDCORA	18	23	2	13	23
CANDVITE	50	60	1	60	40
COCCPALM	1	3	1	3	0
DIPLSCRU	1	3	1	3	0
ENDOPUSI	26	38	2	15	38
HETERODE	1	3	2	0	3
LECAGARO	6	13	1	13	0
LECAPOLY	73	75	1	75	70
LECIATHA	13	15	1	15	10
LECIIMME	18	25	1	25	10
LECILITH	16	33	1	33	0
LEPRGRAC	6	13	2	0	13
PUNCSTIC	9	10	2	8	10
RHIZALBU	44	52	2	35	52
RHIZFUSC	13	18	1	18	8
RHIZGEOG	55	70	1	70	40
RHIZIRRE	34	63	2	5	63
RHIZOBSC	10	20	1	20	0
RHIZPETR	14	28	1	28	0
RHIZSIMI	75	78	1	78	73
RHIZSUBL	3	5	1	5	0
RIMELIA	4	8	1	8	0
TEPHATRA	3	5	1	5	0
UMBIAFRI	16	20	1	20	13
UMBICALO	25	38	2	13	38
UMBICALV	3	5	1	5	0
UMBICYLI	34	40	1	40	28
UMBIHIRS	38	40	2	35	40
UMBIKRAS	23	45	1	45	0
UMBILEPR	23	45	2	0	45
UMBIPOLY	21	23	2	20	23
XANTHOPA	78	78	1	78	78
XANTMEND	21	38	1	38	5

Tabla 15: Comparación de Tablas 11 y 12, específicamente frecuencia relativa y abundancia relativa, los resultados se muestran en porcentajes.

Column	Avg	Max	MaxGrp	Abund.	Frec.
ACARFLAV	6	13	2	0	13
ACARMOLY	10	19	1	19	1
ACARSQUA	29	58	2	0	58
ASPICINE	4	7	2	2	7
ASPICONT	3	6	1	6	1
CALOLEPR	12	18	2	5	18
CANDCORA	9	14	2	4	14
CANDVITE	26	38	1	38	14
COCCPALM	1	3	1	3	0
DIPLSCRU	1	3	1	3	0
ENDOPUSI	16	28	2	4	28
HETERODE	1	3	2	0	3
LECAGARO	6	13	1	13	0
LECAPOLY	36	37	2	35	37
LECIATHA	7	10	1	10	4
LECIIMME	10	18	1	18	3
LECILITH	16	33	1	33	0
LEPRGRAC	6	13	2	0	13
PUNCSTIC	4	5	2	3	5
RHIZALBU	22	29	2	16	29
RHIZFUSC	7	13	1	13	2
RHIZGEOG	30	46	1	46	14
RHIZIRRE	29	59	2	0	59
RHIZOBSC	10	20	1	20	0
RHIZPETR	14	28	1	28	0
RHIZSIMI	38	39	1	39	36
RHIZSUBL	3	5	1	5	0
RIMELIA	4	8	1	8	0
TEPHATRA	3	5	1	5	0
UMBIAFRI	9	13	1	13	4
UMBICALO	15	27	2	4	27
UMBICALV	3	5	1	5	0
UMBICYLI	18	24	1	24	11
UMBIHIRS	19	21	2	17	21
UMBIKRAS	23	45	1	45	0
UMBILEPR	23	45	2	0	45
UMBIPOLY	11	12	2	10	12
XANTHOPA	39	39	1	39	39
XANTMEND	18	35	1	35	0

Tabla 16: Aquellas especies con un valor de  $p$  menor a 0.05 (estructura significativa aplicando Monte Carlo) son las especies que pueden ser utilizadas como indicadoras del grupo analizado, Maxgrp indica en que grupo una especie es más abundante, el valor de IV va de 0 a 100 (porcentaje). Mientras más alto mejor.

Especie	Maxgrp	Observed Indicator Value (IV)	$p^*$
LECILITH	1	32.5	0.001
RHIZPETR	1	27.5	0.001
UMBIKRAS	1	45	0.001
XANTMEND	1	34.8	0.001
RHIZOBSC	1	20	0.006
RHIZGEOG	1	46.3	0.008
CANDVITE	1	38.4	0.043
ACARMOLY	1	18.5	0.048
LECAGARO	1	12.5	0.051
LECIIMME	1	17.9	0.143
RHIZFUSC	1	13.1	0.184
UMBICYLI	1	24.3	0.264
RIMELIA	1	7.5	0.270
UMBIAFRI	1	12.9	0.443
TEPHATRA	1	5	0.497
UMBICALV	1	5	0.500
RHIZSUBL	1	5	0.509
LECIATHA	1	9.5	0.589
ASPICONT	1	5.6	0.636
RHIZSIMI	1	39.1	0.780
XANTHOPA	1	39	0.989
COCCPALM	1	2.5	1.000
DIPLSCRU	1	2.5	1.000

Especie	Maxgrp	Observed Indicator Value (IV)	$p^*$
ACARSQUA	2	58.1	0.001
RHIZIRRE	2	58.6	0.001
UMBILEPR	2	45	0.001
UMBICALO	2	26.8	0.023
ENDOPUSI	2	27.7	0.026
LEPRGRAC	2	12.5	0.044
ACARFLAV	2	12.5	0.061
CALOLEPR	2	17.9	0.211
RHIZALBU	2	28.7	0.238
CANDCORA	2	14.5	0.349
ASPICINE	2	6.7	0.672
UMBIHIRS	2	20.6	0.823
UMBIPOLY	2	11.8	0.893
PUNCSTIC	2	5.5	0.917
LECAPOLY	2	37.1	0.918
HETERODE	2	2.5	1.000

### 9.5. Concentración de metales pesados en líquenes del área de control vs. área minera

En contra de las expectativas, las concentraciones de los ocho metales pesados medidos fueron en promedio más altas en el área de control en comparación con el área minera (Tabla 17).

Al aplicarse la prueba no paramétrica de Mann-Whitney para calcular si existían diferencias significativas en las concentraciones de metales con respecto a las áreas de muestreo, se obtuvo que para la mayoría de los casos existía una

diferencia evidente, siendo que las concentraciones mayores resultaron significativas para el área de control, refutando lo asumido en relación a la limpieza del área.

Mientras que para todos los elementos las concentraciones en promedio fueron más altas en el área de control, solamente para Mn<sup>55</sup>, Zn<sup>66</sup> y Cd<sup>111</sup> se observaron diferencias estadísticamente significativas (los valores de p significativos resultaron para Zn y Cd:  $p < 0.05$  y altamente significativo para Mn:  $p < 0.001$ ). En el primer caso, todas las concentraciones resultantes del área de control fueron, sin excepción, más altas que las del área minera, mientras para el caso de Zn, también se encontró concentraciones altas en dos especímenes de *Umbilicaria rugulosa* en el área minera.

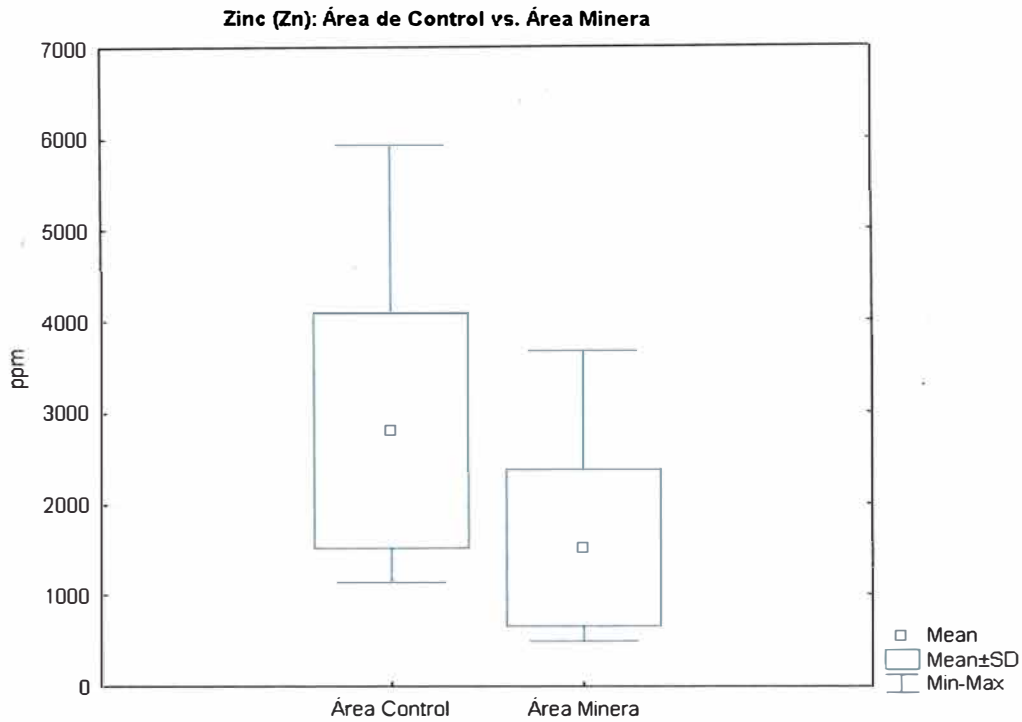
Para el caso de Cd, solo dos especímenes mostraron concentraciones elevadas, perteneciendo a los géneros *Paraparmelia* y *Punctelia*, caso muy semejante a Ag, donde cabe destacar que la diferencia está marcada por el resultado del espécimen de *Paraparmelia*, el cual fue el único que mostró una concentración de 2933 mg.L<sup>-1</sup>ppm.

Precisamente, una de las razones para las diferencias observadas podría ser que la composición de especies de líquenes en el área de control fue diferente al área minera y por lo tanto se midieron especies parcialmente diferentes en las dos áreas, las cuales suelen tener diferentes capacidades de acumular metales. Por ejemplo, el promedio alto de todos los elementos en el área de control está causado exclusivamente por las dos Parmeliaceas foliosas (*Paraparmelia* y *Punctelia*). La primera fue colectada solamente una vez en toda el área, mientras la segunda fue más abundante en el área de control y prácticamente ausente en el área minera.

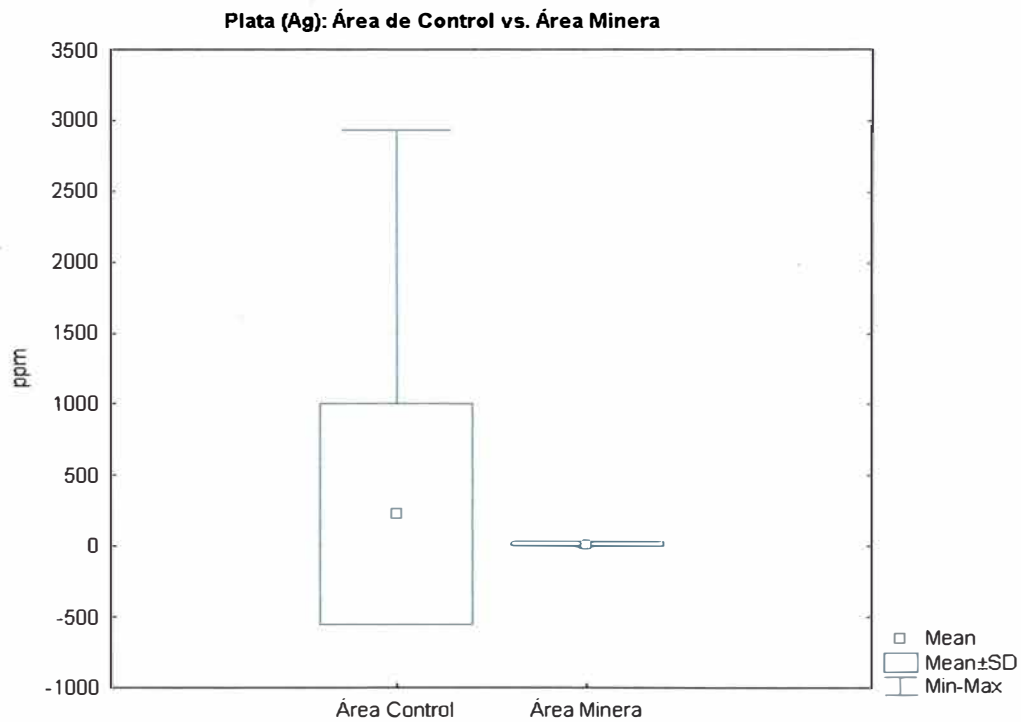
Tabla 17: Concentración resultante (en ppm) luego de análisis elemental de las muestras restantes provenientes tanto del área de control como del área minera.

Área	Muestra	Taxón	Mn <sup>55</sup>	Fe <sup>57</sup>	Cu <sup>65</sup>	Zn <sup>66</sup>	As <sup>75</sup>	Ag <sup>107</sup>	Cd <sup>111</sup>	Pb <sup>208</sup>
Control	C09-3	<i>Lecanora garovaglioides</i>	3090	17344	236	3081	648	30	56	2178
Control	C02-3	<i>Paraparmelia sp</i>	5132	21368	836	5937	1069	2933	535	3693
Control	C04-3	<i>Punctelia stictica</i>	5629	22633	297	4727	686	18	106	2780
Control	C03-3a	<i>Umbilicaria Africana</i>	993	6258	125	1143	128	12	9	1377
Control	C04-4	<i>Umbilicaria calvescentoides</i>	1584	9341	171	2016	175	9	16	1282
Control	C08-4a	<i>Umbilicaria krascheninnikovii</i>	1289	10314	262	2047	234	16	23	2288
Control	C20-1_1	<i>Xanthomendoza mendozae</i>	2931	10961	114	2810	255	8	19	845
Control	C20-1_2	<i>Xanthomendoza mendozae</i>	1772	7043	77	1759	173	6	12	591
Control	C02-1a	<i>Xanthoparmelia sp</i>	1860	10211	109	1794	226	7	50	1744
Control	C04-1	<i>Xanthoparmelia sp</i>	3007	17308	271	3822	395	15	83	3110
Control	C08-1	<i>Xanthoparmelia sp</i>	1680	15805	365	2897	429	16	59	3591
Control	C09-1	<i>Xanthoparmelia sp</i>	2279	14191	216	2689	345	12	66	2224
Control	C13-1	<i>Xanthoparmelia sp</i>	1583	9058	131	1935	249	7	35	1096
Control	C20-2a	<i>Xanthoparmelia sp</i>	2527	11658	112	2571	211	9	46	1428
Minera	M16-4	<i>Leprocaulon gracilascens</i>	357	8770	44	494	124	3	4	269
Minera	M16-2	<i>Umbilicaria hirsuta</i>	561	19815	138	1225	344	10	5	581
Minera	M02-3	<i>Umbilicaria rugulosa</i>	708	19829	455	2010	511	22	10	1962
Minera	M03-3	<i>Umbilicaria rugulosa</i>	388	10648	267	1569	421	21	9	1280
Minera	M04-1	<i>Xanthoparmelia sp</i>	252	5507	162	1054	153	7	27	2387
Minera	M10-1	<i>Xanthoparmelia sp</i>	856	10881	228	1204	390	41	42	1538
Minera	M02-1	<i>Xanthoparmelia sp</i>	594	16079	396	3670	545	18	35	2491
Minera	M03-1	<i>Xanthoparmelia sp</i>	357	7409	267	1484	271	11	17	2113
Minera	M16-1_1	<i>Xanthoparmelia sp</i>	288	12734	187	1019	263	11	42	2484
Minera	M16-1_2	<i>Xanthoparmelia sp</i>	326	14848	252	1365	344	16	14	2070
Control	Todas	Promedio con StD	3900.5	18222.2	429.8	4088.7	635.9	1001.8	213.7	3009.7
Minera	Todas	Promedio con StD	669.5	17546.0	359.8	2365.5	475.1	26.7	35.4	2505.5
		Prueba de Mann-Whitney U	0.0	67.0	58.0	20.0	66.0	61.5	29.0	60.0
		Prueba de Mann-Whitney Z	4.1	0.2	-0.7	0.1	-0.2	-0.5	2.4	0.6
		Prueba de Mann-Whitney p	0.0	0.9	0.5	0.0	0.8	0.6	0.0	0.6
Control	<i>Xanthoparmelia</i>	Promedio con StD	2707.3	16292.9	303.9	3350.1	402.1	15.0	73.3	3177.2
Minera	<i>Xanthoparmelia</i>	Promedio con StD	529.3	16597.6	363.0	3091.1	487.1	17.6	40.6	2518.8
		Prueba de Mann-Whitney U	0.0	12.0	7.0	5.0	9.0	6.5	1.5	10.0
		Prueba de Mann-Whitney Z	2.6	0.0	-1.1	1.5	-0.6	-1.2	2.2	-0.4
		Prueba de Mann-Whitney p	0.0	1.0	0.3	0.1	0.5	0.2	0.0	0.7



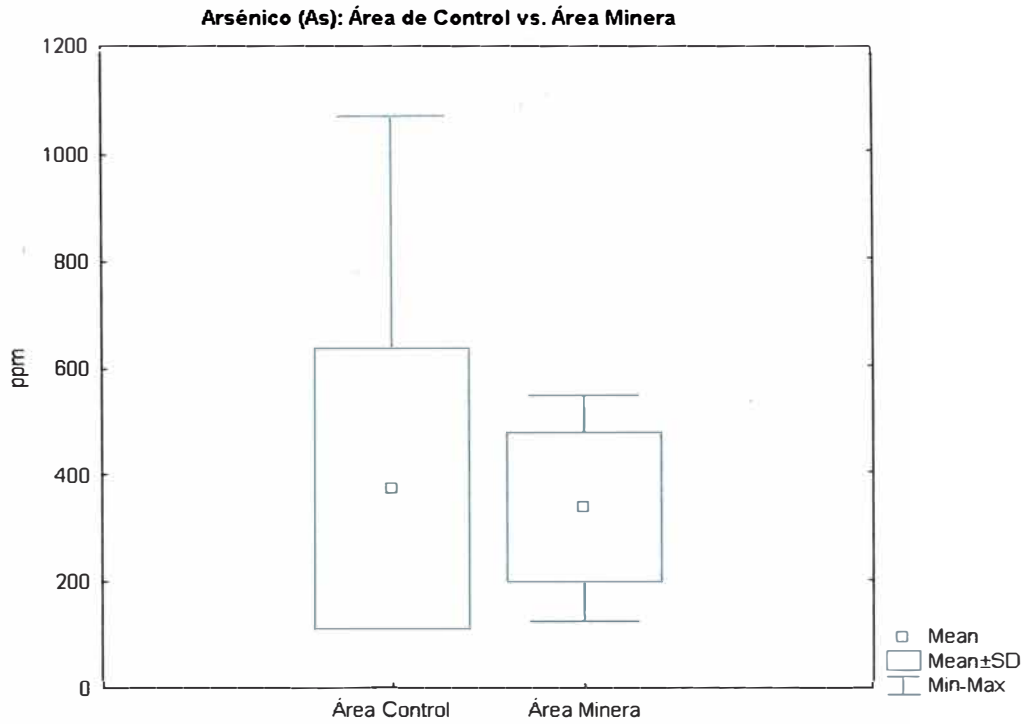


A

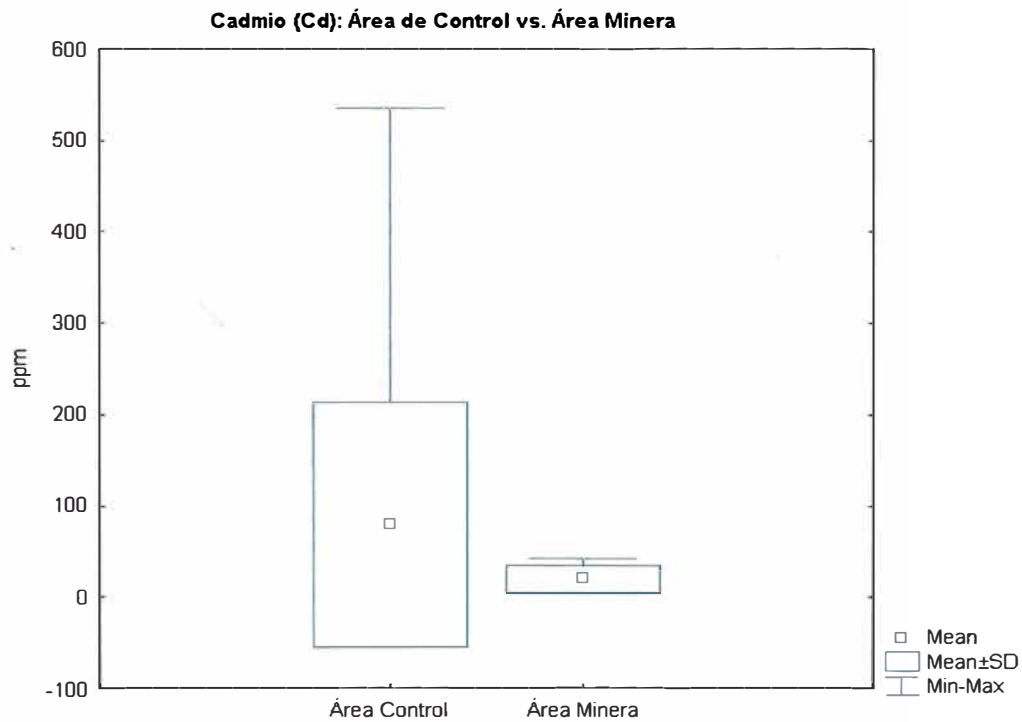


B

*Figura 38: Comparación de concentraciones por metal evaluado en muestras colectadas en el área de control y el área minera. A: Concentración de Zn (varía de 1500 a 4000 ppm en las muestras del área de control y de 800 a 2200 ppm en las muestras del área minera). B: Concentración de Ag varía de la ausencia total a 1000 ppm en las muestras analizadas en el área de control y de una concentración sumamente ligera en las muestras del área minera. Ambos casos muestran diferencias significativas (Tabla 17). Mean = promedio, SD = desviación estándar, min = mínimo, max = máximo.*

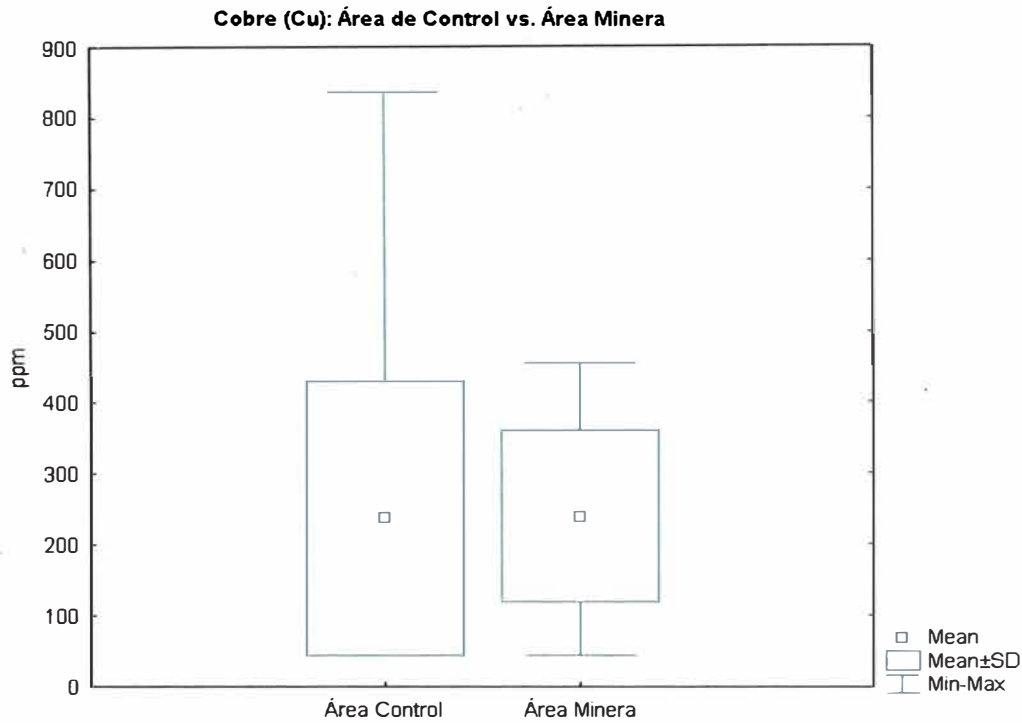


C

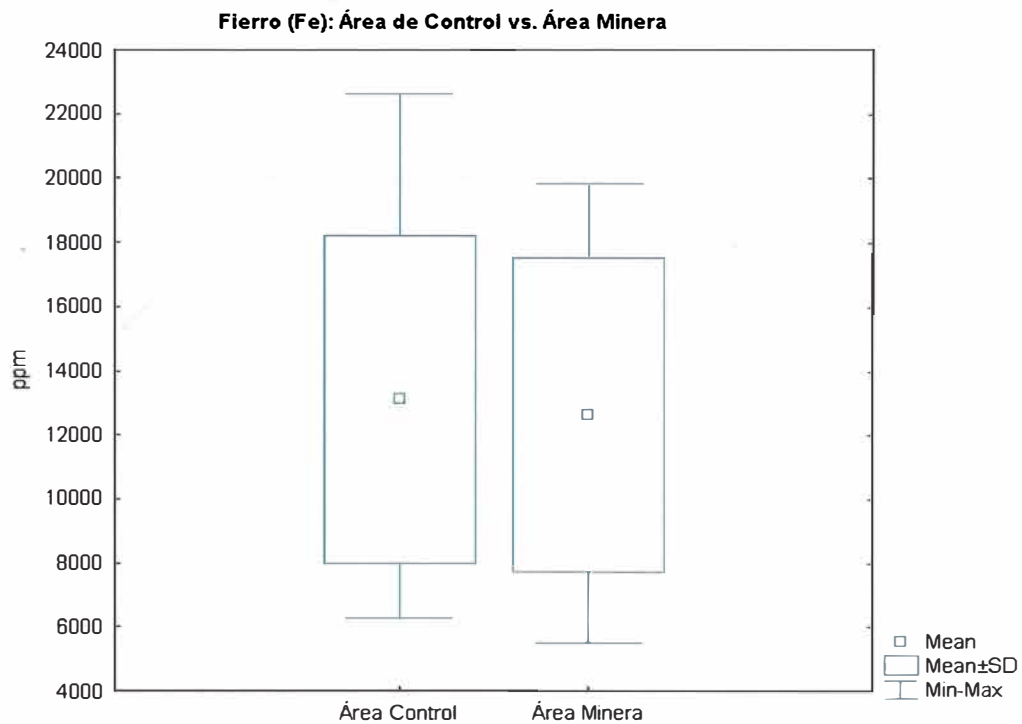


D

*Figura 38: Comparación de concentraciones por metal evaluado en muestras colectadas en el área de control y el área minera. C: Concentración de As varía de 100 a 650 ppm en las muestras analizadas en el área de control y de 200 a 450 ppm en las muestras del área minera. D: Concentración de Cd varía de la ausencia total a 220 ppm en las muestras analizadas en el área de control y una concentración sumamente ligera en las muestras del área minera. Ambos casos muestran una concentración mayor en el área de control. Ambos casos muestran diferencias significativas (Tabla 17). Mean = promedio, SD = desviación estándar, min = mínimo, max = máximo.*

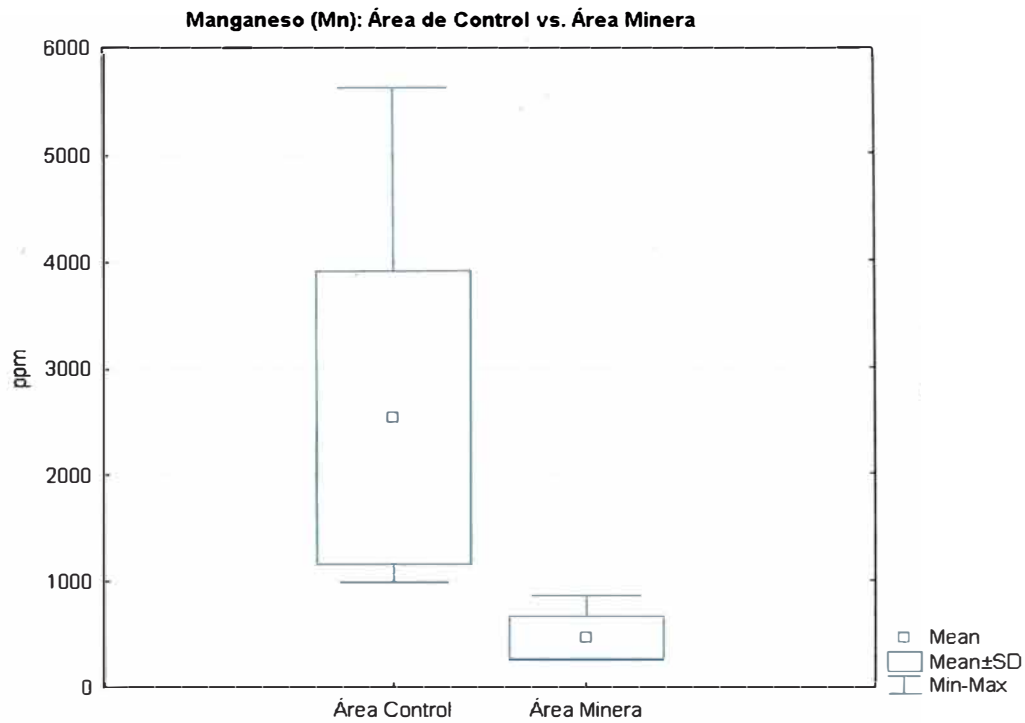


E

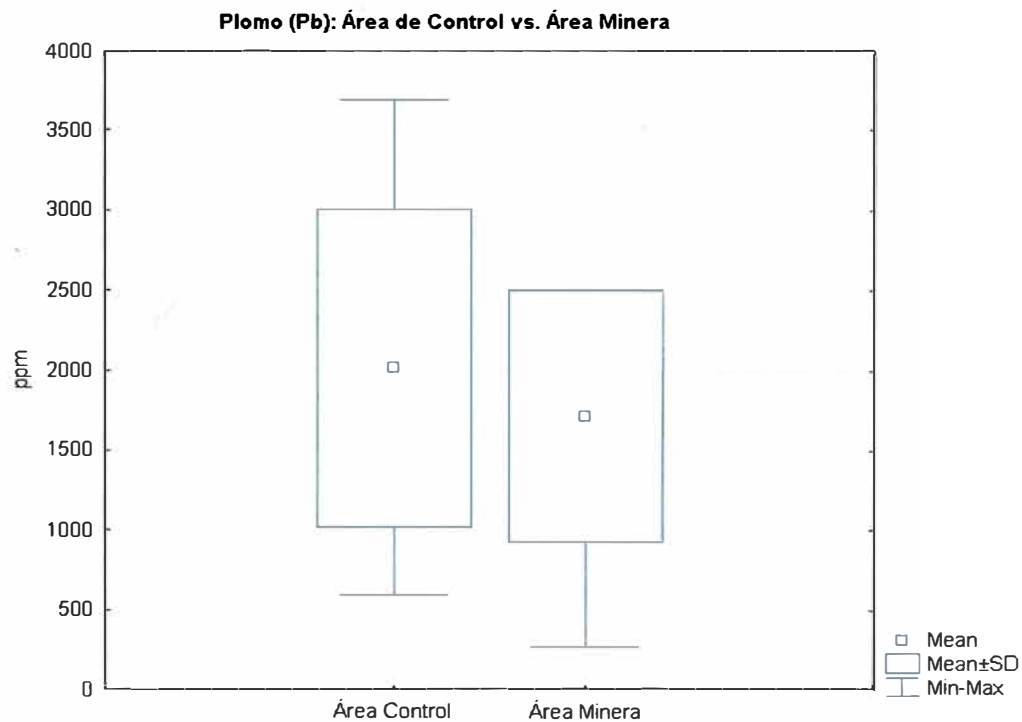


F

*Figura 38: Comparación de concentraciones por metal evaluado en muestras colectadas en el área de control y el área minera. E: Concentración de Cu varía de 50 a 420 ppm en las muestras analizadas en el área de control y de 110 a 370 ppm en las muestras del área minera. F: Concentración de Fe varía de 8000 a más de 18000 ppm en las muestras analizadas en el área de control y de 7800 a 17800 en las muestras del área minera. Ambos casos muestran una concentración ligeramente mayor en el área de control. Ambos casos muestran diferencias significativas (Tabla 17). Mean = promedio, SD = desviación estándar, min = mínimo, max = máximo.*



**G**



**H**

**Figura 38:** Comparación de concentraciones por metal evaluado en muestras colectadas en el área de control y el área minera. **G:** Concentración de Mn varía de 1100 a 3900 ppm en las muestras analizadas en el área de control y menor a 1000 ppm en las muestras del área minera. **H:** Concentración de Pb varía de 1000 a 3000 ppm en las muestras analizadas en el área de control y de 900 a 2500 en las muestras del área minera. Ambos casos muestran una concentración mayor en el área de control. Ambos casos muestran diferencias significativas (Tabla 17). Mean = promedio, SD = desviación estándar, min = mínimo, max = máximo.

### **9.6. Enriquecimiento experimental de líquenes del área de control con metales pesados**

En el experimento de enriquecimiento, se esperaba concentraciones más altas de metales pesados en los especímenes sometidos al experimento, sin embargo, eso solo sucedió en el caso de los elementos Cu<sup>65</sup>, As<sup>75</sup>, Ag<sup>107</sup> y Cd<sup>111</sup>, mientras que en los otros cuatro elementos las concentraciones al "enriquecer" fueron más bajas en promedio. Estas diferencias fueron significativas para todos los elementos salvo para, nuevamente, Zn<sup>66</sup>. Precisamente se registró absorción de Zn en un caso (proveniente del punto cuatro del transecto) y es importante mencionar a esta muestra debido a que la concentración resultante es aproximadamente 70% mayor al contenido inicial de la muestra.

En el caso de Cu, la absorción resulta en una concentración que duplica y en algunos casos triplica a la concentración inicial, esto mismo sucede con Zn. En el caso de Ag y Cd, la tasa de enriquecimiento es mucho más alta, siendo de 5-15 veces más en Cd y 100-200 veces más en Ag, en ambos casos basándose en concentraciones iniciales sumamente bajas.

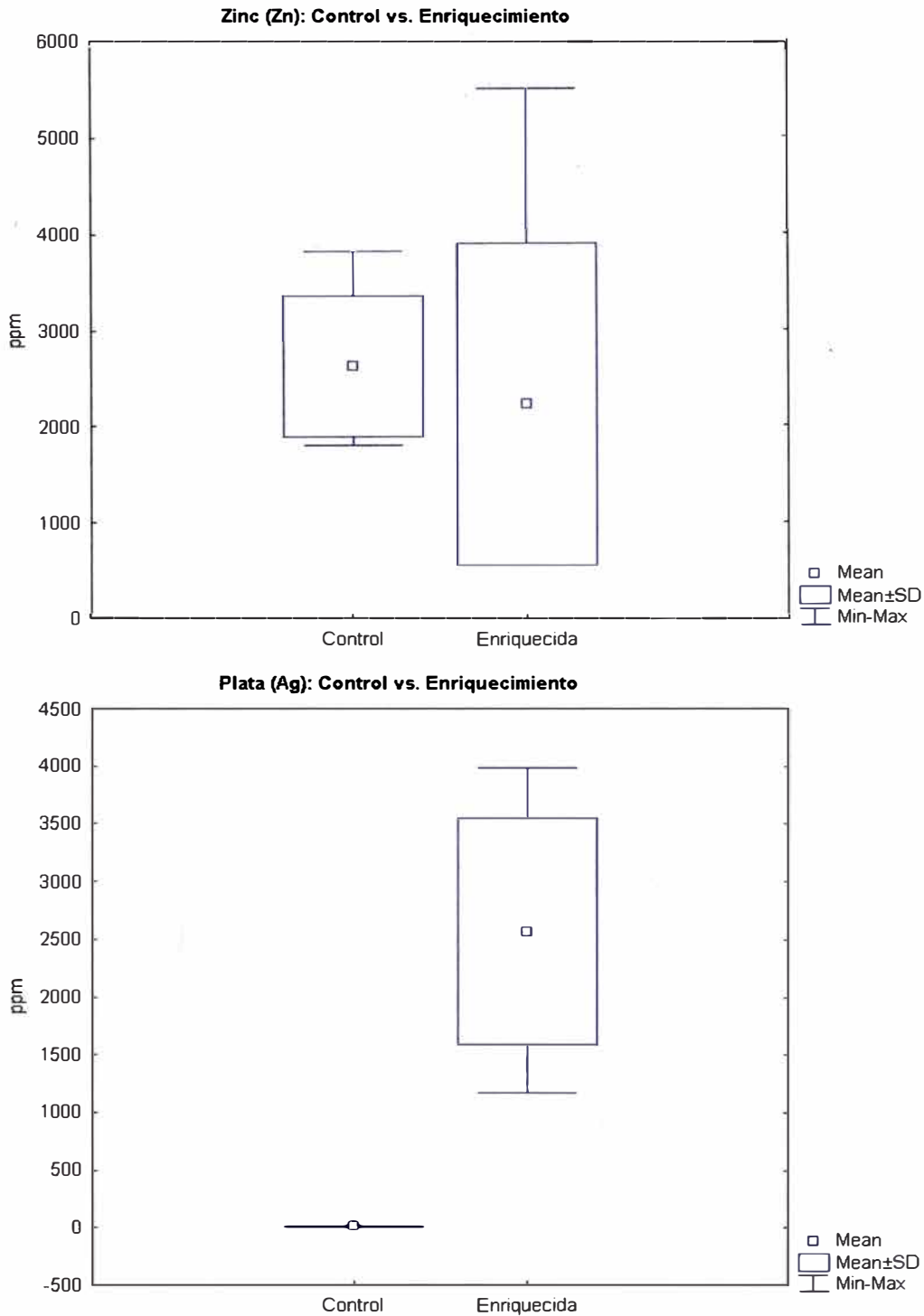
Como ya se ha mencionado, el experimento parece indicar que los líquenes no muestran afinidad significativa por los elementos restantes (Mn, Fe, Zn y Pb). Al contrario, parece que existió una ligera liberación pasiva, lo cual se confirma con las diferencias existentes entre las concentraciones iniciales y finales.

Este fenómeno inesperado se debe a que en el diseño inicial, se seleccionaron especímenes de líquenes del área de control asumiendo niveles bajos de metales pesados, mientras las medidas después indicaron niveles altos especialmente para Fe, Zn, Mn y Pb, así que la ausencia de acumulación y más bien la presencia de liberación en el experimento se debe a que las concentraciones iniciales eran más altas que las de la solución del experimento y aparentemente no permitieron acumulación adicional.

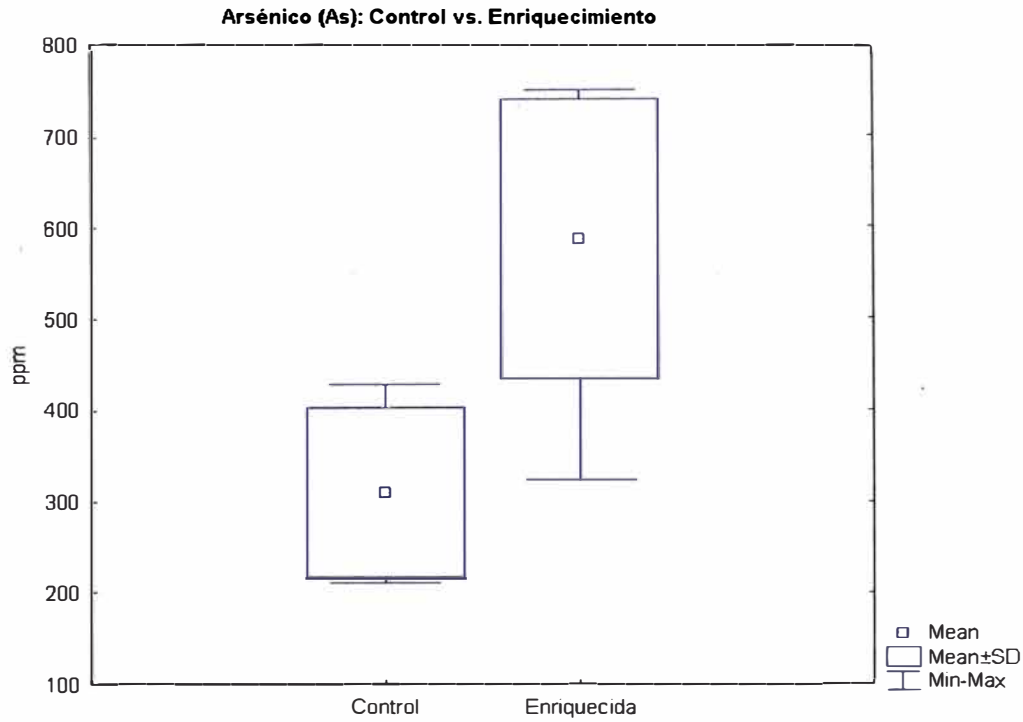


Tabla 18: Comparación de concentraciones resultantes de muestras sometidas a Experimento de enriquecimiento y duplicados. Las celdas resaltadas muestran la afinidad hacia los elementos  $Cu^{65}$ ,  $As^{75}$ ,  $Ag^{107}$  y  $Cd^{111}$ .

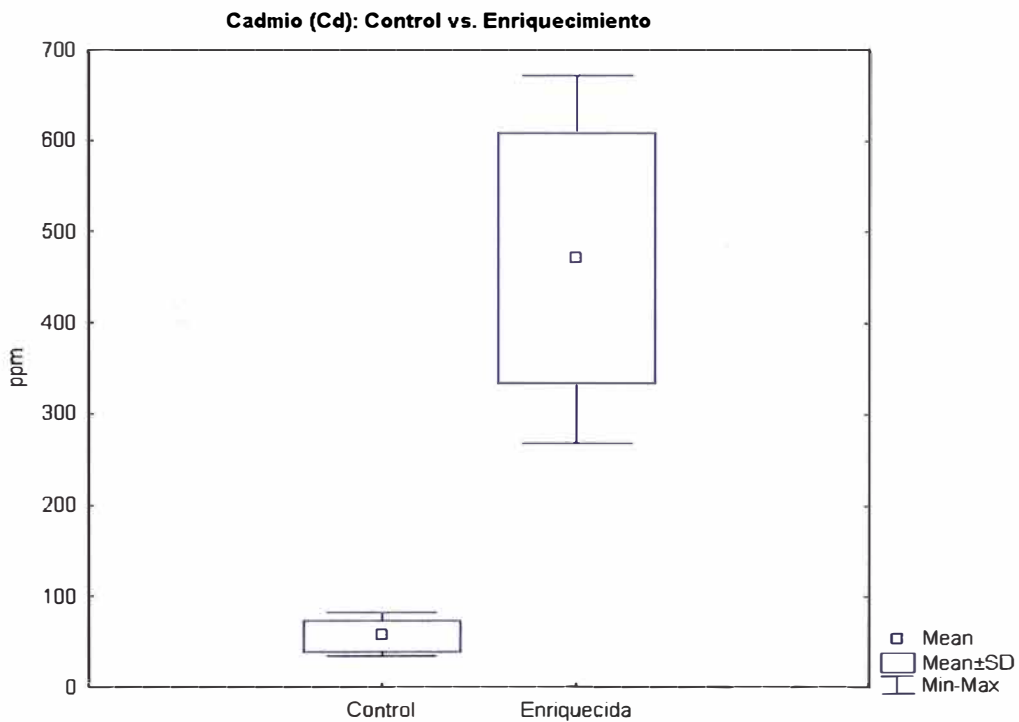
Muestra	Experimento	Mn	Fe	Cu	Zn	As	Ag	Cd	Pb
C09-1	No	2279	14191	216	2689	345	12	66	2224
	Si	1548	12081	706	2445	705	2453	502	2171
C08-1	No	1680	15805	365	2897	429	16	59	3591
	Si	1025	5186	783	1524	751	1892	671	1158
C04-1	No	3007	17308	271	3822	395	15	83	3110
	Si	1169	9556	485	5493	518	2752	377	990
C02-1a	No	1860	10211	109	1794	226	7	50	1744
	Si	849	4811	308	1047	323	1167	269	951
C20-2a	No	2527	11658	112	2571	211	9	46	1428
	Si	876	5214	537	1299	601	3141	530	990
C13-1	No	1583	9058	131	1935	249	7	35	1096
	Si	1189	6141	522	1527	623	3988	480	865
Control	Promedio con StD	2707.270	16292.89	303.919	3350.144	402.102	14.950	73.314	3177.228
Enriquecida	Promedio con StD	1366.885	10137.94	725.408	3892.946	739.653	3546.474	608.731	1678.640
Prueba de Mann-Whitney U		0.000000	4.000000	1.000000	8.000000	3.000000	0.000000	0.000000	4.000000
Prueba de Mann-Whitney Z		2.88231	2.24179	-2.72218	1.60128	-2.40192	-2.88231	-2.88231	2.24179
Prueba de Mann-Whitney p		<b>0.003948</b>	<b>0.024975</b>	<b>0.006486</b>	0.109316	<b>0.016310</b>	<b>0.003948</b>	<b>0.003948</b>	<b>0.024975</b>

**A****B**

**Figura 39:** Comparación de concentraciones por metal evaluado en muestras sometidas al experimento de enriquecimiento y muestras utilizadas como control. A: Concentración de Zn, mayor en las muestras enriquecidas. B: Concentración de Ag, significativamente mayor en las muestras enriquecidas (Tabla 18). Mean = promedio, SD = desviación estándar, min = mínimo, max = máximo.

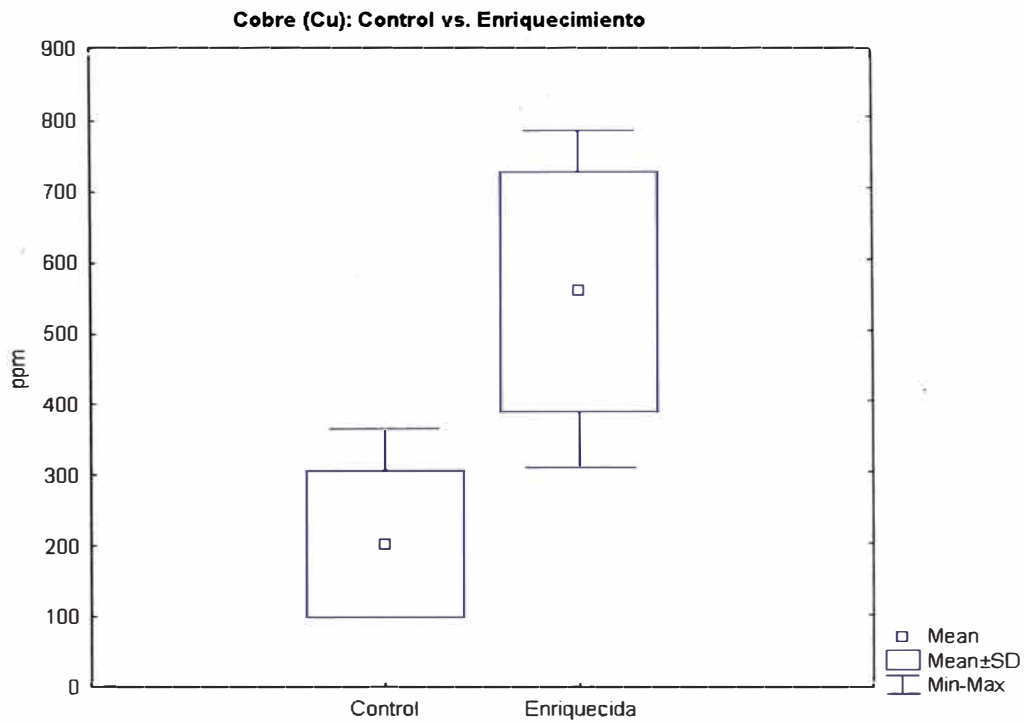


**C**

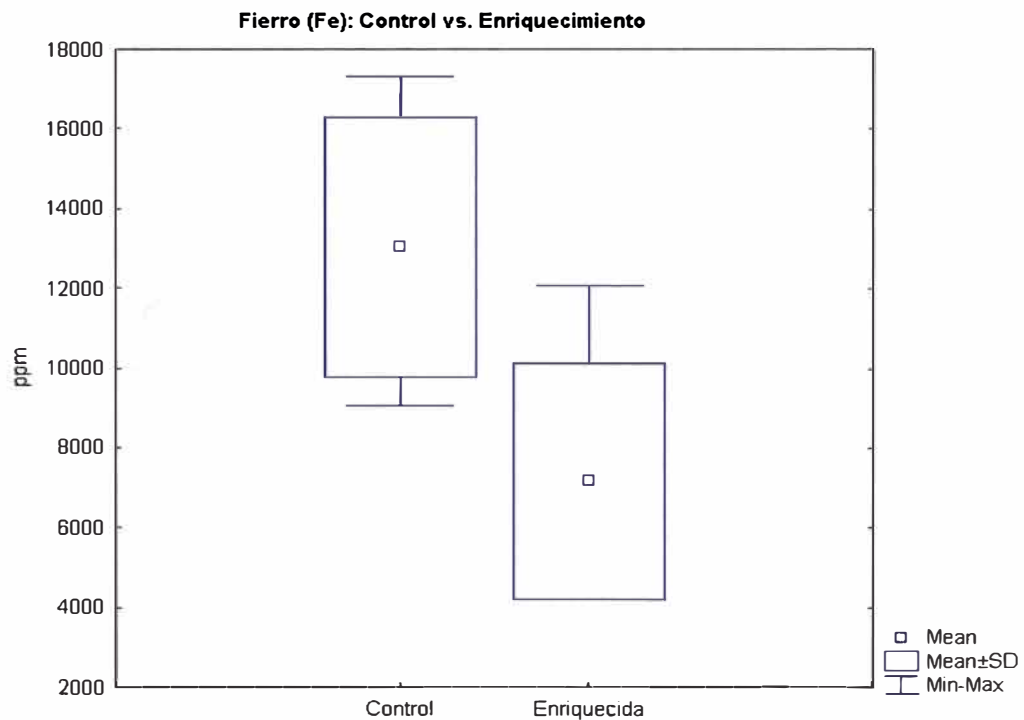


**D**

**Figura 39:** Comparación de concentraciones por metal evaluado en muestras sometidas al experimento de enriquecimiento y muestras utilizadas como control. C: Concentración de As, mayor en las muestras enriquecidas. D: Concentración de Cd, significativamente mayor en las muestras enriquecidas (Tabla 18). Mean = promedio, SD = desviación estándar, min = mínimo, max = máximo.

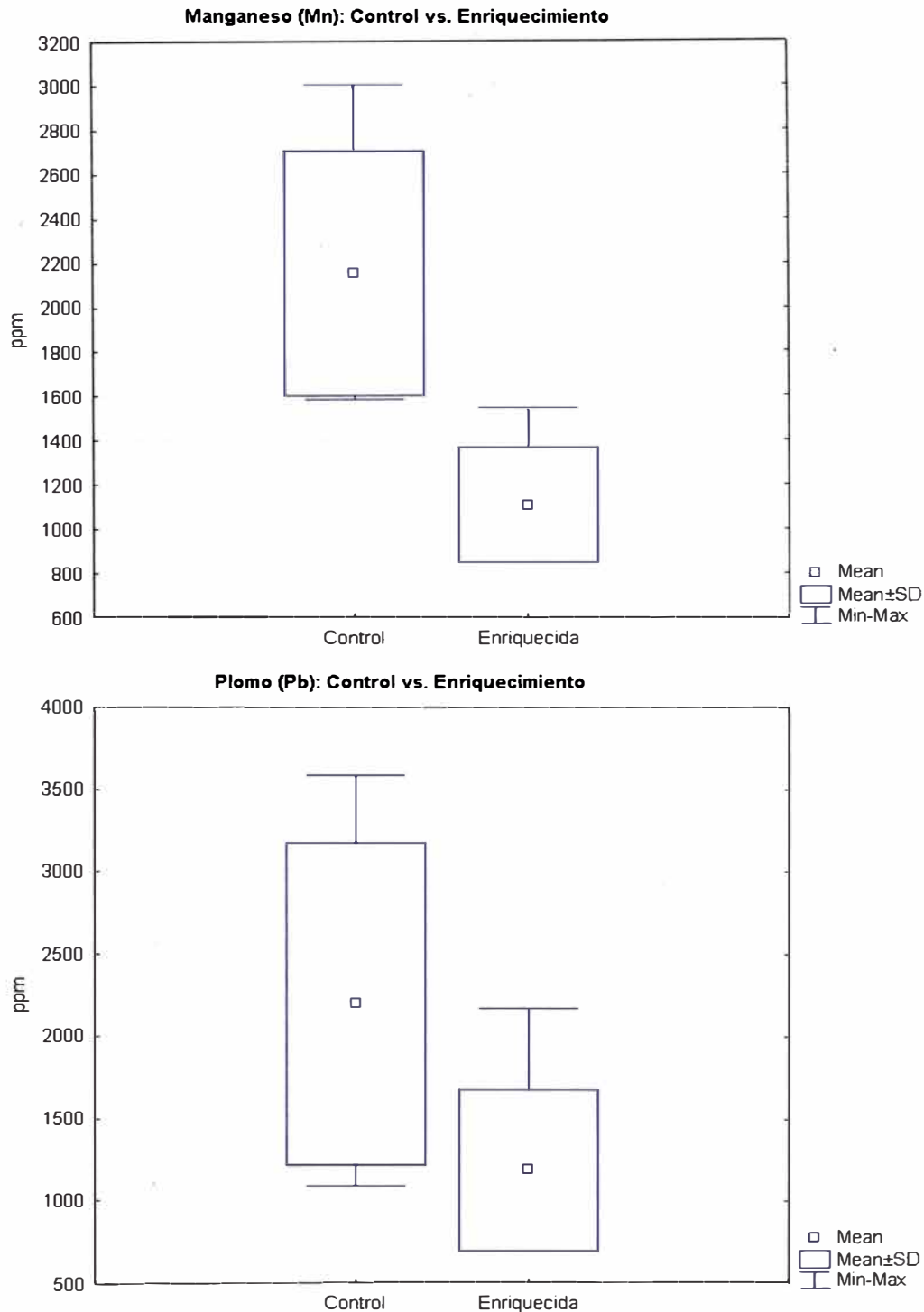


**E**



**F**

**Figura 39:** Comparación de concentraciones por metal evaluado en muestras sometidas al experimento de enriquecimiento y muestras utilizadas como control. **E:** Concentración de Cu, mayor en las muestras enriquecidas. **F:** Concentración de Fe, menor en las muestras enriquecidas, lo que indica una liberación pasiva de este elemento (Tabla 18). Mean = promedio, SD = desviación estándar, min = mínimo, max = máximo.



*Figura 39: Comparación de concentraciones por metal evaluado en muestras sometidas al experimento de enriquecimiento y muestras utilizadas como control. E: Concentración de Mn, significativamente menor en las muestras enriquecidas. F: Concentración de Pb, menor en las muestras enriquecidas, lo que indica, en ambos casos, una liberación pasiva de ambos elementos (Tabla 18). Mean = promedio, SD = desviación estándar, min = mínimo, max = máximo.*



### **9.7. Lavado experimental de líquenes del área minera con agua ultra pura (Mili Q)**

El resultado del experimento de lavado de líquenes con agua ultra pura muestra una ligera liberación de metales pesados en la mayoría de los casos (Tabla 19). Como se puede apreciar, el patrón del experimento de lavado no sigue la uniformidad notada en el experimento de enriquecimiento anterior en cuanto al comportamiento de cada elemento. Solo en el caso de Zn y Cd, se observó hasta un 50% de liberación en relación a la concentración inicial en las cuatro repeticiones del experimento.

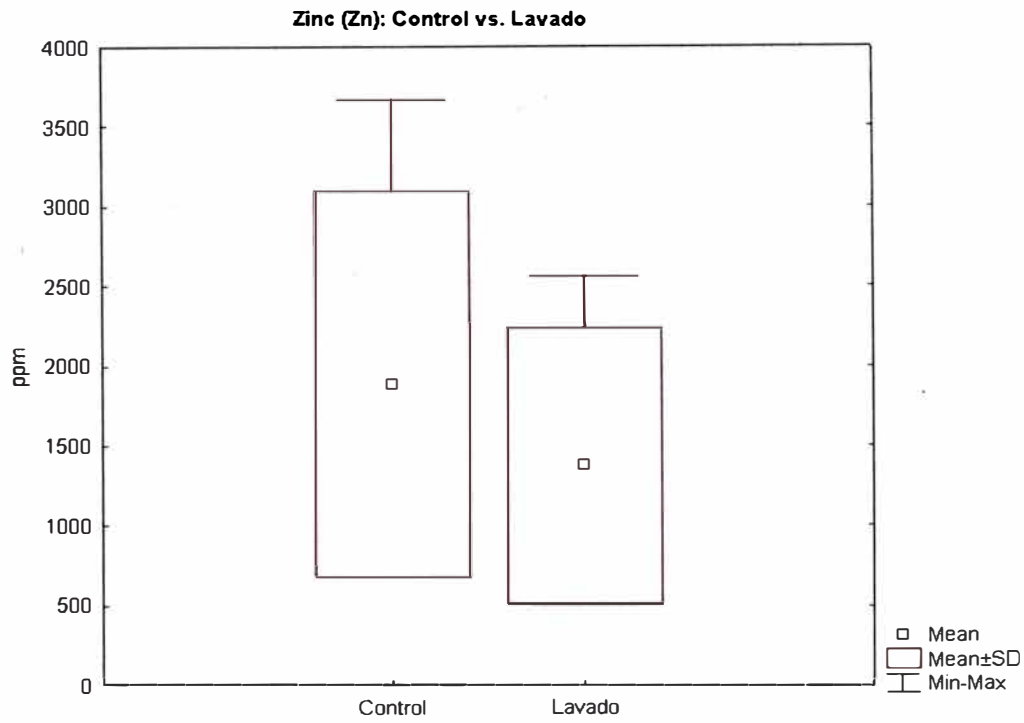
Los elementos Mn y Ag indican una liberación de hasta 50% en tres de las cuatro repeticiones y una ligera acumulación en el espécimen M02-1. Para los elementos Fe, Cu y Pb, se observó también una liberación de hasta un poco más del 50% en los especímenes M16-1\_1 y M16-1\_2, mientras los especímenes M02 y M03 no muestran cambio o indican acumulación sumamente leve. Finalmente, para Ag prácticamente no se observó cambio salvo en la muestra M16-1\_1 la cual indica una liberación del 50%.

Aunque existe una tendencia general que indica una ligera liberación de metales pesados, las diferencias observadas no son significativas en ninguno de los casos (Tabla 19, Fig. 40). Cabe mencionar que tanto las diferencias relativas observadas, en muchos casos menos del 20%, como las concentraciones medidas en los casos de Ag y Cd (sumamente bajas), se mantienen dentro del margen de error de las medidas del equipo ICP, de modo que es posible decir que el experimento de lavado con agua ultra pura no muestra un efecto significativo.

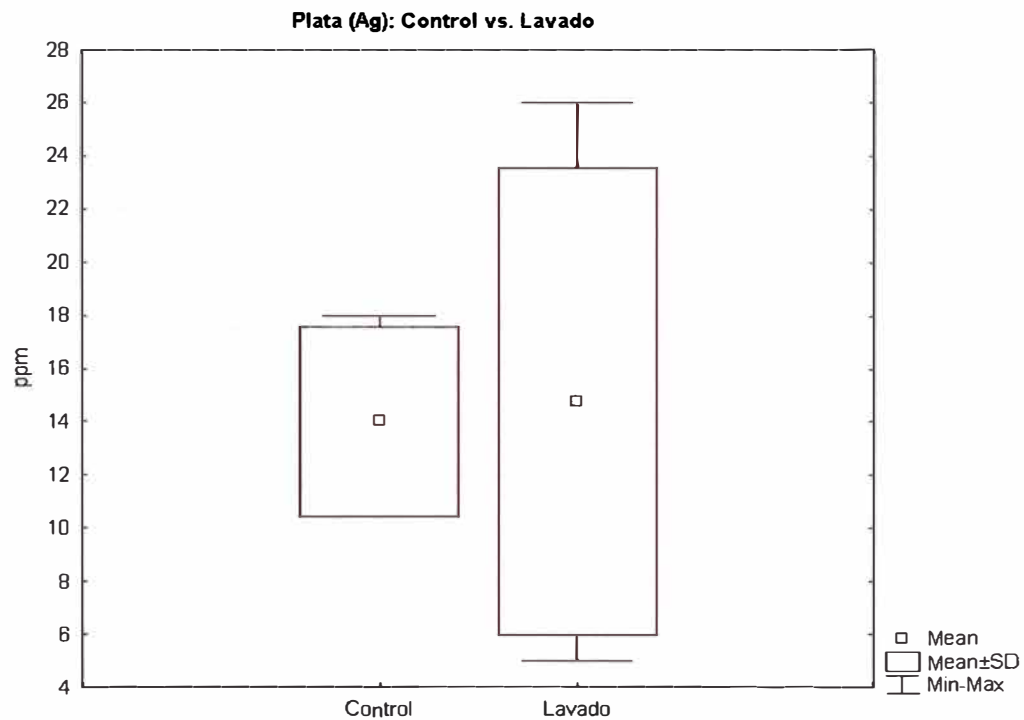
La aplicación de la prueba no paramétrica de Mann-Whitney para calcular si existían diferencias significativas en las concentraciones de metales con respecto al diseño experimental de limpieza mostró que existen diferencias sustanciales tanto en el caso de Cd como Zn, que fueron los únicos elementos en los que en los cuatro casos se evidenció limpieza.

Tabla 19. Comparación de concentraciones resultantes de muestras sometidas a Experimento 2 y duplicados. Las celdas resaltadas muestran la afinidad hacia ciertos elementos.

Muestra	Experimento	Mn	Fe	Cu	Zn	As	Ag	Cd	Pb
M03-1	No	<b>357</b>	7409	267	<b>1484</b>	<b>271</b>	11	<b>17</b>	2113
	Si	<b>261</b>	7458	305	<b>1225</b>	<b>234</b>	12	<b>16</b>	2465
M02-1	No	594	16079	396	<b>3670</b>	545	18	<b>35</b>	2491
	Si	825	20623	601	<b>2561</b>	707	26	<b>17</b>	3407
M16-1_2	No	<b>326</b>	<b>14848</b>	<b>252</b>	<b>1365</b>	<b>344</b>	16	<b>14</b>	<b>2070</b>
	Si	<b>258</b>	<b>11614</b>	<b>236</b>	<b>1212</b>	<b>261</b>	16	<b>11</b>	<b>1851</b>
M16-1_1	No	<b>288</b>	<b>12734</b>	<b>187</b>	<b>1019</b>	<b>263</b>	<b>11</b>	<b>42</b>	<b>2484</b>
	Si	<b>135</b>	<b>6698</b>	<b>85</b>	<b>506</b>	<b>109</b>	<b>5</b>	<b>19</b>	<b>1267</b>
Control	Promedio con StD	529.331	16597.61	363.016	3091.063	487.075	17.559	40.638	2518.821
Lavada	Promedio con StD	678.875	17990.97	523.364	2234.452	589.110	23.520	19.153	3162.257
Prueba de Mann-Whitney U		4.000000	6.000000	8.000000	5.000000	4.000000	7.500000	4.500000	6.000000
Prueba de Mann-Whitney Z		1.154701	0.577350	0.000000	0.866025	1.154701	-0.144338	1.010363	0.577350
Prueba de Mann-Whitney p		0.248214	0.563703	1.000000	0.386477	0.248214	0.885234	0.312322	0.563703

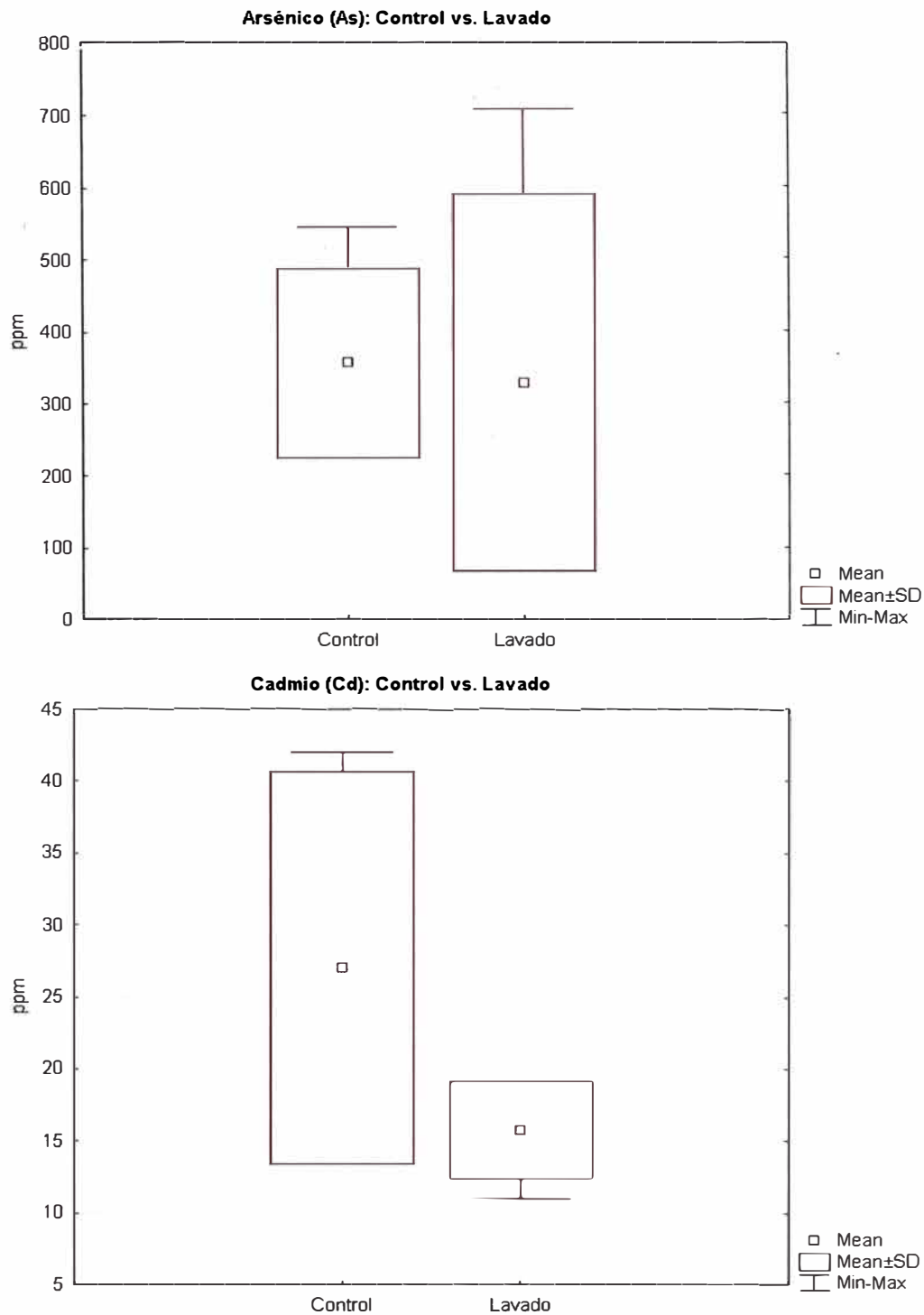


**A**

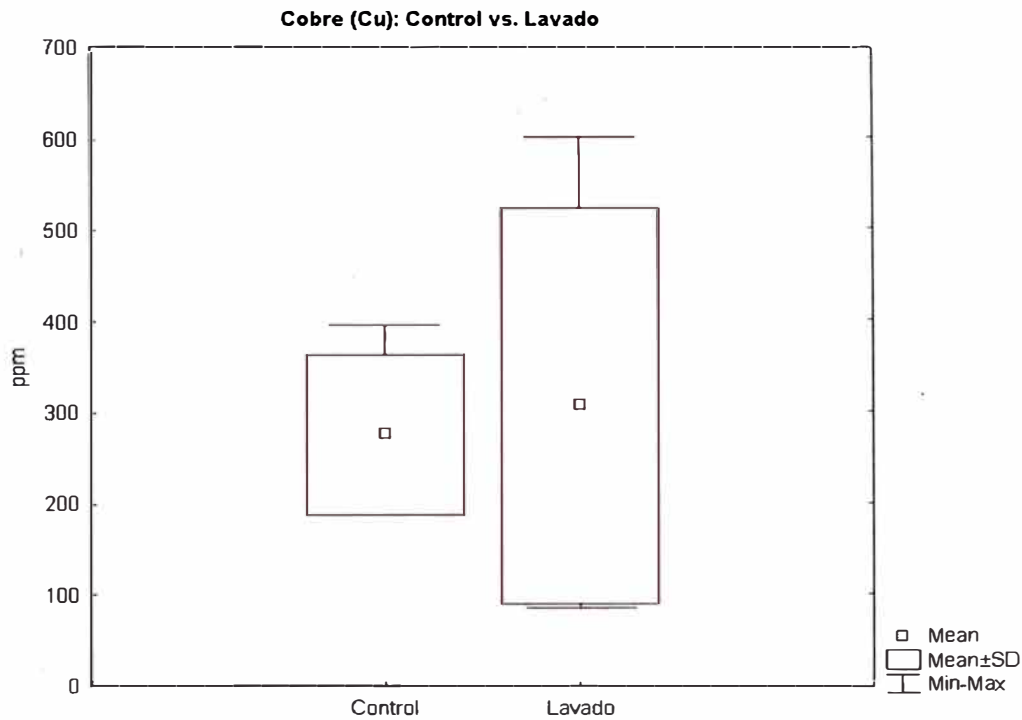


**B**

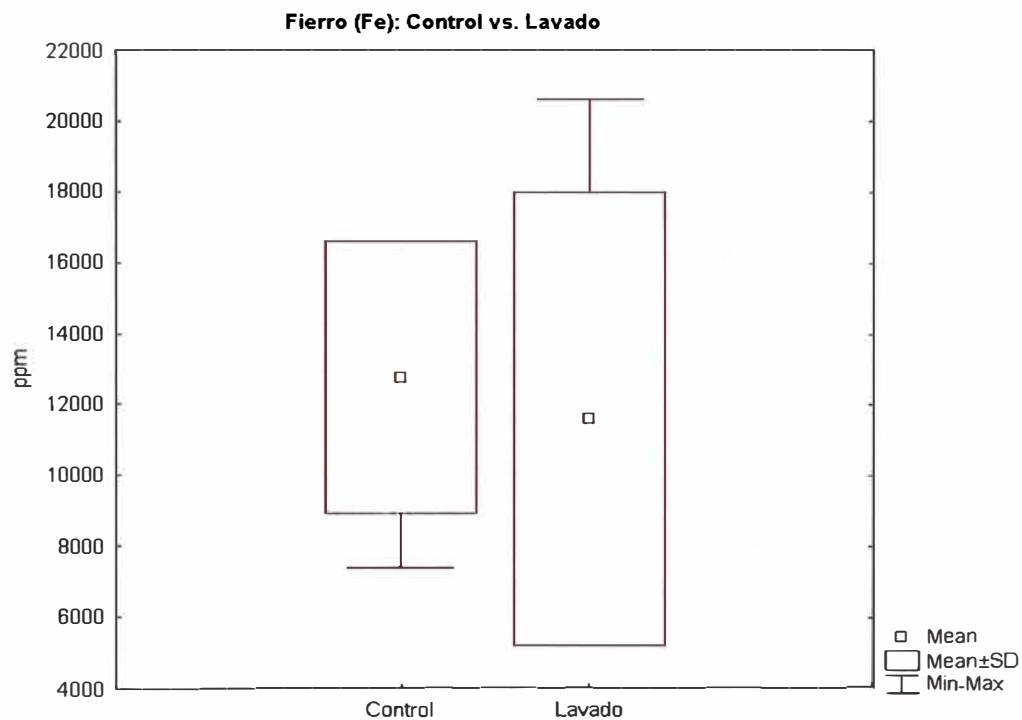
**Figura 40:** Comparación de concentraciones por metal evaluado en muestras sometidas al experimento de limpieza y muestras utilizadas como control. **A:** Concentración de Zn, menor en las muestras lavadas. **B:** Concentración de Ag, ligeramente mayor en las muestras lavadas, lo que no es significativo y se encuentra dentro del margen de error del método (Tabla 19). Mean = promedio, SD = desviación estándar, min = mínimo, max = máximo.



*Figura 40: Comparación de concentraciones por metal evaluado en muestras sometidas al experimento de limpieza y muestras utilizadas como control. C: Concentración de As, ligeramente mayor en las muestras lavadas, lo que no es significativo y se encuentra dentro del margen de error del método. D: Concentración de Cd, significativamente menor en las muestras lavadas (Tabla 19). Mean = promedio, SD = desviación estándar, min = mínimo, max = máximo.*



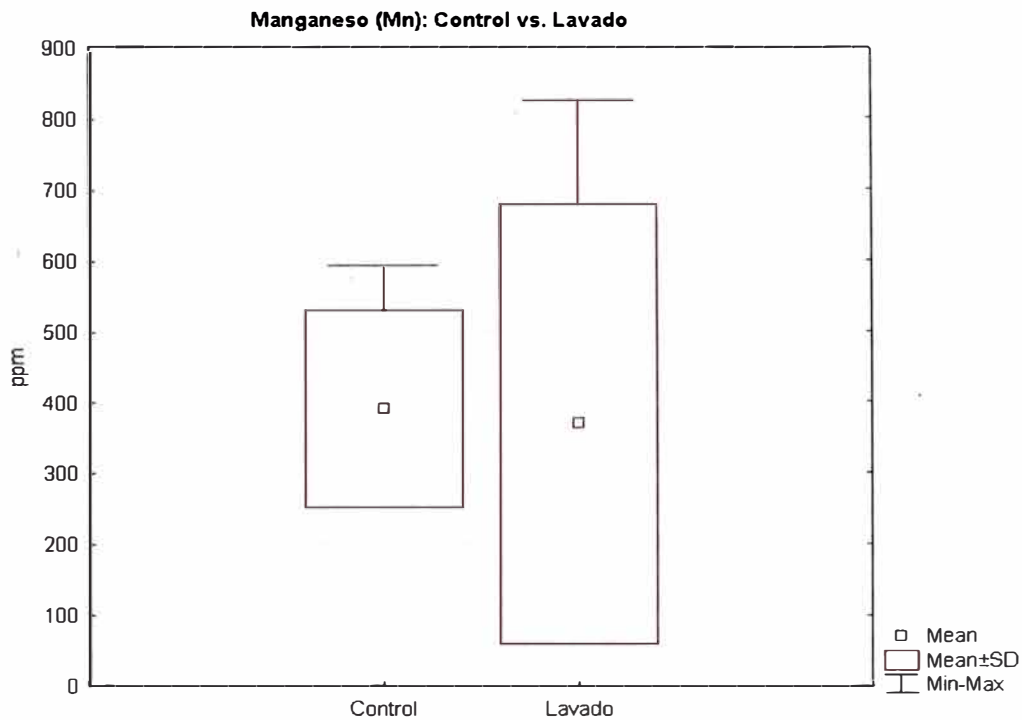
**E**



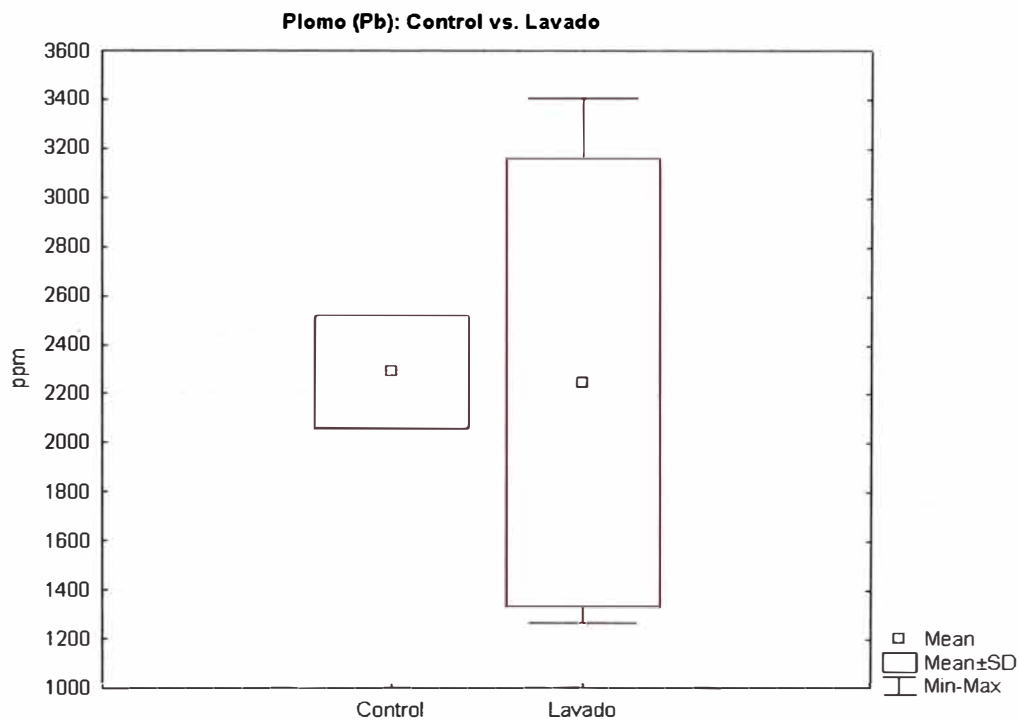
**F**

*Figura 40: Comparación de concentraciones por metal evaluado en muestras sometidas al experimento de limpieza y muestras utilizadas como control. E: Concentración de Cu, ligeramente mayor en las muestras lavadas. F: Concentración de Fe, ligeramente mayor en las muestras lavadas. En ambos casos la diferencia no es significativa y se encuentra dentro del margen de error del método (Tabla 19). Mean = promedio, SD = desviación estándar, min = mínimo, max = máximo.*





**G**



**H**

*Figura 40: Comparación de concentraciones por metal evaluado en muestras sometidas al experimento de limpieza y muestras utilizadas como control. G: Concentración de Mn, ligeramente mayor en las muestras lavadas. H: Concentración de Pb, ligeramente mayor en las muestras lavadas. En ambos casos la diferencia no es significativa y se encuentra dentro del margen de error del método (Tabla 19). Mean = promedio, SD = desviación estándar, min = mínimo, max = máximo.*

## X. DISCUSIÓN

### 10.1. Biota líquénica del área de estudio

El estudio reveló 41 especímenes de líquenes, de las cuales las más abundantes son: *Xanthoparmelia sp*, *Rhizocarpon simillimum*, *Rhizocarpon geographicum*, *Candelariella vitellina*, *Xanthomendoza mendozae*, *Lecanora polytropa*, *Rhizocarpon irregularis*, *Acarospora squamosa*, y *Umbilicaria leprosa*. Todas las especies encontradas son típicas de áreas templadas o, en el trópico, de regiones Andinas de altitudes de mayor de los 3000 m <sup>(36, 184)</sup>. Pese a que se sabe poco de la diversidad líquénica de los Andes, se comparó el resultado de las identificaciones con el checklist existente <sup>(57)</sup> y se descubrió que hay 34 nuevos reportes para Perú.

Al verificar los registros existentes tanto en el listín (checklist) mundial, como en la base de datos de herbario de líquenes (Lichen Herbarium Database) – LICHCOL <sup>(23)</sup>, de países que cuentan con características geográficas similares, como Ecuador y Bolivia, se halló que en el caso de Ecuador, las únicas especies iguales registradas son *Coccocarpia palmicola*, la diferencia es que fue colectada a aprox. 2000 msnm, y *Xanthomendoza mendozae* a 3500 msnm. Para Bolivia, sin embargo, las especies *Aspicilia contorta*, *Candelariella vitellina*, *Coccocarpia palmicola*, *Diploschistes scruposus*, *Endocarpon pusillum*, *Punctelia stictica*, *Rhizocarpon geographicum*, *R. obscuratum*, *Tephromela atra* y *Umbilicaria calvescens*, se encuentran registradas en el checklist, mientras que en la base de datos LICHCOL no se encuentra ninguna de las especies identificadas.

Las comunidades líquénicas se distribuyen de acuerdo a las condiciones geográficas existentes, estas condiciones definen los tipos de sustratos que existen y las condiciones microclimáticas. En el Perú existen tres divisiones naturales (costa, sierra, selva) con diferentes tipos de vegetación, siendo que en la costa, que es un territorio desértico, existen pocos líquenes, la mayoría sobre rocas y tierra, estos son aquellos adaptados a condiciones secas.

Es posible establecer una relación con líquenes del desierto de Atacama, del cual la costa Peruana representa una prolongación. En la selva, por el contrario, se hallan tanto líquenes tropicales crustosos como macrolíquenes foliosos, en su mayoría especies epifitas, y por las condiciones la diversidad es más alta. En cambio, en la sierra, en su mayoría los líquenes que pueden observarse crecen sobre rocas, son de tipo crustosos a foliosos, mostrando una diversidad media. Muchos taxones de la sierra representan grupos filogenéticamente primitivos como los de las familias Acarosporaceae, Candelariaceae y Rhizocarpaceae.

De este modo, a menor altitud se encontrará una diversidad y abundancia de líquenes diferente a la que se encontrará a una altitud mayor, si adicionalmente se considera el nivel de humedad entonces existirá una variación mayor (como es el caso de la selva). A 4500 – 5000 msnm, en los Andes Peruanos, la flora liquénica consiste básicamente en líquenes crustosos y en algunos casos foliosos, estas especies se desarrollan sobre rocas (principalmente calcáreas y de sílice), debido a que otros sustratos, como troncos de árboles, no se encuentran disponibles por las características del área. Evidentemente, las comunidades que se desarrollan en esta área deben contar con mecanismos que les permitan vivir en condiciones de gran altitud y baja humedad. Los líquenes que se encuentra en esta área muestran una gran afinidad con los presentes tanto en el hemisferio norte como el hemisferio sur, es decir, la Antártida.

Estudios biogeográficos evidencian que existen especies que han pertenecido a áreas con características geográficas y climáticas similares y que de algún modo han llegado y se han adaptado a las ligeras diferencias de los Andes, por ejemplo, especies de la familia Candelariaceae que se han observado también en la Antártida. Esto se puede corroborar con el hallazgo de la especie *Candelaria murrayi* en Perú, una especie hasta entonces conocida solamente del extremo sur de Sudamérica <sup>(135)</sup>. De este modo, es posible especular que las especies presentes en ambientes con características de baja temperatura y bajo porcentaje de humedad, como zonas de Europa central y áreas boreales de Norte América podrían también encontrarse en los Andes Peruanos.

Es importante mencionar que la supuesta amplia distribución de estos líquenes facilita su aplicación como bioindicadores ya que los resultados de este trabajo son generalmente válidos en todos los Andes con condiciones climáticas semejantes, las cuales se encuentran desde el Ecuador hasta el norte de Chile, donde también se desarrollan actividades mineras similares a las que se realizan en Perú <sup>(15, 83)</sup>.

## **10.2. Comunidades liquénicas en el área de estudio**

Aunque a primera vista el crecimiento de líquenes sobre rocas en la región Andina, y también en el área de estudio, parece desordenado, un análisis detallado puede hallar patrones de distribución que indican la formación de ciertas comunidades o variedades de comunidades. En el presente estudio, se asumió que un factor importante podría ser la forma y el nivel de contaminación con metales pesados, ya que se sabe que los líquenes reaccionan a la presencia de estos elementos de forma diferente y específica.

Es necesario mencionar que en el caso especial de los Andes Peruanos, existe un área amplia en la cual se desarrolla una de las principales actividades económicas del país, la minería, lo que aumenta un gradiente más en el desarrollo de comunidades liquénicas, el cual es la contaminación <sup>(43)</sup>. En general, mientras sobre rocas de diferente tipo se forman comunidades diferentes, la contaminación con metales pesados no causa la formación de comunidades distintas sino más bien la alteración de las mismas, de modo que se puede asumir que bajo las mismas condiciones pero con diferentes niveles de contaminación, se encuentran alteraciones de la misma comunidad de líquenes.

Se debe recordar que para el presente estudio se asumió que en las áreas de estudio (control y minera) se encontrarían las mismas comunidades de líquenes, lo cual es lógico desde el punto de vista ecológico; la variante debería radicar en la presencia o apariencia de las especies en base a la contaminación existente. En el presente estudio, la combinación de los métodos de Baldock (1982) <sup>(15)</sup>, ordenación y clasificación de las muestras tomadas en el campo, confirmó que las comunidades liquénicas en el área de control y minera son básicamente las

mismas, variando más bien en la presencia y ausencia de ciertas especies como respuesta a los diferentes tipos de contaminación.

De este modo, se podría afirmar que en condiciones ambientales normales las comunidades de líquenes presentes en diferentes áreas de los Andes son básicamente las mismas. Sin embargo, existe un gradiente natural que hace que la composición y la abundancia de especies en relación al área que se estudie varíe, este gradiente es la sucesión, o sea el desarrollo de una comunidad empezando con especies pioneras hasta especies de clímax <sup>(71, 81, 185)</sup>.

Este gradiente se halló al efectuar el análisis de comunidades, utilizando métodos de análisis multivariados (análisis cluster) y la construcción de un dendograma. Dicho gradiente, provoca que en ambas áreas de estudio, algunas muestras contengan especies pioneras (jóvenes) mientras otras contienen especies clímax (adultas), y de este modo, el dendograma mostró una separación de las muestras analizadas en dos grandes grupos: el primero, más pequeño, que hace referencia a muestras que contienen especies pioneras, y un segundo grupo, más grande, que corresponde a las muestras más avanzadas con especies de tipo clímax. Dentro de las especies pioneras se observó que la mayoría correspondían a las foliosas, escumulosas o semi-crustosas, mientras que en el grupo clímax se consiguió identificar a las especies crustosas.

Esto posiblemente se explica por el hecho de que los líquenes crustosos tienden a crecer más lento y por eso necesitan más tiempo para establecer talos maduros. Por lo tanto, el análisis también confirmó que las comunidades para ambas áreas son las mismas, diferenciándose básicamente en la ausencia o presencia de unas pocas especies. El hecho de que en el análisis cluster, las muestras de ambas zonas que representan estados pioneros se agrupan, claramente demuestra que se trata de la misma comunidad.

En estudios de comunidades liquénicas sobre rocas en Europa, Wirth (1972) <sup>(183)</sup> distinguió varias comunidades con el método de Braun-Blanquet, dándoles nombres latinos con una estructura jerárquica e incluyendo a las especies características para cada comunidad. Ya que como anteriormente mencionado



existe gran semejanza entre las comunidades rocosas de los Andes con los de Norte América y Europa, podemos comparar con los presentes resultados. Wirth describe a la clase: "Rhizocarpetea geographici", caracterizado por abundancia de *Rhizocarpon geographicum*, *Lecanora polytropa* y *Acarospora fuscata*, varias especies de *Umbilicaria*, *Aspicilia cinereocaesia*, *Lecidea sp*, *Xanthoparmelia sp* en rocas ácidas.

Dentro de esta clase establece varias asociaciones, como el *Umbilicarion hirsutae*, las cuales se definen dependiendo de factores como inclinación del sustrato, precipitación, entre otros. Debido a la carencia de estudios más especializados, es difícil agregar la presente comunidad a una asociación en especial pero en general es evidente que las comunidades liquénicas del área de estudio representan una variación de la clase Rhizocarpetea geographici, la cual presenta mayor semejanza con la asociación del Umbilicarion hirsutae.

### **10.3. Efecto de la contaminación sobre los comunidades liquénicas**

Sin embargo, fuera de la separación observada en el dendograma debido al gradiente de sucesión, se observó la aparición de dos grupos diferenciados, uno formado por las muestras del área de control y otro formado por las muestras del área minera. Esta separación fue también evidente en el dendograma, donde que se observó que dentro de los dos grupos naturales formados de acuerdo a la edad de las comunidades, había también la separación entre muestras del área de control y del área minera.

Del mismo modo, se evidenció una variación de especies diferente al comparar las áreas de control y minera, siendo que en las muestras del área de control se observó una mayor diversidad de especies que en el área minera. Esto coincide con las expectativas dado que se había considerado la existencia de contaminación diferencial, de modo que se esperaba una variación en el número de especies en las muestras de las diferentes áreas.

Las especies que se encuentran presentes únicamente en el área de control son: *Coccocarpia palmicola*, *Diploschistes scruposus*, *Lecanora garovaglii*,

*Lecidea lithophila*, *Rhizocarpon obscuratum*, *Rh. petraeum*, *Rh. sublecanorinum*, *Rimelia sp*, *Tephromela atra*, *Umbilicaria calvescens* y *U. kraschenikowskii*, mientras que las especies presentes únicamente en el área minera son: *Acarospora flava*, *Heterodermia sp* y *Leprocaulon gracilis*. Del mismo modo, las especies que ocurren tanto en el área de control como el área minera incluyen 24 especies de taxones frecuentes como *Xanthoparmelia sp*, *Rhizocarpon similis*, *Rh. geographicum*, y *Candelaria vitellina*.

#### **10.4. Acumulación de metales pesados en los líquenes**

Como se mencionó, se había postulado un gradiente de contaminación entre las áreas estudiadas, con una contaminación local principalmente presente en el agua en el área minera y una posible contaminación difusa por corrientes de aire en el área de control.

Para corroborar la existencia del mismo se analizó la concentración de metales pesados de un grupo de especímenes selectos, y los resultados mostraron que efectivamente existía una contaminación diferencial, aunque de manera más compleja como inicialmente esperada. Más precisamente, pese a que se esperaban mayores concentraciones en las muestras provenientes del área minera, los resultados mostraron que los especímenes del área de control tenían una concentración significativamente mayor de metales pesados a los del área minera.

Se sabe de reportes de la revista "Actualidad Minera" que la empresa propietaria del área donde se encuentra la unidad minera Andaychagua, Volcan Compañía Minera S.A.A., está cumpliendo con la regulación de emisiones, de modo que ninguna de ellas sobrepase los límites máximos permisibles. Los resultados que indican menor contaminación con metales en el área minera son consistentes con eso, aunque la concentración absoluta de la mayoría de metales (especialmente Fe) todavía es alta.

Sin embargo, mientras el control local de emisiones es posible y aparentemente causado por Volcan, la contaminación por el aire, a través de corrientes

dominantes del viento, es difusa y podría originar de distancias grandes de hasta 50 km, de manera que el control de estas emisiones sobre la contaminación local del área de estudio es difícil o hasta imposible. Por lo tanto, aunque la compañía minera local Volcan parece seguir los límites de emisión, una gran parte de la contaminación en las áreas rocosas expuestas al viento, como es el área de control, proviene de esta contaminación difusa de fuentes posiblemente muy distantes.

Una explicación adicional es que líquenes crecen lentos y acumulan metales a través de muchas décadas, así que fuentes de contaminación no solamente distantes pero también en el pasado, ya que previa a la compra de las unidades mineras de la zona existió una total falta de control en relación al impacto ambiental que se daba por las actividades mineras de la zona, lo cual resultó en contaminación residual. Esta puede ser una explicación para la alta concentración de metales en los líquenes del área de control, los que se encuentran morfológicamente saludables y cuya variación es, como ya se ha mencionado, mayor; sin embargo, esto a su vez indica que han estado en exposición crónica a este tipo de elementos durante muchos años (la actividad minera en la zona tiene alrededor de un siglo).

Como se mencionó, se esperaba una diversidad y variación liquénica más alta en el área de control, con especies de líquenes que morfológicamente se encontrarán saludables, y esto se corroboró con los datos tomados en campo. Sin embargo, la contradicción radica en la concentración de metales pesados que se halló en el área de control, la cual supera la analizada en el área minera, pese a que se esperaba lo contrario. Para esta aparente contradicción existen varias posibles explicaciones.

Se sabe que muchos líquenes son intolerantes a concentraciones elevadas de metales pesados y responden con daños morfológicos y ecofisiológicos <sup>(11, 12, 13, 14, 61, 70, 82, 136, 142, 148, 175)</sup>. Otras especies pueden tolerar altas concentraciones sin daños visibles y suelen tener mecanismos particulares para eso, como la síntesis de fitogelatinas <sup>(130, 148, 168, 169)</sup>. En muchos casos, los metales pesados y otros contaminantes se acumulan en zonas particulares del talo liquénico,

generalmente en los compartimentos lejanos de alta actividad metabólica (19, 21, 67, 86, 129)

Hay dos formas en que los metales están presentes en el líquen: extracelular en las hifas, sin producir daño y simplemente acumulándose, e intracelular en hifas y algas, haciendo daño al aparato celular y causando intoxicación. Al no tener contacto directo con el metabolismo del líquen, los metales no provocan la intoxicación del mismo, y esto se puede mantener por largos períodos de tiempo acumulando metales extracelularmente.

Sin embargo, especialmente cuando el ambiente se vuelve ácido, los procesos fisicoquímicos de absorción cambian y también las paredes celulares se debilitan, lo que reduce la capacidad de absorción extracelular y permite el ingreso de los metales pesados al interior de los espacios celulares, provocando la intoxicación del líquen y posteriormente su desaparición. (121).

Bajo circunstancias normales, los líquenes tienen la capacidad de acumular grandes cantidades de metales en espacios intercelulares (44, 60, 124) y adhiriéndolos a las paredes de las hifas extracelularmente (139, 140). En condiciones naturales, se han tomado lecturas de concentraciones de metales pesados en líquenes que muestran un amplio rango que varía de concentraciones muy pequeñas, para el caso de As, Cd, Zn y Cu hasta grandes concentraciones, como es el caso de Pb, Fe y Mn.

En el análisis que se realizó a las muestras elegidas, todas mostraron concentraciones elevadas, excepto en el caso de Ag, para el cual no existen registros de análisis elemental hasta la fecha.

Tabla 20: Comparación de concentraciones analizadas en condiciones naturales, áreas contaminadas y concentraciones obtenidas en las áreas de estudio.

Elemento	Referencia	Áreas Naturales		Referencia	Áreas contaminadas		ESTUDIO ACTUAL	Áreas estudiadas	
		Minima	Máxima		Minima	Máxima		Área minera	Área control
Mn	Nieboer <i>et al</i> (1978)	10	300	Nieboer <i>et al</i> (1978)	300	5000		391.3	2156
Fe	Nieboer <i>et al</i> (1978)	50	1600	Noeske <i>et al</i> (1970)	4875	14400		12767.5	13038.5
Cu	Puckett and Burton (1981)	0.7	5	Tomassini <i>et al</i> (1976)	15	250		275.5	200.7
Zn	Nash (1975)	10	30	Nash (1975)	1000	25000		1884.5	2618
As	Puckett (1978)	0.1	2.2	Hocking <i>et al</i> (1978)	128	11400		355.8	309.2
Cd	Gough <i>et al</i> (1988)	0.1	0.3	Nieboer <i>et al</i> (1978)	30	330		27	56.5
Pb	Puckett (1978)	0.4	9.2	Laaksovirta <i>et al</i> (1976)	111	2750		2289.5	2198.8
Ag		-	-		-	-		14	11

En estudios previos de Norteamérica y Europa, los líquenes han sido estudiados tanto en áreas naturales como en áreas contaminadas, como los alrededores de plantas de energía, áreas mineras, fundidoras de oro y fundidoras de níquel <sup>(170)</sup>, entre otros, de modo que se cuenta con información de concentraciones naturales y elevadas de elementos como Ce, Na, U, As, Ni, V, Zn, Cu, Hg, Pb, F y S.

En el análisis que se realizó en el área minera y el área de control (Tabla 20) se encontró que de acuerdo a las concentraciones obtenidas en áreas naturales, todas las muestras evaluadas resultaron con concentraciones sumamente elevadas en siete de los ocho elementos (no existen registros de análisis de Ag). En el caso del área minera, Mn, Zn, As y Cd, tienen concentraciones que limitan con los valores mínimos encontrados al evaluar áreas contaminadas, por el contrario, Fe y Pb llegan hasta el valor máximo registrado y Cu supera al valor correspondiente.

En el caso del área de control, Mn se encuentra en un valor intermedio en relación a las concentraciones medidas en el área contaminada, en el caso de Zn y Cd, los valores son ligeramente mayores pero también se orientan hacia el límite inferior, lo mismo que se aprecia en As, salvo que su concentración es

menor a la analizada en el área minera; en los casos de Pb, Fe y Cu, los valores se encuentran orientados al límite superior de los valores encontrados en la literatura.

Como se mencionó anteriormente, los cambios ambientales artificiales, los cuales pueden ser muy sutiles, pueden causar que la capacidad de los líquenes de almacenar metales pesados extracelularmente cambie. Por ejemplo un ligero decremento en el pH cambia el comportamiento de absorción de metales y se hace más probable una incorporación intracelular de metales, lo que puede resultar en la intoxicación del líquen.

Por lo tanto, como explicación de los resultados encontrados en este estudio, se puede sostener que el área control tiene más metales acumulados por contaminación difusa, la cual se ha acumulado a través del tiempo, y dado que no existe otro factor que afecte a los líquenes, estos mantienen su capacidad de acumular grandes cantidades de metales.

En el área minera, en cambio, posiblemente una ligera disminución de pH del agua causa que la capacidad de los líquenes de acumular metales extracelularmente disminuya, de modo que los metales ingresan a espacios intracelulares y como consecuencia la tasa de mortalidad de los mismos es más alta, lo que también significa que hay una dinámica más alta con una mayor cantidad de talos jóvenes. Finalmente resulta que en promedio hay más daños y más alteración en el área minera aunque hay menos concentración de metales acumulados en los líquenes.

#### **10.5. Líquenes como bioindicadores**

Entonces se puede afirmar que los líquenes sirven como bioindicadores ya que con la presencia o ausencia de los mismos se puede detectar contaminación, por muy ligera que sea. De hecho, la presencia de la especie *Xanthomendoza mendozae* en el caso del área de control indica una calidad ambiental aceptable, del mismo modo en que *Umbilicaria leprosa* indica acidez y contaminación por presencia de metales pesados.



Las especies presentes únicamente en el área de control tienen mayor sensibilidad a la acidez detectada en el agua, con esta información se podría argumentar que estas especies, en condiciones naturales saludables, son aquellas que tienen menor capacidad para acumular metales pesados y se podría afirmar en sentido inverso para el área minera.

Sin embargo, esto queda refutado al verificar las acumulaciones registradas luego del análisis elemental. Especies del área de control, como *Xanthomendoza mendozae*, mostró concentraciones bajas en relación al promedio general, sin embargo, especies como *Punctelia stictica* y *Paraparmelia sp*, mostraron concentraciones sumamente altas, lo cual indica que pese a que estas especies están presentes solamente en el área de control, tienen una gran capacidad de acumular metales pesados.

Por el contrario, en el caso del área minera, la especie *Leprocaulon gracilis* mostró concentraciones sumamente bajas en relación al promedio, lo que indica, que pese a que su presencia se limita a únicamente el área minera, su capacidad de acumulación de material particulado es menor a la del resto de especies presentes ahí.

Adicionalmente, el resultado de la prueba de especies indicadores implementado en el PC-ORD muestra que las especies significativamente indicadoras para el área control son: *Acarospora molybdina*, *Lecidea lithophila*, *Rhizocarpon petraeum*, *Rh. obscuratum*, *Rh. geographicum*, *Candelariella vitelina*, *Umbilicaria kraschenikowskii* y *Xanthomendoza mendozae* y para el área minera son: *Acarospora squamosa*, *Rhizocarpon irregularis*, *Umbilicaria leprosa*, *U. calvescentoides*, *Endocarpon pusillum* y *Leprocaulon gracilis*, de modo que la presencia de estas especies cerca de cursos de ríos puede indicar la calidad ambiental del agua de la zona en la que se encuentran.

Sin embargo, debido al alto nivel de contaminación difusa encontrada en el área de control, no es posible afirmar una ausencia completa de contaminación, ya que la contaminación difusa se transporta por el aire y como se ha podido

comprobar, los líquenes del área de control, pese a su diversa presencia y vitalidad los acumulan de manera pasiva y debido a que el pH de la zona no es ácido, no resultan intoxicados, sin embargo, los análisis muestran la presencia de metales.

Entonces, ya que el agua tiene una calidad aceptable, especies como *Xanthomendoza mendozae* se desarrollan mostrándose saludables, pero como se indicó previamente, la presencia de material particulado en el aire simplemente hace que este líquen acumule los elementos que se hallen presentes, por ejemplo, Mn, Fe, Cu, Zn, As y Pb.

En el caso del área minera, en ninguna de las 40 muestras tomadas se encontró *Xanthomendoza mendozae*, lo que indica, que pese a su capacidad de acumular metales pesados, existía un factor adicional que inhibió su crecimiento o de lo contrario lo intoxicó. El único factor relevante fue el pH del agua, lo cual soporta el argumento de que ciertas especies de líquenes, aunque con capacidad de acumular metales pesados, en condiciones más ácidas y con contaminación por metales pesados presente no pueden desarrollarse.

En el presente estudio no se logró identificar líquenes que fueran bioindicadores de presencia o ausencia de contaminación de aire porque efectivamente no había zona sin contaminación. Para lograr esto sería necesario encontrar un área de control que sea protegido contra corrientes de aire contaminados y que estaría lejos de cualquier actividad minera, lo cual en la zona de estudio es difícil encontrar.

Se debe considerar todos los efectos de una exposición crónica a metales pesados, la mayoría de las concentraciones medidas se encuentran fuera del rango de presencia natural, por esto, es necesario observar que la presencia de metales pesados en el área constituye un peligro potencial. Este tipo de peligros afectan directamente a los pobladores de las zonas aledañas, debido a que al igual que los líquenes, ellos se encuentran sometidos a una exposición crónica, y dado que los metales pesados son elementos cuya eliminación se tarda más

tiempo que la ingesta, es posible iniciar una acumulación en el cuerpo humano y en algún momento presentar síntomas de una intoxicación por los mismos.

#### **10.6. Líquenes como "biolimpiadores"**

Así como los líquenes pueden ser utilizados como bioindicadores por su presencia o ausencia en zonas determinadas, las medidas de concentraciones de metales pesados y los experimentos realizados, tanto de enriquecimiento como de lavado, muestran que los líquenes efectivamente acumulan ya almacenan metales pesados.

Es necesario mencionar que fuera del experimento, un género en particular, *Paraparmelia*, igual como el género *Punctelia*, fueron los que acumularon mayor cantidad de metales pese a que se encontraron en el área de control, estos líquenes mostraron una gran afinidad por todos los elementos medidos, incluyendo Ag, el cual tuvo las menores concentraciones en todos los demás casos.

El género *Paraparmelia* pertenece a la familia de las *Parmeliaceas*, al igual que las especies del género *Xanthoparmelia*. Estas muestras fueron sometidas al experimento de enriquecimiento y en parte mostraron una gran capacidad para absorber los metales pesados que se encontraban en la solución. Sin embargo, en algunos casos no se registró un enriquecimiento diferencial, esto puede deberse a que estos líquenes ya contaban con una concentración elevada de metales antes de haber sido expuestos al experimento. Aquí se puede argumentar que en todos los casos posiblemente se dio una saturación y el espacio extracelular que es utilizado por el líquen para acumular metales ya no se encontraba disponible, o solamente con concentraciones de solución mucho más altas.

La vitalidad de las muestras colectadas en el área de control es otra evidencia para afirmar que los líquenes son acumuladores de metales pesados eficientes, ya que, pese a la concentración elevada de metales, las muestras se encontraban saludables.

Cabe mencionar que en el área de control, lo cual también se encontraba a la orilla del río, el pH del agua no era ácido, factor imprescindible para la acumulación de elementos por el líquen, se debe recordar que ante pH ácido, el líquen sufre intoxicación por incorporación de metales a espacios intracelulares.

Por otro lado, el experimento de lavado demostró 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 líquénicas, de modo que se puede afirmar que una vez que los elementos se absorben permanecen en el interior, en condiciones naturales. Esto significa que cuando haya lluvia, los elementos no fluyen con el agua, más bien, los líquenes actúan como “acumuladores” pero no como “liberadores”, aunque los experimentos indican que en caso de saturación, ciertos metales ya de alta concentración, como Fe, Pb, Zn y Mn, ya no son efectivamente absorbidos y se mantienen en el ambiente y eventualmente llegan al agua y de esta forma finalmente al consumo humano.

## XI. CONCLUSIONES

- 1) Existe una situación de contaminación evidente, en la cual se pueden diferenciar un tipo local que se transporta por los cursos de agua, que aún siendo ligera en relación a la aérea tiene un efecto negativo evidente sobre los líquenes que se encuentran en los alrededores y el otro tipo es la que se traslada por el aire, la cual es mayor debido a la cantidad de fuentes contaminantes que existen en la zona, sin embargo, esta contaminación tiene un efecto mucho menor en los líquenes debido a los mecanismos de absorción de los mismos.
- 2) Pese a que se han establecido límites máximos permisibles para casi todas las emisiones que resultan de las actividades mineras y de cualquier otra actividad que involucre el desecho de sustancias al agua, aire o suelo, no existe una garantía de que todas ellas se cumplan a cabalidad y aún cuando se haga, es necesario evaluar el impacto real de las mismas, ya que aún cuando es ligera, es notoria y eso indica una de dos alternativas, o no se está cumpliendo con el control de las emisiones, o es necesario efectuar un estudio más profundo para evaluar los límites máximos establecidos actualmente.
- 3) El estudio demostró que los líquenes pueden ser utilizados como bioindicadores estableciendo diferentes niveles de contaminación y diferentes fuentes, ya que, se observó que aquellos líquenes presentes en el área afectada por contaminación residual aérea no son los mismos que se encuentran presentes en el área afectada por contaminación en cursos de agua aledaños, del mismo modo, es necesario comparar estas especies con áreas geográficamente similares en las que no existan actividades que impliquen procesos mineros para completar la guía de campo que se diseñó para esta investigación.
- 4) Finalmente, se comprobó que los líquenes funcionan como acumuladores biológicos eficientes, los resultados del experimento de enriquecimiento

demuestran que su uso es factible para la remoción de metales pesados en agua, sin embargo, es necesario realizar una investigación de mayor profundidad de modo que se pueda explotar esta capacidad sin necesidad de depredar a las especies naturales y sea posible la aplicación de la misma para el beneficio de comunidades rurales, esto puede realizarse efectuando ensayos en laboratorio y a mediano plazo efectuando pruebas *in situ*.



## **XII. RECOMENDACIONES**

1. Efectuar más colectas que permitan la identificación de especies nativas y del mismo modo contribuyan al conocimiento, estudio y registro de las mismas como parte de la flora liquénica peruana.
2. Efectuar estudios que permitan la evaluación de tanto los valores como los efectos reales de los límites máximos permisibles actuales referentes a metales pesados en organismos vivos.
3. Efectuar análisis de las emisiones de empresas mineras para corroborar el cumplimiento de la normatividad ambiental.
4. Efectuar ensayos que permitan conocer la capacidad real de remoción de metales pesados de los líquenes, así como las especies más eficientes en ello.
5. Ampliar y estandarizar para el Perú la metodología de usar líquenes como bioindicadores, para otras zonas de minería y otros tipos de contaminación industrial y deforestación

### XIII. FUENTES DE INFORMACIÓN

1. Aastrup, P/ Riget, F/ Dietz, R/ Asmund, G 2000: Lead, zinc, cadmium, mercury, selenium and copper in Greenland caribou and reindeer (*Rangifer tarandus*). - *Science of the Total Environment* 245(1-3): 149-159.
2. Adler, M/ Calvelo, S 2002: Parmeliaceae species (lichenized Ascomycetes) from Tierra del Fuego (southern South America) and their world distribution patterns. - *Mitteilungen aus dem Institut für Allgemeine Botanik in Hamburg* 30-32: 9-24.
3. Ahmadjian, V 1993: *The Lichen Symbiosis*. - John Wiley & Sons, Inc., New York.
4. Akcin, G/ Saltabas, O/ Yesilcimen, F/ Aslan, A 2001: Biosorption of heavy metal from aqueous solution by dried lichens. - *International Journal of Chemistry* 11(3): 141-146.
5. Armstrong, RA 1983: growth curve of the lichen *Rhizocarpon geographicum*. - *New Phytologist* 94: 619-622.
6. Armstrong, RA 2002: The effect of rock surface aspect on growth, size structure and competition in the lichen *Rhizocarpon geographicum*. *Environmental and Experimental Botany* 48(2): 187-194.
7. Armstrong, RA 2004: Lichens, Lichenometry and Global Warming. - *Microbiologist* 5: 32-35.
8. Armstrong, RA 2005: Growth curves of four crustose lichens. - *Symbiosis* 38: 47-57.
9. Armstrong, RA 2005: Radial growth of *Rhizocarpon* section *Rhizocarpon* lichen thalli over six years at Snoqualmie Pass in the Cascade Range, Washington State. - *Arctic, Antarctic, and Alpine Research* 37: 411-415.  
(b)
10. Bacci, E/ Calamari, D/ Gaggi, C/ Fanelli, R/ Focardi, S/ Morosini, M 1986: Chlorinated hydrocarbons in lichen and moss samples from the Antarctic Peninsula. - *Chemosphere* 15: 747-754.
11. Backor, M/ Váczi, P 2002: Copper tolerance in the lichen photobiont *Trebouxia erici* (Chlorophyta). - *Environmental and Experimental Botany* 48(1): 11-20.

12. Backor, M/ Zetikova, J 2003: Effects of copper, cobalt and mercury on the chlorophyll content of lichens *Cetraria islandica* and *Flavocetraria cucullata*. - *Journal of the Hattori Botanical Laboratory* 93: 175-187.
13. Backor, M/ Dzubaj, A 2004: Short-term and chronic effects of copper, zinc and mercury on the chlorophyll content of four lichen photobionts and related alga. - *Journal of the Hattori Botanical Laboratory* 95: 271-284.
14. Backor, M/ Fahselt, D 2004: Physiological attributes of the lichen *Cladonia pleurota* in heavy metal-rich and control sites near Sudbury (Ont., Canada). - *Environmental and Experimental Botany* 52: 149-159.
15. Baldock, JW 1982. Geología del Ecuador. Boletín de la Explicación del Mapa Geológico de la República del Ecuador (1:1'000,000). Ministerio de Recursos Naturales y Energéticos, División General de Geología y Minas, Quito, Ecuador, 54 pp, N° 67
16. Banco Mundial 1999: An Environmental Study of Artisanal, Small, and Medium Mining in Bolivia, Chile, and Peru. World Bank Technical Paper No. 429 (work in progress), Washington, D.C.
17. Banco Mundial 2000: Peru: Environmental Issues and Strategic Options, Washington, D.C.
18. Banco Mundial 2003:  
[www.newsandletters.org/Issues/2003/July/PeruJuly03.htm](http://www.newsandletters.org/Issues/2003/July/PeruJuly03.htm)
19. Baranowska-Bosiacka, I/ Pienkowski, P/ Bosiacka, B 2001: Content and localization of heavy metals in thalli of hemerophilous lichens. - *Polish Journal of Environmental Studies* 10(4): 213-216.
20. Bargagli, R/ D'Amato, ML/ Iosco, FP 1987: Lichen biomonitoring of metals in the San Rossore Park: contrast with previous pine needle data. *Environmental Monitoring and Assessment* 9: 285-294. Bennett, JP/ Buchen, MJ 1995: BIOLEFF: three databases on air pollution effects on vegetation. - *Environmental Pollution* 88: 261-265.
21. Bargagli, R 1989: Determination of metal deposition patterns by epiphytic lichens. - *Toxicological and Environmental Chemistry* 18: 249-256.
22. Bartholmess, H/ Burkhardt, I/ Erhardt, W/ Heidt, V/ Herzig, B/ John, V/ Kirschbaum, U/ Kunze, M/ Rabe, R/ Scholz, P/ Türk, R/ Wiegel, H/ Wirth, V 1995: Messen von Immissionswirkungen. Ermittlung und Beurteilung phytotoxischer Wirkungen von Immissionen mit Flechten.

- Flechtenkartierung zur Ermittlung des Luftgütwertes (LGW)  
Measurement of immission effects. Measurement and evaluation of phytotoxic effects of ambient air pollutants (immissions) with lichens. Mapping of lichens for assessment of the air quality]. - In: *VDI-Handbuch Reinhaltung der Luft, Band 1. VDI 3799*. Verein Deutscher Ingenieure, Düsseldorf, pp. 1-24.
23. Base de datos LICHCOL, Harrie Sipman  
<http://www.bgbm.org/scripts/ASP/lichcol/>
  24. Batic F 2002: Bioindication of sulphur dioxide pollution with lichens. En: Kranner I, Beckett RP, Varma AK (Eds.) *Protocols in Lichenology*. Berlin, Springer-Verlag, 2002: 483-503.
  25. Beck, JN/ Ramelow, GJ 1990: Use of lichen biomass to monitor dissolved metals in natural waters. - *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 44(2): 302-308.
  26. Beck, A 1999: Photobiont inventory of a lichen community growing on heavy-metal-rich rock. - *Lichenologist* 31(5): 501-510.
  27. Beckett, PJ/ Boileau, LJR/ Padovan, D/ Richardson, DHS 1982: Lichens and mosses as monitors of industrial activity associated with uranium mining in northern Ontario, Canada--part 2: distance dependent uranium and lead accumulation patterns. - *Environmental Pollution, Series B* 4: 91-107.
  28. Beckett, RP/ Brown, DH 1984: The relationship between cadmium uptake and heavy metal tolerance in the lichen genus *Peltigera*. - *New Phytologist* 97: 301-311.
  29. Bennett, JP 1995: Abnormal chemical element concentrations in lichens of Isle Royale National Park. - *Environmental and Experimental Botany* 35(3): 259-277.
  30. Beschel, RE 1958: Lichenometrical studies in west Greenland. - *Arctic* 11(4): 254. calkin, PE/ Ellis, JM 1981: A cirque-glacier chronology based on emergent lichens and mosses. - *Journal of Glaciology* 27: 511-515.
  31. Bickerton, RW/ Matthews, JA 1993: 'Little Ice Age' variations of outlet glaciers from the Jostedalsbreen ice-cap, southern Norway: a regional lichenometric-dating study of ice-marginal moraine sequences and their climatic significance. - *Journal of Quaternary Science* 8(1): 45-66.

32. Boonpragob, K/ Nash, TH", III/ Fox, CA 1989: Seasonal deposition patterns of acidic ions and ammonium to the lichen *Ramalina menziesii* Tayl. in Southern California. - *Environmental and Experimental Botany* 29(2): 187-197.
33. Boonpragob, K/ Nash, TH 1991: Physiological responses of the lichen *Ramalina menziesii* Tayl. to the Los Angeles urban environment. - *Environmental and Experimental Botany* 31(2): 229-238.
34. Brightman FH, Seaward MRD. 1977: Lichens of man-made substrates. In: Seaward MRD (Ed.) *Lichen Ecology*. London, Academic Press, 1977: 253-293.
35. Brodo, IM 1973: Substrate ecology. - In: V. Ahmadjian & M. E. Hale (eds.): *The Lichens*. Academic Press, New York and London, pp. 401-441.
36. Brodo, IM/ Duran Sharnoff, S/ Sharnoff, S 2001: *Lichens of North America*. - Yale University Press, New Haven & London.
37. Brown, DH/ Beckett, RP 1984: Uptake and effect of cations on lichen metabolism. - *Lichenologist* 16: 173-188.
38. Brown, DH/ Beckett, RP 1985: The role of the cell wall in the intracellular uptake of cations by lichens. - In: D. H. Brown (ed.): *Lichen Physiology and Cell Biology*. Plenum Press, New York and London, pp. 247-258.
39. Bubach, DF/ Arribére, MA/ Ribeiro Guevara, S/ Calvelo, S 2001: Study on the feasibility of using transplanted *Protousnea magellanica* thalli as a bioindicator of atmospheric contamination. - *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* 250(1): 63-68.
40. Calkin, PE/ Ellis, JM 1981: A cirque-glacier chronology based on emergent lichens and mosses. - *Journal of Glaciology* 27: 511-515.
41. Campbell, JA 1976: A mathematical treatment of the variation of heavy-metal content of lichens with distance from a source. - *Lichenologist* 8: 83-86.
42. Carreras, HA/ Pignata, ML 2002: Biomonitoring of heavy metals and air quality in Cordoba City, Argentina, using transplanted lichens. - *Environmental Pollution* 117: 77-87.
43. Christian Aid, 2005: Unearthing the truth. Mining in Peru. A Christian Aid report. February 2005.

44. Collins, CR/ Farrar, JF 1978: Structural resistances to mass transfer in the lichen *Xanthoria parietina*. - *New Phytologist* 81: 71-83.
45. Conti, ME/ Cecchetti, G 2001: Biological monitoring: lichens as bioindicators of air pollution assessment - a review. - *Environmental Pollution* 114: 471-492.
46. Cuny, D/ Davranche, L/ Thomas, P/ Kempa, M/ Van Haluwyn, C 2004: Spatial and temporal variations of trace element contents in *Xanthoria parietina* thalli collected in a highly industrialized area in northern France as an element for a future epidemiological study. - *Journal of Atmospheric Chemistry* 49: 391-401. nyangababo, JT 1987: Lichens as monitors of aerial heavy metal pollutants in and around Kampala. - *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 38: 91-95.
47. Cuny, D/ Denayer, F-O/ de Foucault, B/ Schumacker, R/ Colein, P/ Van Haluwyn, C 2004: Patterns of metal soil contamination and changes in terrestrial cryptogamic communities. - *Environmental Pollution* 129(2): 289-297.
48. Curtis, H, Barnes, N 1996: Invitación a la Biología. Madrid: Ed. Médica Panamericana.
49. Degelius, G 1955: The lichen flora on calcareous substrata in southern and central Norland (Norway). - *Acta Horti Gotoburg.* 20(2): 35-56.
50. DIGESA 1999: Estadísticas sobre monitoreo de la calidad del aire en ciudades seleccionadas. Ministerio de Salud, Dirección General de Salud Ambiental, Lima
51. Dix, WL 1952: Some Peruvian lichens. - *The Bryologist* 55(3): 218-223.
52. Du rietz, G E 1921: Lichenologiska fragment III. De svenska *Xanthoria-arterna*. - *Svensk Botanisk Tidskrift\ Svensk Bot. Tidskr.* 15: 181-191.
53. Duffus, JH 2002: "Heavy metals"- a meaningless term - *Pure Appl. Chem.*, Vol. 74, No. 5, pp. 793:807.
54. Duffus, JH 2004: Consultation on the definition of heavy metals.
55. Evans, DJA/ Archer, S/ Wilson, DJH 1999: A comparison of the lichenometric and Schmidt hammer dating techniques based on data from the proglacial areas of some Icelandic glaciers. - *Quaternary Science Reviews* 18: 13-41.



56. Farrar, JF 1976: The uptake and metabolism of phosphate by the lichen *Hypogymnia physodes*. - *New Phytol.* 77: 127-134.
57. Feuerer, T. 2006. Checklist of Peruvian lichens and lichenicolous fungi of Peru. Versión 1 February 2006.
58. Galloway, DJ 1994: biogeography and ancestry of lichens and other ascomycetes. - *In: Hawksworth, DL (ed.): Ascomycete Systematics. Problems and Perspectives in the Nineties.* NATO Advanced Science Institutes Series, Plenum Press, New York, pp. 175-184
59. Galun, M/ Garty, J/ Ronen, R 1984: lichens as bioindicators of air pollution. - *Webbia* 38 : 371-383.
60. Garty, J/ Galun, M/ Kessel, M 1979: Localization of heavy metals and other elements accumulated in the lichen thallus. - *New Phytologist* 82: 159-168.
61. Garty, J/ Karary, Y/ Harel, J/ Lurie, S 1995: The impact of heavy metals on lichens. - *In: Wilken, R-D/Förstner, U/Knöchel, A (eds.): Heavy Metals in the Environment.* 1. , pp. 152-155.
62. Garty, J 2001: Biomonitoring atmospheric heavy metals with lichens: theory and application. - *Critical Reviews in Plant Sciences* 20(4): 309-371.
63. Garty, J 2002: Biomonitoring heavy metal pollution with lichens. - *In: Kranner, I/Beckett, RP/Varma, AK (eds.): Protocols in Lichenology. Culturing, Biochemistry, Ecophysiology and Use in Biomonitoring.* Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, pp. 458-482.
64. Gauch, HG, Jr. 1982. Multivariate analysis in community ecology. Cambridge, UK: Cambridge University Press. 298 p.
65. Gilbert OL 2000: Lichens. London, Harper Collins Publishers
66. Gilbert, O 2000: The lichens of disused World War 2 airfields. - *Lichenologist* 32(6): 585-600.
67. Giordani, P/ Bombardi, V/ Crisafulli, P/ Modenesi, P/ Monaci, F/ Rinino, S/ Tretiach, M 2004: New histochemical techniques for the localisation of heavy metal ions in the lichen thallus. - *In: Randle, T/Saag, A (eds.): Book of Abstracts of the 5th IAL Symposium. Lichens in Focus.* Tartu University Press, pp. 45.

68. Goyal, R/ seaward, MRD 1982: Metal uptake in terricolous lichens. II. Effects on the morphology of *Peltigera canina* and *Peltigera rufescens*. - *New Phytologist* 90: 73-84.
69. Gurmendi, AC 2001: *The Mineral Industry of Peru, US Geological Survey Minerals Yearbook – 2001*, p 15.1.
70. Guschina, IA/ Harwood, JL 2000: Effect of copper and lead on lipid metabolism in bryophytes and lichens. - *Biochemical Society Transactions* 28(6): 910-912.
71. Günzl, B/ Fischer, P/ Schmidt, M 2000: Lichenologische Untersuchungen zur Primärsukzession an Felsblöcken eines Gletschervorfeldes in den Hohen Tauern. - *Jahrbuch des Vereins zum Schutz der Bergwelt* 65: 167-172.
72. Guschina, IA/ harwood, JL 2000: Effect of copper and lead on lipid metabolism in bryophytes and lichens. - *Biochemical Society Transactions* 28(6): 910-912. backor, M/ Váczi, P 2002: Copper tolerance in the lichen photobiont *Trebouxia erici* (Chlorophyta). *Environmental and Experimental Botany* 48(1): 11-20. backor, M/ Zetikova, J 2003: Effects of copper, cobalt and mercury on the chlorophyll content of lichens *Cetraria islandica* and *Flavocetraria cucullata*. - *Journal of the Hattori Botanical Laboratory* 93: 175-187.
73. Hamada, N 1998: lichens as bioindicators of air pollution. - *Japanese Journal of Ecology* 48(1) : 49-60.
74. Hansen, ES 1991: The lichen flora near a lead-zinc mine at Maarmorilik in West Greenland. - *Lichenologist* 23(4): 381-391.
75. Haas, JR/ Bailey, EH/ Purvis, OW 1998: Bioaccumulation of metals by lichens: uptake of aqueous uranium by *Peltigera membranacea* as a function of time and pH. - *American Mineralogist* 83(11-12): 1494-1502.
76. Hawkes, SJ 1997: What Is a "Heavy Metal" J. Chem. Educ. 1997. 74. 1374.
77. Hawksworth, DL/ McManus, PM 1992: Changes in the lichen flora on trees in Epping Forest through periods of increasing and then ameliorating sulphur dioxide air pollution. - *Essex Naturalist* 11: 92-101.
78. Heinrich, G/ Remele, K 2002: Biomonitoring radionuclide deposition with lichens. - *In: Kranner, I/Beckett, RP/Varma, AK (eds.): Protocols in*

- Lichenology. Culturing, Biochemistry, Ecophysiology and Use in Biomonitoring.* Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, pp. 425-457.
79. Herre, A W C T 1946: Peruvian lichens collected by Dr. C. Vargas. - *Bol. Soc. Cient. del Cuzco, Peru* 1946: 10-16.
  80. Herzig, R/ Liebendorfer, L/ Urech, M 1987: Flechten als Bioindikatoren der Luftverschmutzung in der Schweiz: Methoden-Evaluation und Eichung mit wichtigen Luftschadstoffen. - *VDI Berichte Waldschaden*] 609: 619-639.
  81. Hill, DJ 1994: The succession of lichens on gravestones: a preliminary investigation. - *Cryptogamic Botany* 4(2): 179-186.
  82. Hudák, J/ Backor, M 1998: Induction of tolerance to selected heavy metals (Cu, Hg, Cd) of lichen photobiont *Trebouxia irregularis*. - *Bulgarian Journal of Plant Physiology* 1998(Special Issue): 270.
  83. Infomine [http://www.infomine.com/welcome\\_es.asp](http://www.infomine.com/welcome_es.asp)
  84. Jaffe, B 1981: *La química crea un mundo nuevo.* Buenos Aires: Eudeba.
  85. John, EA 1989: An assessment of the role of biotic interactions and dynamic processes in the organization of species in a saxicolous lichen community. - *Canadian Journal of Botany* 67(7): 2025-2037.
  86. Jones, D/ Wilson, MJ/ Laundon, JR 1982: Observations on the location and form of lead in *Stereocaulon vesuvianum*. - *Lichenologist* 14: 281-286.
  87. Jongman, RHG, Ter Braak, CJF & Van Tongeren OFR 1995. *Data analysis in community and landscape ecology.* Cambridge University Press, ISBN 0 521 47574 0
  88. Jørgensen, PM 1983: Distribution patterns of lichens in the Pacific region. - *Australian Journal of Botany, Supplemental Series* 10: 43-66.
  89. Jørgensen, PM/ Arvidsson, L 2002: The lichen genus *Erioderma* (Pannariaceae) in Ecuador and neighbouring countries. - *Nordic Journal of Botany* 22: 87-114.
  90. Kappen, L 1988: Ecophysiological relationships in different climatic regions. - *In: M. Galun (ed.): CRC Handbook of Lichenology. Volume II .* CRC Press, Inc., Boca Raton, pp. 37-100.
  91. Kärnefelt, I 1991: Evolutionary rates in the Teloschistaceae. - *In: Galloway, DJ (ed.): Tropical Lichens: Their Systematics, Conservation,*

- and Ecology*. The Systematics Association Special Volume, Clarendon Press, Oxford, pp. 105-122.
92. Kashiwadani, H 1987: Peruvian species of *Ramalina* (lichens). - In: H. Inoue (ed.): *Studies on Cryptogams in Southern Peru*. Tokai University Press, Tokyo, pp. 129-
  93. Kashiwadani, H/ Kurokawa, S/ Murakami, S 1990: Enumeration and chemical variations of the lichen genus *Anaptychia* (s. lat.) in Peru. *Bulletin of the National Science Museum (Tokyo), Series B (Botany)* 16(4): 147-156.
  94. Kashiwadani, H 1990: Some Chilean species of the genus *Ramalina* (lichens). - *Bulletin of the National Science Museum, Tokyo, Series B* 16(1): 1-12.
  95. Kirschbaum, U/ Wirth, V 1995: *Flechten erkennen Luftgüte bestimmen*. - Eugen Ulmer GmbH & Co., Stuttgart. 128 pp.
  96. Klement, O 1959: Die Flechtenvegetation des Siebengebirges und des Rodderberges. - *Decheniana, Beih.* 7: 5-56.
  97. Krusenstjerna, E von 1945: Bladmossvegetation och bladmos flora i Uppsala-trakten. - *Acta Phytogeographica Suecica* \ *Acta Phytogeogr. Suec.* 19: 1-250.
  98. Krusenstjerna, B" von 1965: The growth on rock. - *Acta Phytogeogr. Suecica* 50: 144-148.
  99. Lambert, JDH/ Maycock, PF 1968: The ecology of terricolous lichens of the northern conifer-hardwood forests of central eastern Canada. - *Canad. Jour. Bot.* 46: 1043-1078.
  100. Lange, OL/ Bilger, W/ Rimke, S/ Schreiber, U 1989: Chlorophyll fluorescence of lichens containing green and blue-green algae during hydration by water vapor uptake and by addition of liquid water. - *Botanica Acta* 102: 306-313.
  101. Lawrey, JD/ Rudolph, ED 1975: Lichen accumulation of some heavy metals from acidic surface substrates of coal mine ecosystems in southeastern Ohio. - *Ohio Jour. Sci.* 75: 113-117.
  102. Lawrey, JD/ Hale, ME", Jr 1981: Retrospective study of lichen lead accumulation in the northeastern United States. - *The Bryologist* 84: 449-456.

103. Lawrey JD. 1993: Lichens as monitors of pollutant elements at permanent sites in Maryland and Virginia. *Bryologist* 1993; 96: 339-341.
104. Lindau, G 1908: Lichenes peruviani, adjectis nonnullis Columbianis apud J. Urban, *Plantae novae imprimis Weberbauerianae*. IV. - *Englers Botanische Jahrbücher/Engler Bot. Jahrb.* 42: 49-60.
105. Loppi, S/ Putorti, E/ Pirintsos, S/ De Dominicis, V 2000: Accumulation of heavy metals in epiphytic lichens near a municipal solid waste incinerator (central Italy). - *Environmental Monitoring and Assessment* 61: 361-371.
106. Lücking, R 1997: The use of foliicolous lichens as bioindicators in the tropics, with special reference to the microclimate. - *Abstracta Botanica* 21(1) : 99-116.
107. Lücking, R 2003: Takhtajan's floristic regions and foliicolous lichen biogeography: a compatibility analysis. - *Lichenologist* 35(1): 33-54.
108. Marcano, V/ Morales Méndez, A/ Sipman, H/ Calderon, L 1996: A first checklist of the lichen-forming fungi of the Venezuelan Andes. - *Tropical Bryology* 12: 193-235.
109. Markert, B (ed.) 1993: *Plants as Biomonitors. Indicators for Heavy Metals in the Terrestrial Environment*. - VCH, Weinheim. 644 pp.
110. Markert, B/ Wappelhorst, O/ Weckert, V/ Herpin, U/ Siewers, U/ Friese, K/ Breulmann, G 1999: The use of bioindicators for monitoring the heavy-metal status of the environment. - *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* 240(2): 425-429.
111. McCune B, Grace JB (2002). *Analysis of Ecological Communities*. M j M Software Design. Gleneden Beach, Oregon, EEUU. 300 pp.
112. Merrill, G K 1927: A list of Peruvian lichens collected by C. Bues. - *The Bryologist* 30: 83-88.
113. Merrill, G K 1929: A list of the Peruvian lichens collected by C. Bues. - *Rev. Univ. Cuzco* 13: 171-179.
114. Mhatre, GN 1991: Bioindicators and biomonitoring of heavy metals. - *Journal of Environmental Biology* 12: 201-209.
115. Minger, A/ Krähenbühl, U 1997: Moss and lichen as biomonitors for heavy metals. - *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* 67: 41-48.

116. Moberg, R 1990: The lichen genus *Physcia* in Central and South America. - *Nordic Journal of Botany* 10: 319-342.
117. Mukherjee, AB/ Nuorteva, P 1994: Toxic metals in forest biota around the steel works of Rautaruukki Oy, Raahe, Finland. - *Science of the Total Environment* 151: 191-204.
118. Nash, TH", III 1972: Simplification of the Blue Mountain lichen communities near a zinc factory. - *The Bryologist* 75: 315-324.
119. Nash, TH", III 1975: Influence of effluents from a zinc factory on lichens. - *Ecol. Monogr.* 45: 183-198.
120. Nash, TH", III 1989: Metal tolerance in lichens. - *In: A. Jonathan Shaw (ed.): Heavy Metal Tolerance in Plants: Evolutionary Aspects.* CRC Press, Inc., Boca Raton, pp. 119-131.
121. Nash, TH, III (ed.) 1996: *Lichen Biology.* - Cambridge University Press, Cambridge.
122. Nash, TH, III/ Sipman, HGM/ Elix, JA 2002: *Hypotrachyna.* - *In: Nash, TH, III/Ryan, BD/Gries, C/Bungartz, F (eds.): Lichen Flora of the Greater Sonoran Desert Region. I. Lichens Unlimited,* Arizona State University, Tempe, Arizona, pp. 238-251.
123. Nayangababo JT 1987: Lichens as monitors of aerial heavy metal pollution in and around Kampala. *Bull Environ Contam Toxicol* 1987; 38: 91-95.
124. Nieboer, E/ Richardson, DHS/ Tomassini, FD 1978: Mineral uptake and release by lichens: an overview. - *The Bryologist* 81: 226-246.
125. Nieboer, E/ Richardson, DHS 1980: The replacement of the nondescript term 'heavy metals' by a biologically and chemically significant classification of metal ions. - *Environmental Pollution, Series B* 1: 3-26.
126. Nieboer, E/ Richardson, DHS 1981: Lichens as monitors of atmospheric deposition. - *In: S. J. Eisenreich (ed.): Atmospheric Pollutants in Natural Waters.* Ann Arbor Science Publishers, Ann Arbor, pp. 339-388.
127. Nimis, PL/ Andreussi, S/ Pittao, E 2001: The performance of two lichen species as bioaccumulators of trace metals. - *Science of the Total Environment* 275: 43-51.
128. Nimis, PL/ Scheidegger, C/ Wolseley, PA (eds.) 2002: *Monitoring with Lichens - monitoring lichens.* - NATO Science Series. IV. Earth and



- Environmental Sciences, 7, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
129. Noeske, O/ Lauchili, A/ Lange, OL/ Vieweg, GH/ Ziegler, H 1970: Konzentration und Lokalisierung von Schwermetallen in Flechten der Erzschlackenhalde des Harzes. - *Vorträge aus dem Gesamtgebiet der Botanik, N.F. Deutsch. Bot. Ges.* 4: 67-79.
  130. Pawlik-Skowronska, B/ Sanità di Toppi, L/ Favali, MA/ Fossati, F/ Pirszel, J/ Skowronski, T 2002: Lichens respond to heavy metals by phytochelatin synthesis. - *New Phytologist* 156(1): 95-102.
  131. Pandey, V/ Upreti, DK/ Pathak, R/ Pal, A 2002: Heavy metal accumulation in lichens from the Hetauda Industrial Area Narayani Zone Makwanpur District, Nepal. - *Environmental Monitoring and Assessment* 73: 221-228.
  132. Pankhurst, CE/ Doube, BM/ Gupta, VSR (eds.) 1997: *Biological Indicators of Soil Health*. - CAB International, Wallingford. 451 pp.
  133. Pawlik-Skowronska, B/ Sanità di Toppi, L/ Favali, MA/ Fossati, F/ Pirszel, J/ Skowronski, T 2002: Lichens respond to heavy metals by phytochelatin synthesis. - *New Phytologist* 156(1): 95-102.
  134. Pilegaard, K 1994: Deposition of airborne metals around the lead-zinc mine in Maarmorilik monitored by lichens and mosses. - *Meddelelser om Gronland, Bioscience* 43: 1-20.
  135. Poelt, J 1974: Zur Kenntnis der Flechtenfamilie Candelariaceae. Ein Beitrag mit besonderer Berücksichtigung einiger sudamerikanischer Arten. - *Phyton [Austria]* 16: 189-210.
  136. Puckett, KJ 1976: The effect of heavy metals on some aspects of lichen physiology. - *Canad. Jour. Bot.* 54: 2695-2703.
  137. Puckett, KJ/ Finegan, EJ 1980: An analysis of the element content of lichens from the Northwest Territories, Canada. - *Canadian Journal of Botany* 58: 2073-2089.
  138. Puckett, KJ 1988: Bryophytes and lichens as monitors of metal deposition. - In: T. H. Nash, III & V. Wirth (eds.): *Lichens, Bryophytes and Air Quality*. Bibliotheca Lichenologica No. 30. J. Cramer, Berlin-Stuttgart, pp. 231-267.

139. Purvis, OW 1984: The occurrence of copper oxalate in lichens growing on copper sulphide-bearing rocks in Scandinavia. - *Lichenologist* 16: 197-204.
140. Purvis, OW 1996: Interactions of lichens with metals. - *Science Progress* 79(4): 283-309.
141. Quilhot W, Fernández E, Rubio C, Goddart M, Hidalgo ME. Lichen secondary products and their importance in environmental studies. In: Marcelli MP, Seaward MRD (Eds.) *Lichenology in Latin America: history, current knowledge and applications*. São Paulo, CETESB, 1998: 171-179.
142. Rao, DN/ Robitaille, G/ LeBlanc, F 1977: Influence of heavy metal pollution on lichens and bryophytes. - *Jour. Hattori Bot. Lab.* 42: 213-239.
- tyler, G 1989: Uptake, retention and toxicity of heavy metals in lichens. A brief review. - *Water, Air, and Soil Pollution* 47(3-4): 321-333.
143. Räsänen, V 1927: Über Flechtenstandorte und Flechtenvegetation im westlichen Nordfinland. - *Annales societatis zoologicae-botanicae fennicae "Vanamo"* Ann. Soc. zool.-bot. Fenn. Vanamo 7: 1-202.
144. Richardson, DHS/ Nieboer, E/ Lavoie, P/ Padovan, D 1984: Anion accumulation by lichens I. The characteristics and kinetics of arsenate uptake by *Umbilicaria muhlenbergii*. - *New Phytologist* 96: 71-82.
145. Roux, C 1981: Etude Ecologique et Phytosociologique des Peuplements Licheniques Saxicoles-Calicoles du Sud-Est de la France. - : 537.
146. Salloway, DJ 1994: Biogeography and ancestry of lichens and other ascomycetes. - In: Hawksworth, DL (ed.): *Ascomycete Systematics. Problems and Perspectives in the Nineties*. NATO Advanced Science Institutes Series, Plenum Press, New York, pp. 175-184.
147. Schwartzman, D/ Kasim, M/ Stieff, L/ Johnson, JH", Jr 1987: Quantitative monitoring of airborne lead pollution by a foliose lichen. - *Water, Air, and Soil Pollution* 32: 363-378.
148. Seaward, MRD 1974: Some observations on heavy metal toxicity and tolerance in lichens. - *Lichenologist* 6: 158-164.
149. Seaward, MRD (ed.) 1977: *Lichen ecology*. Academic Press, London.
150. Seaward, MRD/ Goyal, R/ Bylinska, EA 1978: Heavy metal content of some terricolous lichens from mineral-enriched sites in northern England. - *Naturalist, Hull* 103: 135-141.

151. Seaward MRW, Helsop JA, Green D, Bylinska EA. 1988: Recent levels of radionuclides in lichens from southwest Poland with particular reference to Cs-134 and Cs-137. *J Environ Radioactiv* 1988; 7: 123-129.
152. Seaward, MRD 1995: Use and abuse of heavy metal bioassays in environmental monitoring. - *Science of the Total Environment* 176: 129-134.
153. Seaward, MRD 1997: Use and abuse of heavy metal bioassays of lichens in cases of heavy metal pollution monitoring. - *J. Bot. Soc. Bot. Fr.* 1: 53-55.
154. Sernander, R 1912: Studier öfver lafvarnes biologi. I. Nitrofila lafvar.. - *Svensk Botanisk Tidskrift* \ *Svensk Bot. Tidskr.* 6: 803-883.
155. Shakesby, RA/ Matthews, JA/ Winkler, S 2004: Glacier variations in Breheimen, southern Norway: relative-age dating of Holocene moraine complexes at six high-altitude glaciers. - *Holocene* 14(6): 899-910.
156. Shaw, A. J., Thomas H. Nash III 1989: Chapter 9: Metal tolerance in lichens. Heavy metal tolerance in plants: Evolutionary aspects.
157. Siegel, BZ/ siegel, SM 1976: Unusual mercury accumulation in lichen flora of Montenegro. - *Waater, Air Soil Pollut.* 5: 335-337.
158. Sipman, HJM 2002: The significance of the northern Andes for lichens. - *Botanical Review* 68(1): 88-99.
159. Skye, E 1968: Lichens and air pollution. A study of cryptogamic epiphytes and environment in the Stockholm region. - *Acta Phytogeogr. Suecica* 52: 1-123.
160. Smith, VR 1988: Ecophysiology of carbon assimilation and nitrogen fixation in a sub-Antarctic lichen. - *Polarforschung* 58(2/3): 155-170.
161. Soukup, J 1965: Lista de líquenes del Peru. - *Biota Lima* 6(45): 28-45.
162. Steinnes, E/ krog, H 1977: Mercury, arsenic and selenium fall-out from an industrial complex studied by means of lichen transplants. - *Oikos* 28: 160-164.
163. Steubing, L/ Jager, H"-J. (eds.) 1982: *Monitoring of Air Pollutants by Plants: Methods and Problems.* - Dr. W. Junk, The Hague-Boston-London. 163 pp.
164. Swedish EPA (2004). Heavy metals.  
<http://www.internat.naturvardsverket.se/index.html>

165. Syers, JK/ Iskander, IK 1973: Pedogenetic significance of lichens. - *In*: V. Ahmadjian & M. E. Hale (eds.): *The Lichens*. Academic Press, New York and London, pp. 224-248.
166. Takhtajan, A 1986. Floristic regions of the world. University of California Press.
167. Tarazona Lafarga, T/ González Bueno, A/ Salas Muñoz, A/ Calvo Haro, R 1994: Análisis del comportamiento de detectores físicos y biológicos de la contaminación atmosférica por metales pesados en el área industrial de Madrid. - *Studia Botanica* 13: 147-150.
168. Tarhanen, S 1998: Ultrastructural responses of the lichen *Bryoria fuscescens* to simulated acid rain and heavy metal deposition. - *Annals of Botany* 82: 735-746.
169. Tarhanen, S/ Metsärinne, S/ Holopainen, T/ Oksanen, J 1999: Membrane permeability response of lichen *Bryoria fuscescens* to wet deposited heavy metals and acid rain. - *Environmental Pollution* 104: 121-129.
170. Tomassini, FD/ Puckett, KJ/ Nieboer, E/ Richardson, DHS/ Grace, B 1976: Determination of copper, iron, nickel, and sulphur by X-ray fluorescence in lichens from the Mackenzie Valley, Northwest Territories, and the Sudbury District, Ontario. - *Canad. Jour. Bot.* 54: 1591-1603.
171. Tovar, O. 1973. Comunidades vegetales de la Reserva Nacional de Vicuñas de Pampa Galeras, Ayacucho, Perú. Publ. Mus. Hist. Nat. Javier Prado, Serie B, Bot. 27: 1-32.
172. Tovar, O. 1990. Tipos de Vegetación, Diversidad Florística y Estado de Conservación de la Cuenca del Mantaro. Centro de Datos para la Conservación. Univ. Nac. Agr. La Molina. Lima, Perú.
173. Trass, HH 1968: *Analysis of the Lichen Flora of Estonia*. - Ordena Trudovogo Krasnogo Znameni, Botanicheskii Institut imeni V. L. Komarova AN SSSR, Tartu. 80 pp.
174. Tsikritzis, LI/ Ganatsios, SS/ Duliu, OG/ Sawidis, TD 2002: Heavy metals distribution in some lichens, mosses, and trees in the vicinity of lignite power plants from West Macedonia, Greece. - *Journal of Trace and Microprobe Techniques* 20(3): 395-413.
175. Tyler, G 1989: Uptake, retention and toxicity of heavy metals in lichens. A brief review. - *Water, Air, and Soil Pollution* 47(3-4): 321-333.

176. UNECE (2004). The 1998 Aarhus Protocol on Heavy Metals.  
[www.unece.org/env/lrtap/hm\\_h1.htm](http://www.unece.org/env/lrtap/hm_h1.htm)
177. U.S. Department of Labor (2004). Toxic metals.  
[www.osha.gov/SLTC/metalsheavy/](http://www.osha.gov/SLTC/metalsheavy/)
178. Valles Mota, JP/ Encinar, JR/ Fernández de la Campa, MR/ García Alonso, JI/ Sanz-Medel, A 1999: Determination of cadmium in environmental and biological reference materials using isotope dilution analysis with a double focusing ICP-MS: a comparison with quadrupole ICP-MS. - *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 14: 1467-1473.
179. Van Dobben, HF/ De Bakker, AJ 1993: Partial remapping of epiphytic lichens in The Netherlands: effects of decreasing SO<sub>2</sub> and increasing NH<sub>3</sub>. - *In: van Dobben, HF (ed.): Vegetation as a Monitor for Deposition of Nitrogen and Acidity*. Rijksuniversiteit te Utrecht, Utrecht, pp. 35-56.
180. Van Tongeren, O. ; Romo, S. (1995). "Multivariate analysis of phytoplankton and related environmental factors in a shallow hypertrophic lake." *Hydrobiologia* 299: 93-101.
181. Vidal, B/ Quilhot, SW/ Redon F., J/ Zuniga, E 1975: Estudio de la accion antibiotica de los acidos usnic o. - *An. Mus. Hist. Nat. [Chile]* 8: 138-143.
182. Winner, W.E. 1988. Responses of bryophytes to air pollution. *In: Nash, T.H. III (ed.) Lichens, Bryophytes and Air Quality*. Biblio. Lichenol. 30. J. Cramer in der Gebr. Borntraeger Verlagsbuchhandlg., Berlin-Stuttgart.
183. Wirth, V 1972: Die Silikatflechten-Gemeinschaften im ausseralpinen Zentraleuropa. - *Dissert. Bot.* 17: 1-306.
184. Wirth, V 1995: *Flechtenflora. Bestimmung und ökologische Kennzeichnung der Flechten Südwestdeutschlands und angrenzender Gebiete*. - Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart. 661 pp.
185. Woolhouse, MEJ/ Harmsen, R/ Fahrig, L 1985: On succession in a saxicolous lichen community. - *Lichenologist* 17: 167-172.
186. Wu JL, Tang HA, Hao YH. 1988: A preliminary study on absorption and accumulation of radioactivity in lichens. *Mycosystema* 1988; 7: 183-188.
187. Young, K. R. & B. León. 1990. Catálogo de las plantas de la zona alta del Parque Nacional Río Abiseo, Perú. *Publ. Mus. Hist. Nat. UNMSM (B)* 34: 1-37.

188. Young, K. R. & A. Cano. 1994. Aporte florístico de la puna del Parque Nacional del Manu, Perú. Bol. Lima 16: 381-393.
189. Zambrano, A/ Nash, TH, III/ Herrera-Campos, MA 2002: lichens and air pollution in the forests surrounding Mexico City. - *In*: Fenn, ME/de Bauer, LI/Hernández-Tejeda, T (eds.): *Urban Air Pollution and Forests. Resources at Risk in the Mexico City Air Basin*. Ecological Studies, Springer, pp. 283-297.



## ANEXO 1

**Listado (Checklist) de líquenes y hongos liquenizados de Perú**  
**Versión preliminar actualizada al 1 de Febrero de 2006**

**Especies registradas**

- Abrothallus parmeliarum* (Sommerf.) Arnold - Triebel et al (1995: 80)  
*Acarospora schleicheri* (Ach.) A. Massal. - HBG 4397, HBG 4398  
*Acroscyphus sphaerophoroides* Lév. - Soukop (1965: 29)  
*Alectoria ochroleuca* (Hoffm.) A. Massal.  
*Anaptychia ciliaris*  
*Anaptychia ciliaris* var. *Peruana*  
*Anaptychia comosa* is *Heterodermia comosa* (ESCHW.) FOLLMANN & REDÓN  
*Anaptychia ephebea*  
*Anaptychia hypoleuca* var. *Propagulifera*  
*Anaptychia hypoleuca* var. *Sorediifera*  
*Anaptychia leucomelaena* is *Heterodermia leucomelos* (L.) Poelt  
*Anaptychia leucomelaena* var. *Multifida*  
*Anaptychia podocarpa* is *Heterodermia podocarpa* (Bel.) A. Massal.  
*Anaptychia speciosa* is *Heterodermia speciosa* (WULFEN) TREVISAN  
*Arthonia cyanea* Müll. Arg. - Soukop (1965: 29)  
*Arthopyrenia sublitoralis* "(LEIGHT.) ARNOLD" - Soukop (1965: 28)  
*Aspidothelium fugiens* (Müll. Arg.) R. Sant. - Soukop (1965: 28)  
*Asterothyrium monosporum* Müll. Arg. - Soukop (1965: 31)  
*Asterothyrium pittieri* Müll. Arg. - Soukop (1965: 31)  
*Aulaxina minuta* R. Sant. - Soukop (1965: 30)  
*Aulaxina quadrangulare* (Stirt.) R. Sant. - Santesson (1952: 300 kontrollieren),  
wird von einem weiteren Autor zitiert, wahrscheinlich Soukop  
*Bacidia stanhopeae* - Soukop (1965: 35)  
*Baeomyces imbricatus*  
*Buellia andina* Müll. Arg. - Müller Argau (1892: 283)  
*Buellia barrancal*  
*Buellia bolacina*

*Buellia exilis*

*Buellia ultima*

*Caloplaca diffractoradiata*

*Candelaria fibrosa* (Fr.) Müll. Arg. - HBG (Feuerer xxx)

*Candelina submexicana* (B. de Lesd.) Poelt - Feuerer 2170 in HBG

*Cetraria aculeata* (SCHREBER) FR. - Kärnefelt (1986: 61)

*Cetraria odontella* (Ach.) Ach. - Kärnefelt (1986: 38)

*Cetraria peruviana* Kärnefelt & Thell - Kärnefelt & Thell (1993: 45)

*Chiodecton hypochnoides* NYL.

*Chiodecton sanguineum* (SW.) Müll. Arg. - Soukop (1965: 30)

*Chroodiscus coccineus* (LEIGHT.) Müll. Arg. - Soukop (1965: 31)

*Chrysothrix candelaris* (L.) J. R. Laundon - Thor (1988: 361)

*Chrysothrix granulosa* Thor - Thor (1988: 362)

*Chrysothrix nolitangere* Mont. - Soukop (1965: 31)

*Cladia aggregata* (Sw.) Nyl. - Ahti (2000: 37)

*Cladia fuliginosa* Filson - Ahti (2000: 39)

*Cladina arbuscula* subsp. *peruviana* - Ahti (2000: 48)

*Cladina arcuata* (Ahti) Ahti & FOLLMANN - Ahti (2000: 69)

*Cladina confusa* (R. SANTESSON) FOLLMANN & Ahti f. *confusa* - Ahti (2000: 61)

*Cladina confusa* f. *bicolor* - Ahti (2000: 63)

*Cladina rotundata* (Ahti) Ahti - Ahti (2000: 77)

*Cladonia aggregata* is *Cladia aggregata* (Sw.) Nyl.

*Cladonia aleuropoda* VAINIO - Ahti 2000: 91.

*Cladonia andesita* VAINIO - Ahti 2000: 93.

*Cladonia bellidiflora* (Ach.) Schaer.

*Cladonia borbonica* NYLANDER - Ahti 2000: 94.

*Cladonia calycantha* DELISE ex NYL. - NYLANDER 1855: 673 nomen nudum.

NYLANDER 1859: 209. VAINIO 1894: 203 sub *Cladonia calycantha* f. *foliolosa*.

Ahti & MARCELLI 1995: 8. Ahti 2000: 96) Note: Lectotype from Peru in Finland (H), *Isilecotypes* in G, M, PC

*Cladonia calycantha* f. *foliolosa* VAINIO mentioned from Peru is *Cladonia calycantha* DELISE ex NYL. fide Ahti & MARCELLI 1995: 8

*Cladonia cenotea* (Ach.) Schaer.

- Cladonia chlorophaea* (FLÖRKE) ex SOMMERFELT) SPRENGEL - Ahti (2000: 100)
- Cladonia coccifera* (L.) Willd.
- Cladonia didyma*
- Cladonia fimbriata* (L.) Fr.
- Cladonia melanopoda* Ahti - Ahti (1997: 7) Note: Type in S
- Cladonia peltata*
- Cladonia pocillum* (Ach.) O. J. Richard or Gyeln.? HBG
- Cladonia pyxidata* (L.) Hoffm.
- Cladonia pycnoclada*
- Cladonia pycnoclada* var. *Flavida*
- Cladonia sandstedei*
- Cladonia scabriuscula* (DELISE) NYL.
- Cladonia sylvatica*
- Cladonia verticillaris*
- Coccocarpia erythroxyli* (SPRENG.) SWINSCOW & KROG - Arvidsson (1982: 62)
- Coccocarpia fibrillos* (HOOK.) DODGE should be deleted from the list of Peruvian lichens fide ARVIDSSON 1982: 92
- Coccocarpia pellita* (Ach.) Müll. Arg. emend. R. Sant. - Arvidsson (1982: 78)
- Coenogonium linkii* EHRBG. - Soukup (1965: 31)
- Collema flagellatum* Degel. - Degelius (1986: 345)
- Cora pavonia* is *Dictyonema glabrata*
- Darbishirella gracillima* (DARBISH.) Zahlbr. - Soukup (1965: 32)
- Dictyonema sericeum*
- \*"*Didymella*" *lenormandii* (BORNETT) Henssen - *Symb. Bot. Upsal.* 18: 113 (1963); GRUBE & HAFELLNER 1990: 339 "*Peru, Lechler (UPS, Isotypus!)*". BORNETT, *Ann. Sci. Nat., Bot.*, 5. s.r. 17: 101 (1873) sub *Lichenosphaera lenormandii* BORNETT.
- Dimerella epiphylla* (MÜLL. ARG) Malme - Santesson (1952: 395), Soukup (1965: 32)
- Diploschistes cinereocaesius* (Ach.) Vain. - Soukup (1965: 31)
- Diploschistes diacapsis* (Ach.) Lumbsch - Lumbsch (1989: 169)
- Diploschistes hypoleucus* Zahlbr. - Lumbsch (1989: 175)

- Dirina approximata* subsp. *hioramii* f. *sorediata* is *Dirina paradoxa* subsp. *paradoxa* f. *sorediata* (Tehler) Tehler  
*Dirina paradoxa* subsp. *paradoxa* f. *sorediata* (Tehler) Tehler - TEHLER 1986: 296.
- Echinoplaca epiphylla* Fée - Soukup (1965: 31)  
*Echinoplaca pellicula* (Müll. Arg.) R. Sant. - Soukup (1965: 31)  
*Endocarpon pallidulum* (Nyl.) Zahlbr. - Soukup (1965: 28)  
*Erioderma wrightii* - Soukup (1965: 33)  
*Everniastrum fragile* Sipman - S. R. Gradstein 26c in B  
*Everniopsis trulla* (Ach.) Nyl. - *Lichenes Selecti Exsiccati Upsalienses*: 269  
*Flavocetraria cucullata* (Bellardi) Kärnef. & A. Thell  
*Graphina chlorocarpa* (Fée) Müll. Arg. - Soukup (1965: 30)  
*Gyalideopsis cochlearifer* Lücking & Sérus. - Lücking & Sérusiaux (1998: 549)  
*Gyalectidium filicinum* Müll. Arg. - Santesson (1952: 355), Soukup (1965: 31)  
*Gyrophora cylindrica* is *Umbilicaria cilíndrica*  
*Gyrophora dichroa*  
*Gyrophora haplocarpa* is *Umbilicaria haplocarpa*  
*Hyperphyscia syncolla* (Tuck.) Kalb - Rambold et al (1994: 33)  
*Hypotrachyna longiloba* (H. Magn.) HALE - HBG  
*Josefpoeltia boliviensis* Kondratyuk & Kärnefelt - Kondratyuk & Kärnefelt (1997: 23 Protolog) Note: Type in (MIN)  
*Josefpoeltia peruviana* KONDR. & KÄRN. - Kunkel 3442 in HBG  
*Lecanora castaniza*  
*Lecanora garovaglii* - Feuerer 2169 (HBG)  
*Lecanora rubina*  
*Lecidea standaerti* - Soukup (1965: 35)  
*Lecidea piperis* - Soukup (1965: 35)  
*Lecidella chodatii* (G. Samp.) Knoph & Leuckert - Knoph & Leuckert (1994: 475)  
*Lecidella stimatea* (Ach.) Hertel & Leuckert - Hertel (1989: 226)  
*Lepraria cacumina* (A. Massal.) Kümmerling - Kümmerling  
*Leproloma vouauxii* (Hue) J. R. Laundon - Kümmerling  
*Leptogium adpressum* NYL. - Soukup (1965: 31)  
*Leptogium bourghesii* (Lightf.) MONT. - Soukup (1965: 31)

- Leptogium bullatum* var. *vesiculosum* TUCK. - Herrera (1930: 35), Soukup (1965: 31)
- Leptogium chloromelum* (SW.) NYL. - Soukup (1965: 31)
- Leptogium menziesii* (Ach.) Mont. - Soukup (1965: 32)
- Leptogium phyllocarpum* (Pers.) NYL. - Soukup (1965: 32)
- Leptogium phyllocarpum* var. *insidiosum* Nyl. - Herrera (1930: 35), Soukup (1965: 32)
- Leptogium phyllocarpum* var. *macrocarpum* Nyl. - Soukup (1965: 33)
- Leptogium reticulatum* Mont. - Soukup (1965: 33)
- Leptogium tremelloides* var. *impressopunctatum* - Soukup (1965: 33)
- Lichenosphaeria lenormandi* BORN. - Soukup (1965: 31)
- Lobaria crenulata* (HOOK.) Trevis. - Soukup (1965: 33)
- Lobaria dissecta* - Soukup (1965: 33)
- Lobaria dissecta* var. *casarettiana* - Herrera (1930: 35), Soukup (1965: 33)
- Lobaria erosa* - Soukup (1965: 33)
- Lobaria pallida* (HOOK. in KUNTH) Trevis. - Soukup (1965: 33)
- Lobaria peltigera* (DELISE) Vain. - Soukup (1965: 33)
- Lobiona albomarginata* is *Toninia auriculata* TIMDAL
- Lopadium flammeum* - Soukup (1965: 35)
- Mazosia rotula* (MONT.) A. Massal. - Soukup (1965: 30)
- Neofuscelia brunella* (Essl.) Essl. - Esslinger (1986: 297)
- Neofuscelia fissurina* (Zahlbr.) Essl. - Esslinger (1986: 297)
- Ochrolechia subtartarea*
- Omphalodium pisacomense* - Nash et al (1990: 356)
- Opegrapha allorgei* de Lesd. - Soukup (1965: 30)
- Opegrapha prosodea* Ach. var. *quassiaecola* (Fée) Vain. - Soukup (1965: 30)
- Oropogon loxensis* (Fée) Th. Fr.
- Pannaria mariana* (Fr.) Müll. Arg. - Soukup (1965: 33)
- Parmelia aberrans*
- Parmelia americana*
- Parmelia cervicornis*
- Parmelia cetrata*
- Parmelia cetrata* var. *corniculata*
- Parmelia cirrhata*

*Parmelia chilensis*  
*Parmelia confusa*  
*Parmelia conspersa* is *Xanthoparmelia conspersa*  
*Parmelia coralloidea*  
*Parmelia cordillerana* ist *Xanthoparmelia cordillerana* (Gyelnik) Hale  
*Parmelia cristifera*  
*Parmelia dilatata*  
*Parmelia densirhizinata*  
*Parmelia denudata*  
*Parmelia flavicans*  
*Parmelia furfuracea*  
*Parmelia kamtschadalis*  
*Parmelia kamtschadalis* var. *americana*  
*Parmelia kamtschadalis* f. *insidiosa*  
*Parmelia kernstockii*  
*Parmelia laevigata*  
*Parmelia latissima*  
*Parmelia mauriensa*  
*Parmelia melanothrix*  
*Parmelia myelochroa*  
*Parmelia olivaria*  
*Parmelia olivetorum*  
*Parmelia omphalodes*  
*Parmelia perforata*  
*Parmelia perforata* f. *sorediifera*  
*Parmelia perlata*  
*Parmelia perlata* var. *cinchonarum*  
*Parmelia perlucida*  
*Parmelia peruviana* NYL.  
*Parmelia purpuracea*  
*Parmelia reducta*  
*Parmelia saxatilis*  
*Parmelia silvatica*



- Parmelia singularis* Hale - Hale (1974: 274 Protologue) Note: Type in Washington, USA (US)
- Parmelia subsumpta*
- Parmelia sulphurata*
- Parmelia tinctorum*
- Parmelia tricotera*
- Parmelia zollingeri*
- Peltigera austroamericana* Zahlbr. - Soukup (1965: 35)
- Peltigera canina* (L.) Willd. - Soukup (1965: 35)
- Peltigera canina* f. *laciniata* is *Peltigera laciniata* (MERR. ex RIDDLE) GYELN.
- Peltigera canina* f. *spongiosa* Tuck. - Soukup (1965: 35)
- Peltigera laciniata* (Merr. ex Riddle) Gyeln.
- Peltigera membranacea* f. *melanoloma* - Soukup (1965: 35)
- Peltigera rufescens* (WEISS) HUMB. - Soukup (1965: 35)
- Phacopsis oxyspora* var. *defecta* Triebel & Rambold - Triebel et al (1995: 79)
- Phaeophyscia chloantha* (Ach.) Moberg - Moberg (1993: 282)
- Phaeophyscia endococcinodes* (Poelt) Essl. - Moberg (1993: 282)
- Phaeophyscia hirsuta* (Mereschk.) Essl. - Moberg (1993: 283)
- Phaeophyscia hispidula* (Ach.) Essl. - Moberg (1993: 283)
- Phaeophyscia sciastra* (Ach.) Moberg - Moberg (1993: 284)
- Phyllobathelium epiphyllum* (Müll. Arg.) Müll. Arg. - Soukup (1965: 29)
- Phyllophiale alba*
- Phyllopsora parvifolia* var. *corallina*
- Physcia clementiana*
- Placodium diffracto-radiatum* B. de Lesd. - B. de Lesd. (1914: 82 Protolog) Note: Type
- Placomaronea candelarioides* Räs. - Osorio (1974: 463)
- Porina epiphylla* (Fée) Fée - Soukup (1965: 28)
- Porina papillifera* (Stirt.) Schilling - Soukup (1965: 28)
- Pseudocyphellaria arvidssonii* D. Galloway - Galloway & Arvidsson (1990: 113)
- Pseudocyphellaria aurata* - Soukup (1965: 33 sub *Sticta aurata*)
- Psiloparmelia denotata* Elix & Nash - Elix & Nash (1992: 382 Protolog) Note: Type in Sweden (S)

*Psiloparmelia dichotoma* Elix & Nash - Elix & Nash (1992: 384 Protolog) Note:

Type in (TNS)

*Psiloparmelia distincta* (Nyl.) Hale - Gyelnik (1931: 281 sub *Parmelia bouly de lesdainii*), Elix & Nash (1992: 384)

*Psiloparmelia flavobrunnea* (Müll. Arg.) Elix & Nash - Müller Argau (1891: 379 sub *Parmelia flavobrunnea*), Hale (1974: 487 sub *Xanthoparmelia flavobrunnea*), Elix & Nash (1992: 386)

*Psiloparmelia norstictica* Elix & Nash - Elix & Nash (1992: 388)

*Psiloparmelia subcrustosa* Elix & Nash - Elix & Nash (1992: 390 Protolog) Note:

Type in Hamburg, Germany (HBG)

*Punctelia borneri* (Sm.) Krog - Feuerer 2147 in HBG

*Pyxine coccoes*

*Ramalina asperula* Kremp. - Kashiwadani (1987: 130) Note: Type in Munich, Germany (M)

*Ramalina celastri* (Spreng.) Krog & Swinscow - Kashiwadani (1987: 130)

*Ramalina continentales*

*Ramalina ceruchis*

*Ramalina continentalis*

*Ramalina disparata* Krog & Swinscow - Kashiwadani (1987: 132)

*Ramalina farinacea*

*Ramalina fasciata* Kremp. - Kashiwadani (1987: 133 sub *Alectoria tuberculosa*)

*Ramalina flaccescens*

*Ramalina fraxinea*

*Ramalina fraxinea* var. *Ampliata*

*Ramalina gracilis*

*Ramalina grumosa* Kashiwadani - Kashiwadani (1987: 134)

*Ramalina incana* Kashiwadani - Kashiwadani (1987: 135) Note: Type in (TNS)

*Ramalina macrospora* Kashiwadani - Kashiwadani (1987: 135) Note: Type in (TNS)

Distribution: - Known only from the type locality in the "Selva Alta" in 1500 m. Endemic.

*Ramalina membranacea*

*Ramalina patelliformis* Kashiwadani - Kashiwadani (1987: 136) Note: Type in (TNS)

*Distribution:* - This species has been collected only from the two localities in Peru, where it grows on twigs of shrubs in open fields at elevations between 1300 and 1500 m. Endemic.

*Ramalina peruviana* ACH. - Kashiwadani (1987: 136)

*Ramalina pollinaria*

*Ramalina sancti-angelii*

*Ramalina subpollinaria* Nyl. - Kashiwadani (1987: 137)

*Ramalina tucumanensis* Räsänen - Kashiwadani (1987: 138)

*Ramalina turgida* Kremp. - Kashiwadani 1987: 138. *Distribution:* - Endemic. Coastal loma near Lima.

*Reinkella lirellina* Darbish. - Soukup (1965: 30)

*Rhizocarpon geographicum* (L.) DC. - Soukup (1965: 35)

*Rhizocarpon superficiale* - Geyer et al (1984: 53)

*Rimeliella recipienda* (Nyl.) Kurok.

*Roccella babingtonii* Mont. - Follmann et al (1994: 346)

*Roccella difficilis* Darb. - Soukup (1965: 31)

*Roccella peruensis* (Kremp.) Darb. - Soukup (1965: 31)

*Roccella portentosa* Mont. - Soukup (1965: 31)

*Roccellaria intricata* (MONT.) DARBISH. - Soukup (1965: 30)

*Siphula decumbens* Nyl. - Kantvilas (1998: 125)

*Sphaerophorus compressus* (Ach.) Körb. - Soukup (1965: 29)

*Stereocaulon albicans*

*Stereocaulon crambidiocephalum*

*Stereocaulon denudatum*

*Stereocaulon macrocarpum*

*Stereocaulon microcarpum* Müll. Arg. *Stereocaulon myriocarpum*

*Stereocaulon proximum*

*Stereocaulon proximum* var. *compressum*

*Stereocaulon proximum* var. *sorediatum*

*Stereocaulon ramulosum*

*Stereocaulon ramulosum* var. *sublecannoreum*

*Stereocaulon subgracilescens*

*Stereocaulon verruciferum*

*Sticta aurata* is *Pseudocyphellaria aurata*

- Sticta aurora* - Soukup (1965: 34)
- Sticta beauvoisii* Delise *Sticta chiarinii* ist wahrscheinlich ...
- Sticta damaecornis* - Soukup (1965: 34)
- Sticta exasperata* - Soukup (1965: 34)
- Sticta flotoviana* - Soukup (1965: 34)
- Sticta fuliginosa* - Soukup (1965: 34)
- Sticta humboldtii* - Soukup (1965: 34)
- Sticta laciniata* - Soukup (1965: 34)
- Sticta lenormandi* - Soukup (1965: 34)
- Sticta macrophylla* - Soukup (1965: 34)
- Sticta platyphylla* - Soukup (1965: 34)
- Sticta sinuosa* - Soukup (1965: 34)
- Sticta sylvatica* (HUDSON) Ach. - Soukup (1965: 34)
- Sticta tomentosa* - Soukup (1965: 34)
- Sticta weigelia* (Ach.) Vain. - Herrera (1930: 35), Soukup
- Sticta weigelia* var. *peruviana* - Soukup (1965: 34)
- Strigula complanata* Mont. - Soukup (1965: 29)
- Strigula elegans* (Fée) Müll. Arg. - Soukup (1965: 29)
- Strigula nemathora* Mont. - Soukup (1965: 29)
- Strigula nemathora* var. *pulchella* (Müll. Arg.) R. Sant. - Soukup (1965: 29)
- Strigula nitidula* Mont. - Soukup (1965: 29)
- Strigula schizospora* R. Sant. - Soukup (1965: 29)
- Teloschistes chrysophthalmus* (L.) Th. Fr.
- Teloschistes flavicans* (Sw.) Norm.
- Teloschistes hosseusianus* Gyelnik
- Teloschistes peruensis* (Ach.) Thomson - Thomson & Iltis (1968: 31)
- Teloschistes stellatus* (Meyen & Flot.) Müll. Arg. - HBG (Feuerer xxx)
- Teloschistes villosus*
- Thamnolia subuliformis* (Ehrh.) Culb.
- Thamnolia vermicularis* (SW.) Schaer. - Soukup (1965: 31)
- Thamnolia vermicularis* var. *solida* Sato - Sato (1968: 49)
- Thamnolia vermicularis* var. *subsolida* Sato - Sato (1968: 49)
- Toninia auriculata* Timdal - Kiliás & Schneider (1978: 27 sub *Lobiona albomarginata*), Timdal (1991: 44) Type in Graz, Austria (GZU)

- Toninia hosseusiana* Gyeln. - Timdal (1991: 68)
- Tricharia carnea* (Müll. Arg.) R. Sant. - Soukup (1965: 32)
- Trichothelium annulatum* (KARST.) R. Sant. - Soukup (1965: 29)
- Trichothelium epiphyllum* Müll. Arg. - Soukup (1965: 29)
- Trypethelium aeneum* (Eschw.) Zahlbr. - HBG
- Umbilicaria aprina* Nyl. - Crespo & Sancho (1982: 357)
- Umbilicaria calvescens* Nyl. var. *subvella* Nyl. - HBG 4368
- Umbilicaria cylindrica*
- Umbilicaria decussata* (Vill.) Zahlbr. - Crespo & Sancho (1982: 359)
- Umbilicaria krempelhuberi* Müll. Arg.
- Usnea angulata*
- Usnea articulata*
- Usnea cladoblephara*
- Usnea florida*
- Usnea florida* var. *strigosa*
- Usnea gonoides*
- Usnea granadensis*
- Usnea laevis*
- Usnea melaxantha*
- Usnea orthoclada*
- Usnea rubigena*
- Usnea scaberrima*
- Usnea wirthii* Clerc - Clerc (1997: 214)
- Xanthomendoza mendozae* (Räsänen) S. Kondr. & Kärnefelt - Kondratyuk & Kärnefelt (1997: 28)
- Xanthoparmelia cordillerana* (Gyeln.) Hale - Gyelnik (1938: sub *Parmelia cordillerana*), Hale (1990: 95) Type in the United Kingdom (BP)
- Xanthoparmelia peruviana* Hale - Hale (1985a: 284) Note: Type in London, United Kingdom (BM)
- Xanthopeltis rupicola* R. Sant. - Crespo & Sancho (1982: 359)
- Xanthoria candelaria* (L.) Th. Fr.
- Xanthoria gallowayii* S. Kondr. & Kärnefelt - Kondratyuk & Kärnefelt (1997: 28)
- Xanthoria parietina* (L.) Th. Fr.

## ANEXO 2

## Colectores de líquenes y hongos liquenizados de Perú

Versión preliminar actualizada al 1 de Enero de 2006

**Asplund:** His material from Bolivia and Perú in Upsala is identified only to the genus.

**Bro:** Material of *Cladonia calycantha* in the USA (NY).

**Bues:** Collected the type of *Cetraria peruviana*.

**Feuerer, Tassilo:** - German lichenologist. Samples from the vicinity of Cusco, Iquitos and Macchu Picchu collected in 1900 deposited in Germany (HBG).

**Gaudichaud:** There is a sample of *Ramalina subpollinaria* from Callao deposited in Finland (H).

**Hegewald, E. & P.:** Material deposited in GZU

**Hörter, Anneliese:** - Collections in the herbarium T. Feuerer in M.

**Ittis, C.:** Mentioned as one of the collectors of the type of *Josefpoeltia boliviensis* in Kondratyuk & Kärnefelt (1997: 23). Material in MIN.

**Ittis, H. H.:** Mentioned as one of the collectors of the type of *Josefpoeltia boliviensis* in Kondratyuk & Kärnefelt (1997: 23). Material in MIN.

**Kashiwadani, Hiroyuki:** Material collected from september to october 1984 in Peru (Provinces Anta, Azangaro, Chancay, Cuzco, Lampa, Oxapampa, Paucartambo, Puno, Quispicanchis and Urubamba) is housed in the National Science Museum, Tokyo (TNS).

**Lentner, A.:** - German teacher working some years at a school in Peru. Material deposited in M. A collection of *Josefpoeltia parva* is mentioned in Frödén & Lindblom (2003: 450). The type specimen of *Psiloparmelia subcrustosa* has been collected by A. Lentner (Elix & Nash 1992:390). Material mentioned in Geyer *et al* (1984: 51).

**Moberg, Roland:** - Lichenologist from Sweden. Collected in Peru 1981 together with R. Moberg. Material in UPS.

**Ramirez Ordaya, Angel Manuel** (18 February 1976 in Lima, Peru). Peruvian student, interested in lichens.



**Santesson, Rolf:** - Swedish lichenologist. Collected in Peru in 1981 together with R. Moberg. Journey in together with Tehler and Thor. Material in UPS.

**Stafford:** - Collections from 1937 mentioned in Kondratyuk & Kärnefelt (1997: 23). Housed in F.

**Standaert:** - Mentioned as a collector in Gyelnik.

**Tehler:** - Collected together with Santesson.

**Theil:** - Collected in September 2003 together with T. Feuerer. Material in Lund.

**Thor:** - Collected together with Santesson.

**Topham, P. B.:** - Collected *Usnea wirthii* in Macchu Picchu in 1990. Material in E.

**Ugent, V.:** - Mentioned as one of the collectors of the type of *Josefpoeltia boliviensis* in Kondratyuk & Kärnefelt (1997: 23). Material in MIN.

**Vargas:** Material in US.

**Vitt, D.:** - Collections from Peru.

**Wawra:** - Type collection of *Ramalina turgida* in M.

**Weber:** - Weber & Kohn are mentioned as collector in Esslinger (1986: 297).

**Weberbauer:** - Material partly in FH-Dodge, WRSL

## ANEXO 3

**Publicaciones evaluadas que contienen registros de líquenes y hongos  
liquenizados de Perú  
Versión preliminar actualizada al 1 de Mayo de 2005**

**Acharius**, E., 1810: Lich. Univ. 1599.

**Ahti**, T., 1997: *Cladonia melanopoda*, an overlooked Andean lichen. - Pp. 7 - 10 in Tibell, L. & I. Hedberg (eds): Lichen studies dedicated to Rolf Santesson. Symbolae Botanicae Upsalienses, Acta Universitatis Upsaliensis 32.

**Ahti**, T. & M. P. Marcelli, 1995: Taxonomy of the *Cladonia verticillaris* complex in South America. - Pp. 5 - 26 in Farkas, E. É., R. Lücking & V. Wirth (eds): Scripta Lichenologica - Lichenological papers dedicated to Antonin Vezda. - Biblioth. Lichenol. 58: 1 - 501.

**Ahti**, T. & S. Stenroos, 1986: A revision of *Cladonia* sect. Cocciferae in the Venezuelan Andes. - Ann. Bot. Fenn. 23: 229 - 238.

**Arvidsson**, L., 1982: A monograph of the lichen genus *Coccocarpia*. - Opera Bot. 67: 1 - 96.

**Bjerke**, J. W., 2003: *Menegazzia subsimilis*, a widespread sorediate lichen. - Lichenologist 35, 5-6: 393 - 396.

**Breuss**, O., 1993: *Catapyrenium* (Verrucariaceae) species from South America. - Pl. Syst. Evol. 185: 17 - 33.

**Castañeda**, R. A. de, 1969: Lista de líquenes de la Provincia de Trujillo (Departamento La Libertad, Perú). - Bot. de la Sociedad Botánica de la Libertad 1,2: 45 - 54.

**Clerc**, P., 1997: Notes on the genus *Usnea* Dill. ex Adanson. - Lichenologist 29,3: 209 - 215.

**Crespo**, A. & L. G. Sancho, 1982: *Umbilicaria aprina* Nyl. en el hemisferio Sur (Andes peruanos). - Lazaroa 4: 357 - 360.

**Degelius**, G., 1986: Studies in the lichen family Collemaataceae V. Notes on some interesting *Collema* species. - Nord. J. Bot. 6: 345 - 349.

**Dodge**, 1933: The foliose and fruticose lichens of Costa Rica I. - Ann. Miss. Bot. Gard. 20: 373 - 467.

- Elix, J. A. & T. H. Nash, 1992:** A synopsis of the lichen genus *Psiloparmelia* (Ascomycotina, Parmeliaceae). - *Bryologist* 95: 377 - 391.
- Esslinger, T. L., 1986:** Notes on the chemistry and distribution of selected Parmeliaceae (Lichens) from the Southern Hemisphere. - *Bryologist* 89,4: 296 - 299.
- Follmann, G. & J. Redón, 1973:** Beobachtungen zur Verbreitung chilenischer Flechten. VII. Die Gattung *Omphalodium* (Parmeliaceae). - *Philippia* 1,5: 258 - 261.
- Follmann, G., M. Schulz, S. Huneck & J. Peine, 1994:** Precursors to a monograph of the lichen family Roccellaceae X. Remarks on the *Roccella hypomecha* group and description of a new species. - *J. Hattori Bot. Lab.* 75: 345 - 357.
- Frödén, P. & L. Lindblom, 2003:** *Josefpoeltia parva*, a new combination in *Josefpoeltia* (Teloschistaceae). - *Bryologist* 106,3: 447 - 450.
- Geyer, M., T. Feuerer & G. B. Feige, 1984:** Chemie und Systematik in der Flechtengattung *Rhizocarpon*: Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) der Flechten-Sekundärstoffe der *Rhizocarpon superficiale*-Gruppe. - *Pl. Syst. Evol.* 145: 41 - 54.
- Grube, M. & J. Hafellner, 1990:** Studien an flechtenbewohnenden Pilzen der Sammelgattung *Didymella* (Ascomycetes, Dothideales). - *Nova Hedwigia* 51: 283 - 360.
- Gyelnik, V., 1931:** Additamentum ad cognitionem Parmeliarum II. Feddes Repertorium Specierum Novarum regni Vegetabilis 29: 272 - 291.
- Gyelnik, V., 1932:** Peltigerae novae et rariae. - *Annales de Cryptogamie Exotique* 5: 39 - 40.
- Gyelnik, V., 1938 a:** Additamenta ad cognitionem Parmeliarum VIII. - *Annales Mycologici* 36: 267 - 294.
- Hale, M.E., 1965:** A monograph of *Parmelia* subgenus *Amphigymnia*. - *Contr. U.S. National Herb.* 36,5: 193 - 358.
- Hale, M. E., 1974:** New species of *Parmelia* (lichens) from tropical America 1. - *Phytologia* 28: 265 - 271.
- Hale, M.E., 1985:** New species in the lichen genus *Xanthoparmelia* (Vain.) Hale (Ascomycotina: Parmeliaceae). - *Mycotaxon* 22: 281 - 284.

- Hale, M.E. & S. Kurokawa, 1964:** Studies on *Parmelia* subgenus *Parmelia*. - Contr. U.S. National Herb. 36,4: 121 - 191.
- Herre, A.W.C.T., 1944:** The South American lichens collected by the second Univ. of California botanical garden expedition to the Andes. - Rev. Univ. (Cuzco) 87: 47 - 64.
- Herre, A.W.C.T., o.D.:** South Peruvian Lichens. - Bol. Soc. Cient. Cuzco.
- Herrera, F.L., 1930:** Estudios sobre la flora del Departamento del Cuzco. - Lima, Peru.
- Herrera, F.L., 1941:** Sinopsis de la flora del Cuzco, tomo I. - Parte Sistem tica, pp. 528 (Lichenes p. 50 - 64).
- Hertel, H., 1989:** New records of lecideoid lichens from the Southern Hemisphere. - Mitt. Bot. Staatssamml. München 28: 211 - 238. HOOKER in KUNTH 1822
- Kantvilas, G., 1998:** Studies on the lichen genus *Siphula* in Tasmania II. The *S. decumbens* group. - Herzogia 13: 119 - 138.
- Kärnefelt, I., 1986:** The genera *Bryocaulon*, *Coelocaulon* and *Cornicularia* and formerly associated taxa. - Opera Bot. 86: 1 - 90.
- Kärnefelt, I. & A. Thell, 1993:** Notes on the cetrarioid lichens. - Graphis Scripta 5: 45 - 48.
- Kashiwadani, H., 1987:** Peruvian species of *Ramalina* (Lichens). - Pp. 129 - 144 in Inoue, H. (Ed): Studies on cryptogams in southern Peru. - Tokai University Press, Tokyo.
- Kilias, H. & G. Schneider, 1978:** *Lobiona*, a new lichen genus from South America 10: 27 - 32.
- Knoph, J.-G. & C. Leuckert, 1994:** Chemotaxonomic studies in the saxicolous species of the lichen genus *Lecidella* (Lecanorales, Lecanoraceae) in America. - Nova Hedwigia 59: 455 - 508.
- Kondratyuk, S. & I. Kärnefelt, 1997:** *Josefpoeltia* and *Xanthomendoza*, two new genera in the Teloschistaceae (lichenized Ascomycotina). - Pp. 19 - 44 in Türk, R. & R. Zorer (Eds): Progress and problems in lichenology in the nineties. - Biblioth. Lichenol. 68: 19 - 44.
- Kurokawa, S., 1991:** *Rimeliella*, a new lichen genus related to *Rimelia* of the Parmeliaceae. - Ann. Tsukuba Bot. Gard. 10: 1 - 14.

- Lumbsch, H. T.**, 1989: Die holarktischen Vertreter der Flechtengattung *Diploschistes* (Thelotremales). - J. Hattori Bot. Lab. **66**: 133 - 196.
- Magnusson, A. H.**, 1954: Key to saxicolous *Buellia* species, mainly from South America. - Ark. Bot. **3,9**: 205 - 221.
- Merrill, G. K.**, 1927: A list of the Peruvian lichens collected by C. Buës. - Bryologist **30**: 83 - 88.
- Moberg, R.**, 1993: The lichen genus *Phaeophyscia* in South America with special reference to Andean species. - Opera Bot. **121**: 281 - 284.
- Müller Aargau, J.**, 1892: Lichenes Exotici. - Hedwigia **31**: 276 - 288.
- Nash, T. H., J. Hafellner & R. S. Common**, 1990: *Omphalora*, a new genus in the Parmeliaceae. - Lichenologist **22**: 355 - 365.
- Nylander, W.**, 1859: Lichenes in regionibus exoticis quibusdam vigentes exponit synoptice enumerationibus. - Ann. Sci. Nat. Bot. **11**: 205 - 264.
- Nylander, W.**, 1885: Parmeliae exoticae novae. - Flora **68**: 605 - 615.
- Osorio, H. S.**, 1974: *Placomaronea candelarioides*: Ampliación de su area de distribución geográfica. - Bryologist **77**: 463 - 464.
- Poelt, J.**, 1974: Zur Kenntnis der Flechtenfamilie Candelariaceae. Ein Beitrag mit besonderer Berücksichtigung einiger südamerikanischer Arten. - Phytion (Austria) **16**: 189 - 210.
- Rambold, G., H. Mayrhofer & M. Matzer**, 1994: On the ascus types in the Physciaceae (Lecanorales). - Pl. Syst. Evol. **192**: 31 - 40.
- Santesson, R.**, 1939: Amphibious pyrenolichens I. - Ark. Bot. **29A,10**: 1 - 67.
- Santesson, R.**, 1942: Some lichens from Palestine and Syria. - Ark. Bot. **30B**, 5: 1 - 5.
- Santesson, R.**, 1942: The South American Cladinae. - Ark. Bot. **30A**, 10: 1 - 27.
- Santesson, R.**, 1944: Contributions to the lichen flora of South America. - Ark. Bot. **31 A,7**: 1 - 28.
- Santesson, R.**, 1952: Foliicolous lichens I. - Symb. Bot. Upsal. **12,1**: 1 - 590.
- Sato, M.**, 1968: Two new varieties of *Thamnolia* from South America. - Bryologist **71**: 49 - 50.
- Schneider, G.**, 1979: Die Flechtengattung *Psora* sensu Zahlbruckner. - Biblioth. Lichenol. **13**: 1 - 291.
- Sipman, H. J. M.**, 1999: Lichens. - In **Luteyn, J. L.** (ed.): Páramos: a checklist of plant diversity, geographical distribution, and botanical literature. - Memoirs of

the New York Botanical Garden, New York Botanical Garden, Bronx, NY: 41 – 53.

**Soukup, J.**, 1965: Lista de líquenes del Peru. - *Biota* **6**: 28 - 45.

**Tehler, A.**, 1986: *Dirina paradoxa* (FÉE) TEHLER, the correct name for *Dirina approximata* ZAHLBR. - *Lichenologist* **18**: 295 - 296.

**Thomson, J.W. & H.H. Iltis**, 1968: A fog-induced lichen community in the coastal desert of southern Peru. - *Bryologist* **71**: 31 - 34.

**Thor, G.**, 1988: Two new species of *Chrysothrix* from South America. - *Bryologist* **91**: 360 - 363.

**Thor, G.**, 1990: The lichen genus *Chiodecton* and five allied genera. - *Opera Bot.* **103**: 1 - 92.

**Timdal, E.**, 1986: A revision of *Psora* (Lecideaceae) in North America. - *Bryologist* **89**: 253 - 275.

**Timdal, E.**, 1991: A monograph of the genus *Toninia* (Lecideaceae, Ascomycetes). - *Opera Bot.* **110**: 1 - 137.

**Triebel, D., G. Rambold & J. A. Elix**, 1995: A conspectus of the genus *Phacopsis* (Lecanorales). - *Bryologist* **98**: 71 - 83.

**Vainio**, 1894: *Acta Soc. Fauna Fl. Fenn.* **10**:

**Vargas, C. C.**, 1948: Addenda a "Sinopsis de la flora del Cuzco de F. L. Herrera, 1941. - *Rev. Univ. (Cuzco)* **37**, 94: 187 - 220.

**Walker, F. J.**, 1985: The lichen genus *Usnea* subgenus *Neuropogon*. - *Bull. Br. Mus. Nat. Hist. (Bot.)* **13**: 1 - 130.

**Yoshimura, I.**, 1995: The lichen genus *Anzia* (Parmeliaceae, Lecanorales) in Central and South America. - Pp. 377 - 387 in Daniels, F. J. A., M. Schulz & J. Peine (Eds): *Flechten Follmann. Contributions to lichenology in honour of Gerhard Follmann*. - Geobotanical and Phytotaxonomical Study Group, Botanical Institute, University of Cologne: Cologne.

**Yoshimura, I. & L. Arvidsson**, 1994: Taxonomy and chemistry of the *Lobaria crenulata* group in Ecuador. - *Acta Bot. Fenn.* **150**: 223 - 233.