

Contenido de pigmentos fotosintéticos en el líquen *Parmotrema austrosinense* trasplantado a la ciudad Capital y al área de colección (Los Varela, Ambato) en Catamarca, Argentina

Alejandra I. Ocampo, Juan M. Hernández, Valeria A. Álvarez, Ronald J. Coronel,
Walter D. Acosta, Rodolfo G. Moyano & Martha S. Cañas

*Departamento de Formación Básica, Facultad de Tecnología y Ciencias Aplicadas,
Universidad Nacional de Catamarca.*

marthacanas@tecono.unca.edu.ar

RESUMEN: Los pigmentos fotosintéticos son usualmente empleados como biomarcadores de estrés producido por polutantes atmosféricos sobre líquenes. En este trabajo se analizan clorofilas y feofitinas en *Parmotrema austrosinense* (Zahlbr.) Hale, a fin de analizar si existen patrones de respuesta del líquen relacionados a la época y sitio de trasplante que permitan ajustar la metodología aplicada al biomonitorio de calidad de aire en Catamarca capital. Se colectaron talos líquénicos en cercanías de Los Varela y se trasplantaron a esta área y a la ciudad en sendos períodos coincidentes con invierno y primavera. Posteriormente en las muestras se cuantificaron espectrofotométricamente clorofilas y feofitinas. En general, se observaron contenido de pigmentos y valores de clorofila *b*/clorofila *a* superiores durante el segundo período de exposición. Se observó, también, un menor contenido de pigmentos en talos trasplantados al área urbana, aunque significativamente sólo para el primer período. Se infiere que, para estos parámetros, la respuesta mensurable de *P. austrosinense* a las condiciones ambientales de la ciudad depende de la época en que se realice el trasplante. Por tanto, éste es un factor importante que deberá considerarse al planificar estudios de calidad de aire en la misma, empleando esta especie como biomonitora y pigmentos fotosintéticos como biomarcadores.

1 INTRODUCCIÓN

Los líquenes son los bioindicadores más ampliamente utilizados para la evaluación de la calidad de aire, debido a su sensibilidad a condiciones ambientales, las cuales originan cambios mensurables en sus componentes específicos (Carreras et al., 1998, 2005).

La alta sensibilidad de líquenes está relacionada con su biología. Debido a la ausencia de partes deciduas, los líquenes no pueden evitar la exposición a contaminantes atmosféricos durante ningún período del año. La falta de estomas y cutícula hace que los aerosoles y gases puedan ser absorbidos a través de la superficie entera del talo, y puedan difundir fácilmente hacia la capa algal. Más aún, la captación primariamente involucra procesos físico-químicos con limitado control biológico por parte del líquen. Además, aunque la deshidratación permite al líquen sobrevivir durante períodos secos, también concentra las soluciones cerca de la superficie de los talos hasta alcanzar concentraciones tóxicas (Gries, 1996).

En relación a los cambios observados en líquenes y que pueden ser utilizados con fines de bioindicación, se ha señalado que la decoloración

de los talos debido a la degradación de clorofilas es uno de los primeros signos visibles de daño líquénico producido como consecuencia de la acción fitotóxica de los contaminantes (Puckett et al., 1973; Showman, 1975; Eversman, 1978). Por tal motivo, el contenido de pigmentos fotosintéticos (Rao y Le Blanc, 1965; Henriksson y Pearson, 1981) y la degradación de clorofilas (Ronen y Galun, 1984; Garty et al., 1985; Kardish et al., 1987; Garty et al., 1988, González et al., 1996) son algunos de los parámetros más utilizados para medir los efectos subletales de los contaminantes sobre líquenes.

En aquellas áreas donde los líquenes frecuentemente están ausentes, comúnmente se emplean técnicas de trasplante para monitorear la calidad del aire (González et al., 1998; Cañas y Pignata, 2003; Giordano et al., 2005; Palomeque, 2008). No obstante, la aplicación de estas técnicas a situaciones complejas tales como áreas urbanas requiere de ciertos estudios de base previos a su aplicación sistemática. Así, dado que los líquenes trasplantados a estas áreas están expuestos tanto a contaminantes atmosféricos como a factores ambientales estacionales, para evaluar la respuesta química de una especie a contaminación

atmosférica debe considerarse la incidencia de dichos factores ambientales sobre la misma. Esto permitiría evitar interpretaciones erróneas cuando la especie sea utilizada en trabajos de biomonitorio / bioindicación de contaminantes atmosféricos (Cañas, 2001).

En este trabajo se analiza el contenido de clorofilas y feofitinas en *Parmotrema austrosinense* (Zahlbr.) Hale trasplantada al área de colección y a la ciudad de San Fernando del Valle de Catamarca durante dos períodos consecutivos; a los fines de analizar si existen patrones de respuesta del líquen relacionados a la época y sitio de trasplante que permitan ajustar la metodología aplicada al biomonitorio de calidad de aire en la capital de Catamarca mediante el empleo de esta especie.

2 MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Líquenes y trasplante

Se realizó trasplante en bolsa (González y Pignata, 1994) de la especie líquénica *Parmotrema austrosinense* (Zahlbr.) durante dos períodos consecutivos de tres meses de duración (julio-octubre de 2011; octubre de 2011- enero de 2012). Para ello, se colectaron talos líquénicos en un lugar considerado de "aire limpio" en cercanías de Los Varela (Departamento Ambato, provincia de Catamarca). Los líquenes fueron cuidadosamente limpiados a fin de eliminar material extraño, así como restos de corteza de los arbustos que les sirven de soporte. Posteriormente, los talos fueron colocados en bolsas de malla de nylon (aproximadamente 20 talos en cada una). El trasplante de las bolsas líquénicas se realizó sobre árboles en 3 sitios dentro del área de colección, y sobre postes a una altura de tres metros sobre el nivel del suelo en 6 sitios de la ciudad de San Fernando del Valle de Catamarca. Luego del período de exposición, las bolsas líquénicas fueron recuperadas. En el laboratorio, los talos fueron triturados a fin de lograr homogeneidad, y se colocaron en freezer a - 4° C hasta su análisis.

2.2 Área de estudio

La ciudad de San Fernando del Valle de Catamarca (SFV Catamarca), capital de la provincia de Catamarca, se encuentra a los 28° 28' 02" S y 65° 46' 51" O, a una altura de 545 m s.n.m. Está ubicada en el denominado Valle Central de Catamarca, extensa depresión tectónica delimitada al oeste por la Sierra de Ambato-Manchao y al este por la Sierra de El Alto – Ancastí. Su límite norte está dado por las

últimas estribaciones de las Sierras de Fariñango y Gracianas, las cuales descienden hasta hundirse en el relleno cuartario un poco al norte y este, respectivamente, de la ciudad capital. Fitogeográficamente, corresponde a la Región del Chaco Árido (Morello et al., 1977), Provincia Chaqueña (Cabrera, 1976). El clima es semi-árido, con un promedio de precipitación anual que oscila entre los 300 y 360 mm y concentración estival. La temperatura media anual para la ciudad capital es de 20,2 °C (Morlans, 1995). Los vientos predominantes son del NEE y del S y SO.

El Municipio de SFV Catamarca comprende el área urbana (10 % de la superficie departamental) y un área rural, pudiendo distinguirse en el mismo tres grandes unidades territoriales: el sistema serrano, el sistema pedemontano y el sistema fluvial del Río del Valle. Cuenta con una población de 141.260 habitantes (INDEC, censo 2001), a la cual deben agregarse los pobladores de los departamentos aledaños (Valle Viejo y Fray Mamerto Esquiú, 23.707 y 10.658 habitantes, respectivamente), con los cuales conforma el "Gran Catamarca".

El sitio de colección, ubicado a 73 km al norte de SFV Catamarca, en el Departamento Ambato, se encuentra en el faldeo oriental de las Sierras de Ambato, a los 27° 58' 02" S y 65° 51' 07" O, a una altura de 1138 m s.n.m. Fitogeográficamente corresponde a la Provincia Chaqueña, Distrito del Chaco Serrano (Cabrera, 1976), el cual es el más húmedo en Catamarca, con precipitaciones que superan los 500 mm anuales. No se dispone de datos de temperatura, pero por la relación entre ésta y la altitud se deduce que presenta veranos más benignos e inviernos más rigurosos que los otros distritos de la Provincia Fitogeográfica Chaqueña (Morlans, 1995).

2.3. Análisis de pigmentos

Para la cuantificación de pigmentos fotosintéticos, se homogeneizaron 100 mg de material líquénico en 10 mL de etanol al 96 % v/v a temperatura ambiente. Luego de 15 minutos se separó el sobrenadante y en el mismo se midió la absorbancia de clorofilas a 665 y 649 nm. Posteriormente se agregó 1 mL HCl 0,06 M a 5 mL del extracto de clorofilas a fin de lograr la formación de feofitinas. Luego de 10 minutos se registró la absorbancia de feofitinas a 666 y 654 nm. En todos los casos las mediciones se realizaron con un espectrofotómetro *Labomed UV-2502*. Sobre la base de peso seco se calcularon las concentraciones (en mg/g) de clorofilas (Clor. a, Clor. b y Clor. Total como Clor. a + Clor. b) de acuerdo a Lichtenthaler y

Wellburn (1983). Las concentraciones de feofitinas (Feof. *a*, Feof. *b* y Feof. Total como Feof. *a* + Feof. *b*) se calcularon según Wintermans y De Mots (1965). Se obtuvieron, además, el cociente Clor. *b*/Clor. *a* y el índice de feofitización Feof. *a*/Clor. *a*.

2.4 Análisis estadísticos

Todas las determinaciones se realizaron a partir de tres submuestras independientes extraídas de cada bolsa liquénica. Los datos obtenidos se analizaron mediante ANOVA a dos criterios de clasificación, con área de trasplante y período de exposición como factores principales. Luego de chequear interacción se realizó ANOVA a una vía, a los fines de comparar las áreas de trasplante para cada período de exposición. Los supuestos del modelo que subyace a cada uno de estos análisis fueron previamente chequeados mediante métodos analíticos y gráficos.

3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se presentan los resultados del ANOVA a dos criterios de clasificación. Como puede observarse, sólo se detectó el efecto producido por el período de exposición sobre el contenido de pigmentos de los talos. La concentración de clorofilas y feofitinas fue mayor durante el segundo período, que correspondió mayormente a primavera (Fig. 1). Un aumento del contenido de pigmentos fotosintéticos conjuntamente con la temperatura ambiental fue observado para *P. austrosinense* en estudios de trasplante a áreas prístinas y polutas de Córdoba (Cañas et al., 1997), y podría reflejar una

respuesta fisiológica de la especie frente a este factor ambiental (Cañas, 2001). El cociente Clor. *b*/Clor. *a* mostró un resultado similar al contenido de pigmentos, mientras que el índice de feofitización no fue afectado por los factores considerados.

Al comparar los valores obtenidos en las distintas áreas de trasplante para cada período de exposición, se observaron concentraciones de pigmentos significativamente inferiores en líquenes trasplantados al área urbana respecto del área de colección. Puckett et al. (1973), Showman (1975) y Eversman (1978) postularon que la degradación de clorofilas es un signo de daño en líquenes por acción de los contaminantes atmosféricos. Por tanto, la menor concentración de clorofilas en muestras liquénicas urbanas puede ser atribuida a fenómenos de polución atmosférica en esta área. La disminución del contenido de clorofilas y feofitinas en líquenes expuestos a contaminantes atmosféricos en áreas urbanas e industriales ha sido observada en *P. austrosinense* (Cañas y Pignata, 2003) y en otras especies (Levin y Pignata, 1995; González et al., 1996).

No obstante las diferencias observadas en el contenido de pigmentos de talos trasplantados a una y otra áreas, éstas fueron significativas sólo para el primer período de exposición. Esto probablemente se deba a una respuesta diferencial de los talos de *P. austrosinense* acorde a su grado de actividad metabólica, la cual varía con las condiciones ambientales de luz, temperatura y humedad (Ahmadjian, 1993; Nash III, 1996; Sundberg et al., 1997; Cañas, 2001).

Tabla 1. Resultados del ANOVA a dos criterios de clasificación para las variables químicas cuantificadas en *P. austrosinense*. Los p-valores en negrita muestran los resultados significativos de cada test.

	Período de exposición	Área de trasplante	Interacción
Clor. <i>a</i>	0,003	0,269	0,511
Clor. <i>b</i>	< 0,001	0,175	0,582
Clor. Total	0,001	0,239	0,525
Feof. <i>a</i>	< 0,001	0,416	0,283
Feof. <i>b</i>	0,223	0,133	0,767
Feof. Total	0,001	0,195	0,528
Clor. <i>b</i> / Clor. <i>a</i>	0,023	0,871	0,737
Feof. <i>a</i> / Clor. <i>a</i>	0,564	0,330	0,572

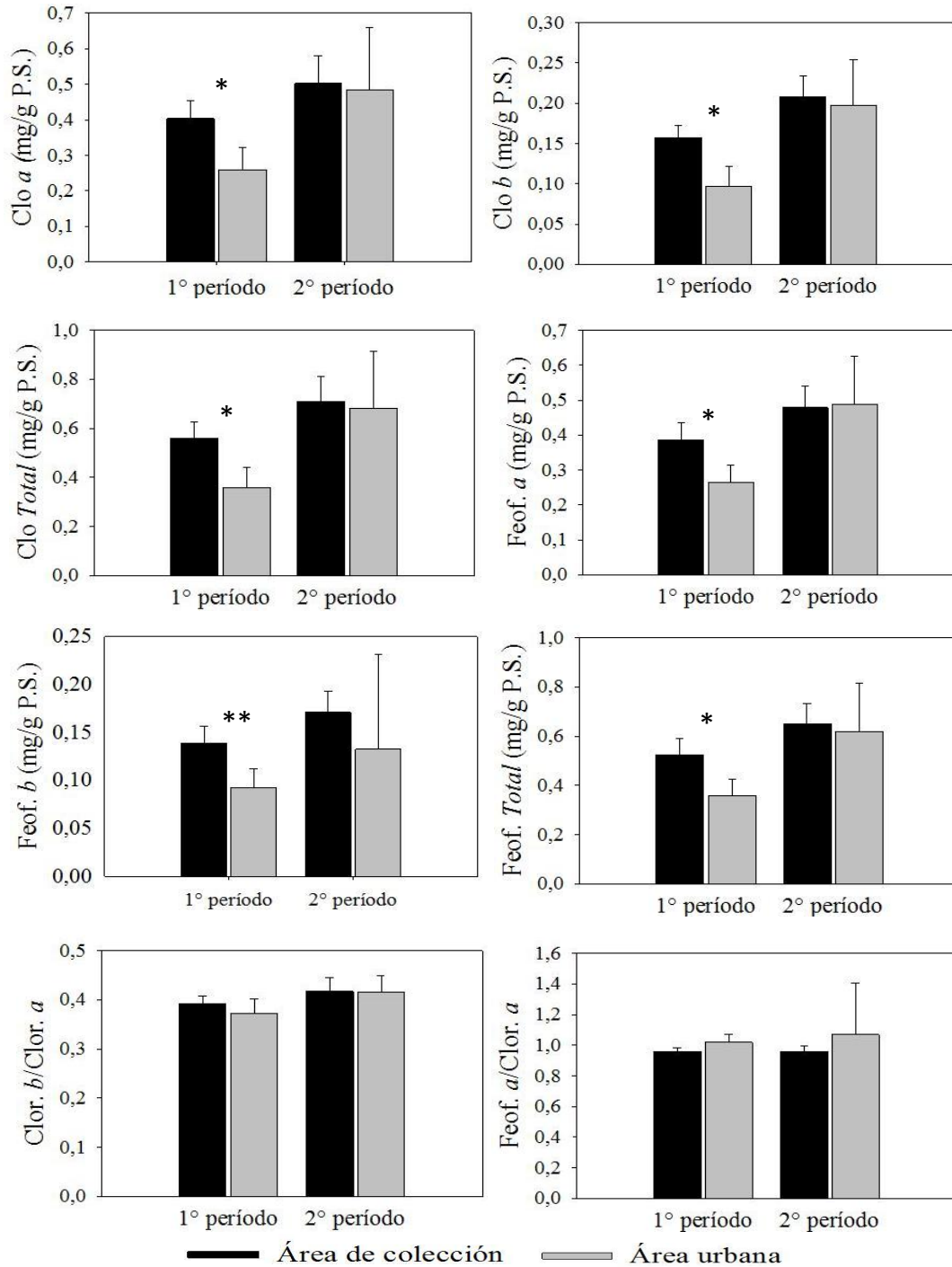


Figura 1. Contenido de pigmentos, clorofila *b*/clorofila *a* e índice de feofitinización en *P. austrosinense* trasplantada a dos áreas y durante dos periodos de exposición en Catamarca. Las diferencias significativas entre áreas para cada período se expresan como: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

Los índices Clor. *b*/Clor. *a* y Feof. *a*/Clor. *a* han sido utilizados para evaluar estrés por polutantes atmosféricos en *P. austrosinense* (Cañas, 2001; Palomeque et al., 2007; Mohaded Aybar et al.,

2008) y en otras especies liquénicas (Carreras et al., 1998; González et al., 2003; Pignata et al., 2007). Sin embargo, en este estudio no se

observaron diferencias significativas entre áreas de trasplante para ningún período de exposición.

4 CONCLUSIONES

A partir de los resultados obtenidos se infiere que, para el contenido de pigmentos fotosintéticos, el grado de respuesta mensurable de *P. austrosinense* a ambientes urbanos con las características de SFV Catamarca depende de la época en que se realice el trasplante. Por tanto, éste es un factor importante que deberá considerarse al planificar estudios de calidad de aire en la ciudad empleando esta especie como biomonitora y pigmentos fotosintéticos como biomarcadores. Así mismo, debido la variación temporal natural a la que están sujetos los pigmentos, deberá prestarse especial atención cuando se comparen los resultados obtenidos en un estudio, con los de otros realizados en diferentes épocas del año; aun cuando el área de estudio y el diseño de muestreo sean los mismos o similares.

5 REFERENCIAS

- Ahmadjian, V., *The Lichen Symbiosis*, John Wiley & Sons, New York, 1993.
- Cabrera, A.L., Regiones fitogeográficas argentinas. *Enciclopedia Argentina de Agricultura y Ganadería*, ACME, Buenos Aires, 1976.
- Cañas, M.S., *Respuesta química de tres especies líquénicas a contaminación atmosférica. Selección de parámetros para bioindicación*, Tesis de Doctorado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de Córdoba, 2001.
- Cañas, M.S. & M.L. Pignata, Efecto de contaminantes atmosféricos urbano-industriales sobre el líquen *Parmotrema austrosinense* (Zahlbr.) Hale, *Ciencia* 1(1), 87-100, 2003.
- Cañas, M.S. & M.L. Pignata, Efecto de contaminantes atmosféricos urbano-industriales sobre el líquen *Parmotrema austrosinense* (Zahlbr.) Hale, *Ciencia* 1(1), 87-100, 2003.
- Cañas, M.S., L. Orellana & M.L. Pignata, Chemical response of the lichens *Parmotrema austrosinense* and *P. conferendum* transplanted to urban and non-polluted environments, *Annales Botanici Fennici* 34, 27-34, 1997.
- Carreras, H.A., Gudiño, G.L. & M.L. Pignata, Comparative biomonitoring of atmospheric quality in five zones of Córdoba city (Argentina) employing the transplanted lichen *Usnea* sp., *Environmental Pollution* 103, 317-325, 1998.
- Carreras, H.A., Wannaz, E.D., Pérez, C.A. & M.L. Pignata, The role of urban air pollutants on the performance of heavy metal accumulation in *Usnea amblyoclada*, *Environmental Research* 97, 50-57, 2005.
- Eversman, S., Effects of low-level SO₂ on *Usnea hirta* and *Parmelia chlorochroa*. *Bryologist* 81, 368-377, 1978.
- Garty, J., Kardish, N., Hagemeyer, J. & R. Ronen, Correlations between the concentration of adenosine triphosphate, chlorophyll degradation and the amounts of airborne heavy metals and sulphur in a transplanted lichen, *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 17, 601-611, 1988.
- Garty, J., Ronen, R. & M. Galun, Correlation between chlorophyll degradation and the amount of some elements in the lichen *Ramalina duriaei* (De Not.) Jatta, *Environmental and Experimental Botany* 25, 67-74, 1985.
- Giordano, S., P. Adamo, S. Sorbo & S. Vingiani, Atmospheric trace metal pollution in the Naples urban area based on results from moss and lichen bags, *Environmental Pollution* 136, 431-442, 2005.
- Gries, C., Lichens as indicators of air pollution, *Lichen Biology*. T. H. Nash III, Cambridge University Press, 240-254, 1996.
- González, C.M. & M.L. Pignata, The influence of air pollution on soluble proteins, chlorophyll degradation, MDA, sulphur and heavy metals in a transplanted lichen, *Chemistry and Ecology* 9, 105-113, 1994.
- González, C.M., Casanovas, S.S. & M.L. Pignata, Biomonitoring of air pollution in Córdoba, Argentina employing *Ramalina ecklonii* (Spreng.) Mey. and Flott., *Environmental Pollution* 91, 269-277, 1996.
- González, C.M., L.C. Orellana, S.S. Casanovas & M.L. Pignata, Environmental conditions and chemical response of a transplanted lichen to an urban area, *Journal of Environmental Management* 53, 73-81, 1998.
- González, C.M., M.L. Pignata & L. Orellana, Applications of redundancy analysis for the detection of chemical response patterns to air pollution in lichen, *The Science of the Total Environment* 312, 245-253, 2003.
- Henriksson, E. & L. C. Pearson, Nitrogen fixation rate and chlorophyll content of lichen *Peltigera canina* exposed to sulphur dioxide, *American Journal of Botany* 68, 680-684, 1981.
- Levin, A.G. & M.L. Pignata, *Ramalina ecklonii* as bioindicator of atmospheric pollution in Argentina. *Canadian Journal of Botany* 73, 1196-1202, 1995.
- Lichtenthaler, H.K. & A.R. Wellburn, Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different

- solvents, *Biochemical Society Transactions* 11, 591-592, 1983.
- Mohaded Aybar C.B., A.I. Ocampo, R.L. Villegas & M.S. Cañas, Comparación de la respuesta química de dos especies líquénicas transplantadas a la región minera del oeste de Catamarca. En: *Investigaciones en Facultades de Ingeniería del NOA*, Editorial Científica Universitaria UNCa, Tomo I, III-71-75, 2008.
- Morello, J., Sancholuz, L. & C. Blanco, Estudio macroecológico de los Llanos de la Rioja, *IDIA* 34, 242-248, 1977.
- Morlans, M.C., Regiones naturales de Catamarca: Provincias Geológicas y Provincias Fitogeográficas, *Revista de Ciencia y Técnica UNCa* 2(2), 1-42, 1995.
- Nash III, T.H., *Lichen Biology*, University Press, Cambridge, 1996.
- Palomeque, L.I., Evaluación de la calidad del aire en el centro-oeste catamarqueño (Belén) mediante el empleo de líquenes como biomonitores, Tesis de Maestría en Conservación y Gestión Ambiental, Universidad Nacional de Catamarca, 2008.
- Palomeque L.I., R.C. Jasan, A.I. Ocampo, C.B. Mohaded Aybar, G.C. Fuentes, R.G. Moyano, R.R. Plá & M.S. Cañas, Análisis preliminar de las respuestas química y fisiológica de *P. austrosinense* transplantada a un área del oeste catamarqueño. En: *Investigaciones en Facultades de Ingeniería del NOA*, Editorial ECO UNT, VI-41-46, 2007.
- Pignata, M.L., R.R. Plá, R.C. Jasan, M.S. Martínez, J.H. Rodríguez, E.D. Wannaz, G.L., Gudiño, H.A. Carreras & C.M. González, Distribution of atmospheric trace elements and assessment of air quality in Argentina employing the lichen, *Ramalina celastri*, as a passive biomonitor: detection of air pollution emission sources, *International Journal of Environment and Health* 1(1), 29-46, 2007.
- Puckett, K.J., Nieboer, E., Flora, W.P. & D.H.S. Richardson, Sulphur dioxide: its effect on phytotoxicity, *New Phytologist* 72, 141-154, 1973.
- Rao, D.N. & F. Le Blanc, Effects of sulfur dioxide on the lichen algae, with special reference to chlorophyll, *Bryologist* 69, 69-75, 1965.
- Ronen, R. & M. Galun, Pigment extraction from lichens with dimethyl sulfoxide (DMSO) and estimation of chlorophyll degradation, *Environmental and Experimental Botany* 24, 234-245, 1984.
- Showman, R.E., Lichens as indicators of air quality around a coal-fired power generating plant, *Bryologist* 78, 1-6, 1975.
- Sundberg, B., Palmqvist, K., Esseen, P.-A. & K.-E. Renhorn, Growth and vitality of epiphytic lichens. II. Modelling of carbon gain using field and laboratory data, *Oecologia* 109, 10-18, 1997.
- Wintermans, J.F.G.M. & A. De Mots, Spectrophotometric characteristics of chlorophylls a and b and their phaeophytins in ethanol, *Biochimica et Biophysica Acta* 169, 448-453, 1965.