

Bioindicadores en la detección de la contaminación atmosférica en Bolivia

Rafael Anze, Margot Franken, Mauricio Zaballa,
María Renee Pinto, Gabriel Zeballos,
María de los Ángeles Cuadros, Ángela Canseco,
Angélica De la Rocha, Victor Hugo Estellano,
Susana Del Granado

Unidad de Calidad Ambiental, Instituto de Ecología
Carrera de Biología, UMSA, La Paz, Bolivia

Desde 1992, el Instituto de Ecología viene estudiando la aplicabilidad de las plantas como bioindicadores de la calidad del aire en el ambiente urbano especialmente en las ciudades de La Paz y El Alto. Se estandarizaron y aplicaron varios métodos de biomonitorio pasivo y activo utilizando una variedad de especies recomendadas por la bibliografía y nativas o naturalizadas en la zona de estudio. Actualmente se trabaja en estrecha coordinación con la Red de Monitoreo de la Calidad del Aire (Red MoniCA) implementada por los gobiernos municipales. Se necesita para estas zonas de gran altitud con un régimen de temperaturas extremas y heladas nocturnas frecuentes especies resistentes a los extremos invernales y, al mismo tiempo, sensibles a la contaminación atmosférica. Las experiencias han mostrado, que Raphanus sativus, como indicador de la calidad integral del aire, y Lolium multiflorum, como acumulador de metales pesados, son las especies más recomendables para el biomonitorio activo; mientras que la cartografía de líquenes, como indicador integral de la calidad de aire y la deposición de polvos sobre las hojas de algunos árboles ornamentales se prestan para el biomonitorio pasivo. Se tiene primeras indicaciones, que Tradescantia cerinthoides, una planta ornamental distribuida en las jardines de la ciudad, puede resultar una especie prometedora para el biomonitorio pasivo de la genotoxicidad del aire.

I. Introducción

Las ciudades son por naturaleza, concentraciones de humanos, materiales y actividades y por esto exhiben tanto los niveles más altos de contaminación como los niveles más grandes de impacto ambiental (Fenger 1999). De tal forma que los contaminantes más comunes dentro de las ciudades son el dióxido de azufre (SO₂), óxidos de nitrógenos (NO_x), ozono, partículas en suspensión, metales pesados y compuestos químicos orgánicos, como el benceno y los hidrocarburos aromáticos policíclicos (Anze 1996a).

Aunque las mediciones de contaminantes por métodos físico-químicos son importantes, no permiten obtener conclusiones sobre los efectos que las concentraciones de contaminantes tienen sobre los seres vivos. Para ello, se utilizan los llamados bioindicadores, que complementan a los citados métodos físico-químicos, y aportan información sobre los efectos de la contaminación sobre los organismos (Klumpp et al. 2004).

Las plantas, además de otros organismos, responden de diferentes maneras a estímulos externos como

contaminantes atmosféricos. Pueden servir como indicadores de la actividad biológica de los contaminantes atmosféricos porque no solo son sensibles, pero también proveen respuestas características a contaminantes atmosféricos frecuentes (Guderian 1985).

El uso de los bioindicadores para medir los efectos de la contaminación atmosférica es un pilar en la gestión de la calidad del aire en todo el mundo (VDI 1999), por su utilización de organismos vivos para estimar el riesgo de la contaminación ambiental para los ecosistemas y la salud humana. Los múltiples métodos de bioindicación, biomonitorio y bioensayos en laboratorio han sido desarrollados en las últimas décadas entrando como herramienta rutinaria de diagnóstico, monitoreo y gestión a las entidades ambientales, no sólo en los países industrializados de su origen sino a nivel internacional. Esto significa que deben ser adaptados a las condiciones climáticas y económicas de los distintos países.

En Bolivia, el Instituto de Ecología de la Universidad Mayor de San Andrés incursionó en este campo desde los primeros años de la década de los 90, aplicando especialmente varios métodos de biomonitorio

pasivo y activo, en la ciudad de La Paz. Actualmente, se trabaja en conjunto con la Red MoniCA (“Red de Monitoreo de La Calidad Atmosférica” implementado por algunos gobiernos municipales en Bolivia) exponiendo varias plantas superiores sensibles a la contaminación atmosférica en los mismos sitios de la Red en las ciudades de La Paz y El Alto.

El presente trabajo pretende hacer una recopilación de las metodologías empleadas y un primer análisis sobre la aplicabilidad de las plantas usadas y las respectivas metodologías.

II. Definiciones: bioindicación, biomonitoreo

Bioindicadores son organismos o comunidades de ellos que pueden responder a la contaminación ambiental mediante alteraciones en su fisiología o a través de su capacidad para acumular polutantes (Pignata 2003). Bioindicadores miden los efectos de la contaminación en seres vivos, por lo tanto ofrecen información sobre los riesgos para otros organismos, ecosistemas y el hombre.

Biomonitores son organismos, partes de organismos o una comunidad de ellos que permiten “cuantificar” la calidad atmosférica mediante comparación de rangos o en relación a un nivel considerado de “background”. Su comportamiento muestra una relación lineal en términos dosis- respuesta ya sea con la concentración de un polutante en el aire, con la combinación de ellos y/o con el tiempo de exposición (Pignata 2003). La respuesta en forma de una reacción específica o la acumulación de ciertos contaminantes, idealmente debe ser fácilmente medible, con una metodología de bajo costo y debe diferenciarse de reacciones sobre factores naturales.

Biomonitoreo es la utilización de biomonitores en series definidas de medición con la finalidad de evaluar la calidad del aire en un sitio determinado, para un contaminante específico o un grupo de polutantes presentes en dicha zona. Cuando los biomonitores que se utilizan son aquellas especies que se encuentran presentes en los ecosistemas a evaluar, entonces se habla de biomonitoreo pasivo. En cambio, cuando los biomonitores son especies que se introducen (transplantes) y/o se utilizan sistemas de exposición controlada se tratan de estudios de biomonitoreo activo.

III. Caracterización del área de estudio (ciudades La Paz y El Alto)

Las dos ciudades abarcan un gradiente altitudinal de aproximadamente 900 m de amplitud, entre 3200 y 4100 m.s.n.m., con clima tropical semiárido de alta montaña, ocupando tres pisos ecológicos, puna, pre-puna y valle seco interandino. Existen dos estaciones climáticas anuales, una época húmeda en verano y una época seca en invierno. (Beck & García 1991, Lorini 1991)

Actualmente, la ciudad de La Paz tiene 793.293 habitantes (Censo 2001) y un parque automotor de más de 152.000 vehículos en el año 2005, y la ciudad de El Alto 649.958 habitantes (Censo 2001) y un parque automotor de más de 128.000 vehículos en el año 2005 (INE 2006, Swisscontact 2007). La mayor fuente de contaminantes atmosféricos es el tráfico vehicular, mientras que la industrialización es baja comparado con otros países vecinos, pero se encuentran pequeñas industrias y talleres distribuidos en toda la ciudad (Anze 1996a, 1997). Los lugares de concentración industrial son: Achachicala y Pura Pura para la ciudad de La Paz y Alto Lima, así como varias zonas ubicadas en las carreteras interprovinciales e interdepartamentales en la ciudad de El Alto. Otra fuente de contaminación atmosférica es la quema informal de basura a cielo abierto (Anze 1996a).

Las ciudades La Paz y El Alto se encuentran en altitudes extremas donde antes nunca han sido aplicados métodos de bioindicación atmosférica. En este sentido, los estudios del Instituto de Ecología son pioneros. Uno de los mayores problemas enfrentados es la identificación de bioindicadores aptos para el clima extremo en estas alturas, especialmente las grandes

amplitudes diurnas y las heladas nocturnas en invierno, también la alta insolación e incidencia de rayos UV. El invierno seco es la estación con mayor contaminación atmosférica, por lo que es preciso encontrar bioindicadores que aguanten estas condiciones extremas.

Por otro lado, el gradiente altitudinal y de temperaturas influye en algunos parámetros evaluados en los bioindicadores, así que se necesita diferenciar entre variaciones causadas por estas variables naturales y las otras inducidas por la calidad del aire. Por este mismo motivo, es problemático identificar una zona de control, con aire limpio, que sea utilizable para el rango altitudinal en cuestión.

Para el biomonitoreo pasivo, se necesita contar con una o varias especies bioindicatoras homogéneamente distribuidas por toda la zona de estudio, requisito difícil de cumplir por la escasez de áreas verdes en ambas ciudades.

IV. Estudios de bioindicación pasivo y activo en la ciudad de La Paz (1992 a 2004)

En La Paz, se estandarizan y aplican métodos de bioindicación atmosférica pasiva y activa, desde el año 1992 (Zeballos et al. 2006). Anze (1996a) presentó un primer trabajo de síntesis sobre las posibilidades de usar métodos de bioindicación en las ciudades de

altura de Bolivia basado en una revisión exhaustiva de la bibliografía internacional.

Antes de relacionar las investigaciones biológicas a los sitios de mediciones regulares de la Red de Monitoreo de Contaminación Atmosférica (Red MoniCA), operada por los Gobiernos Municipales de La Paz y El Alto, se realizaron los siguientes estudios:

Estudios de biomonitoreo pasivo:

- Deposición de polvo en hojas de *Acacia*

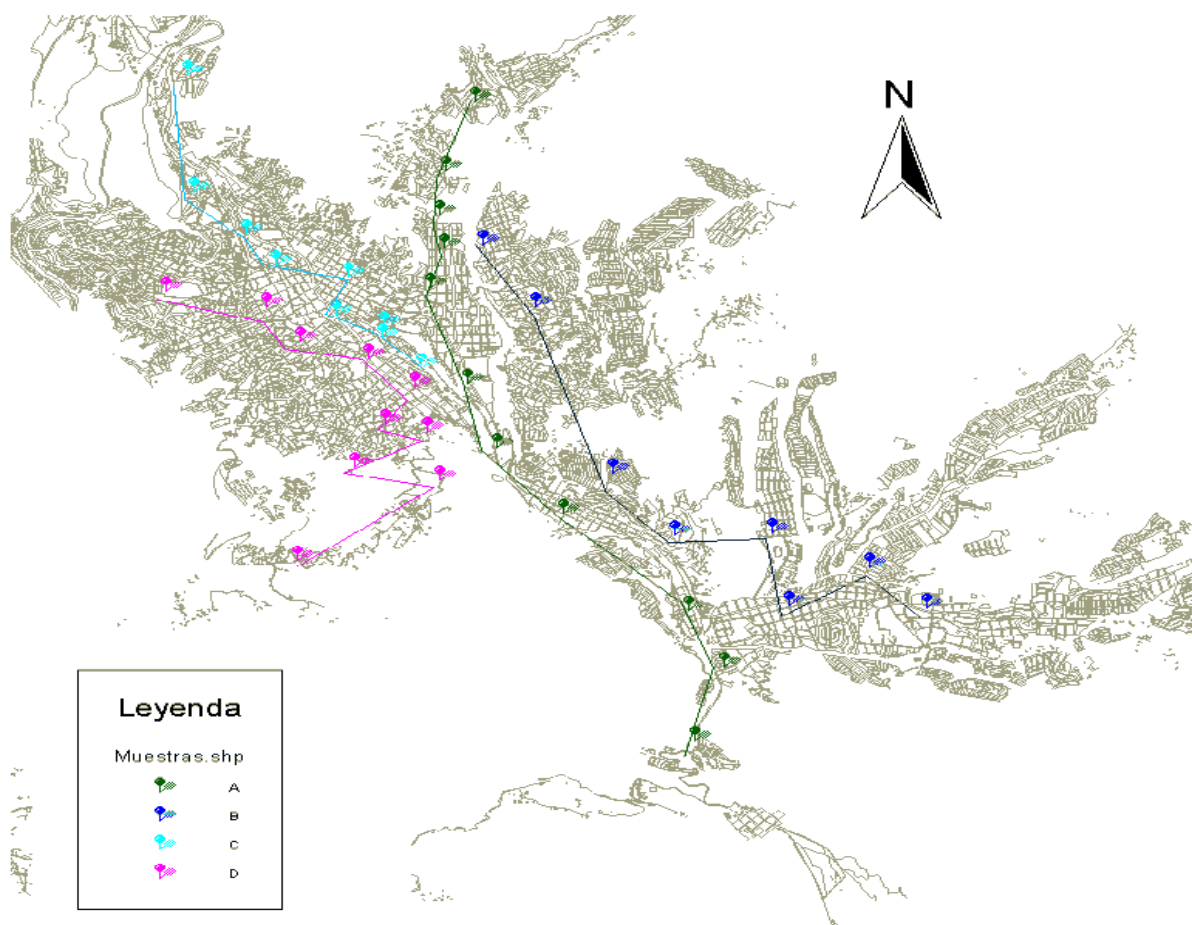


Figura 1. Ubicación puntos de monitoreo pasivo con árboles y arbustos ornamentales en la ciudad de La Paz. Fuente: Pinto 2000.

melanoxylon y *Hedera helix* (Pinto 2000)

- Acumulación de metales pesados en hojas de *Populus balsamifera* (Garrett 2004)
- Cartografía de líquenes sobre la corteza de árboles ornamentales (Canseco 2004)

Estudios de biomonitoreo activo:

- Influencia de la calidad del aire sobre tres especies de líquenes (color e intercambio de gases) (Anze 1993, 1996b)
- Acumulación de metales pesados y feofitización en *Lolium multiflorum* (Del Grado 2004)

V. Metodologías aplicadas

Biomonitoreo pasivo

Deposición de polvo en hojas de árboles ornamentales

Se utilizaron árboles y arbustos ornamentales de la ciudad de La Paz como bioindicadores, para evaluar la inmisión de material particulado a través de la deposición registrada en las hojas. Las especies usadas fueron *Acacia melanoxylon*, como árbol ornamental y *Hedera helix* como arbusto trepador. Para su elección se fijaron los siguientes requisitos: amplia distribución de las especies en todas las zonas de la ciudad, con follaje durante todo el año, hojas con superficies fáciles de medir, hojas lisas y sin resinas, resistencia a las influencias de sales en el suelo, polvo, gases e insectos defoliadores.

Se hicieron en total diez colectas, cinco para la época seca y cinco para la época húmeda, en 38 puntos (ver figura 1).

Las hojas fueron colectadas a 1.5 m del suelo, teniendo mucho cuidado de no perder el polvo sedimentado sobre ellas y guardadas en bolsas herméticas, tipo ziploc, para ser inmediatamente llevadas al laboratorio, donde se lavaron con agua destilada, para recuperar el polvo depositado. El agua de lavado se filtró por filtros Whatman, los filtros se secaron a 60 °C, se pesaron y la cantidad de polvo depositado fue calculada por diferencias de peso y expresada en unidades de superficie de hojas.

Acumulación de metales en hojas de árboles ornamentales

Se colectaron hojas de *Populus balsamifera*, en la época de verano en estado de su mayor desarrollo y antes de que comiencen a marchitarse por la influencia del otoño, entre 2 y 3 m de altura del árbol, en ramas expuestas hacia la vía de tráfico. Se escogieron hojas sanas, sin ataque de insectos, se colocaron en

(Continúa en la página 60)

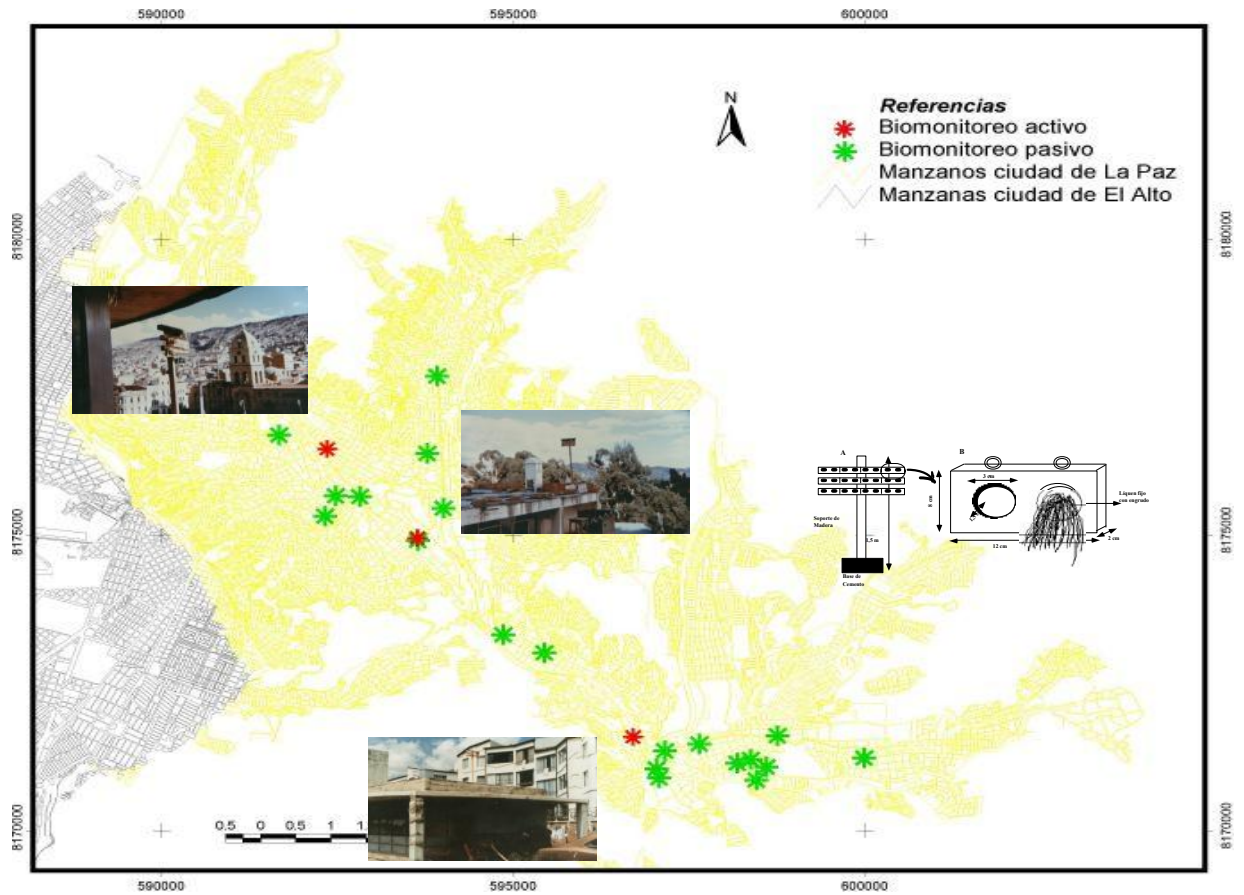


Figura 2. Red de monitoreo activo y pasivo de Líquenes. Fuente: Anze,1992 y Canseco 2004.

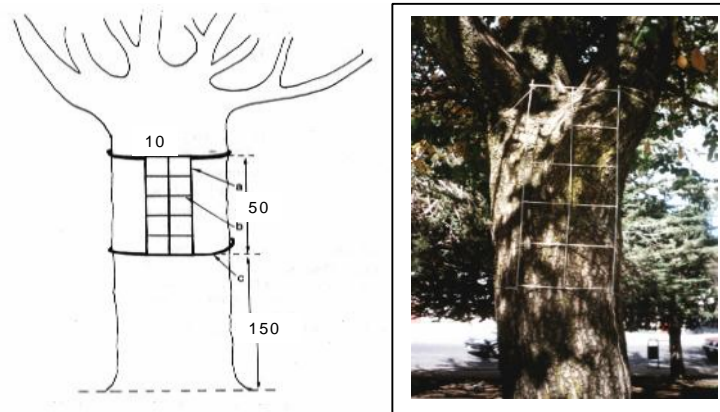


Figura 3. Árbol de ensayo con rejilla de relevamiento de líquenes, según la norma VDI - 3799. Los números indican dimensiones en cm. a = listón de madera, b = cordón delgado, c = liga de goma. Fuente: Canseco 2004.

(Viene de la página 58)

bolsas ziploc y se transportaron al laboratorio. Se seleccionaron tres lugares de muestreo en la ciudad a lo largo de un eje Norte-Sur, con abundancia de ejemplares maduros de la especie en cuestión.

En laboratorio se las secó a peso constante, con su polvo adherido, y se analizó el contenido de plomo y cadmio, que fue expresado por gramo de peso seco de hoja. De esta manera se analiza el contenido de metal de la biomasa vegetal más el polvo depositado sobre ella, es decir se mide la influencia de la contaminación del aire y, a la vez, los metales absorbidos por el suelo y depositados en las hojas del árbol.

Cartografía de Líquenes

Se utilizó el método de cartografía de líquenes existentes en árboles ornamentales de la ciudad, combinado con el cálculo del Índice de Pureza Atmosférica (IAP) propuesto por García & Rubiano (1984) y reformulado por Steubing & Fangmeier (1992), que se basa en un análisis de la presencia o ausencia de especies sensibles o tolerantes para expresar un nivel integral de calidad del aire y zonificar el área de estudio en diferentes niveles de contaminación (Canseco 2004).

Para el estudio fueron definidas 22 áreas de muestreo en dos ejes troncales de la ciudad, Norte a Sur y Este a Oeste, en función a las principales vías de tráfico vehicular y otras fuentes de emisión de contaminantes atmosféricos (ver figura 2).

En cada área de muestreo se utilizó un grupo de diez árboles de la misma especie en los que se aplicó la metodología propuesta por la norma VDI – 3799, de acuerdo con la cual se utiliza una rejilla de relevamiento de líquenes, tal como se muestra en la figura 3. En cada área de muestreo se utilizó una rejilla de 1/10 m² en cada árbol, obteniéndose así una superficie de estudio de 1 m² en cada lugar de muestreo. (Canseco 2004).

Con los datos obtenidos se calculó el IAP para cada área de muestreo, utilizando la siguiente fórmula:

$$IAP_j = \sum (Q_i x f_i)$$

Donde:

IAP_j = Índice de Pureza Atmosférica de la estación j.

f_i = Valor total de: Grado de frecuencia de la presencia (frecuencia) más grado de cobertura, más el número de los árboles examinados cubiertos por la especie en cuestión. El valor f se modifica de estación a estación.

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

Se lo determina con la relación:

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

Donde:

Q_i = Factor de resistencia de la especie i.

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

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

Con los valores de IAP obtenidos, se utilizó la metodología propuesta por García & Rubiano (1984), para el establecimiento de rangos de IAP que permiten la zonificación del área de estudio, en función a los seis posibles niveles de contaminación existente entre

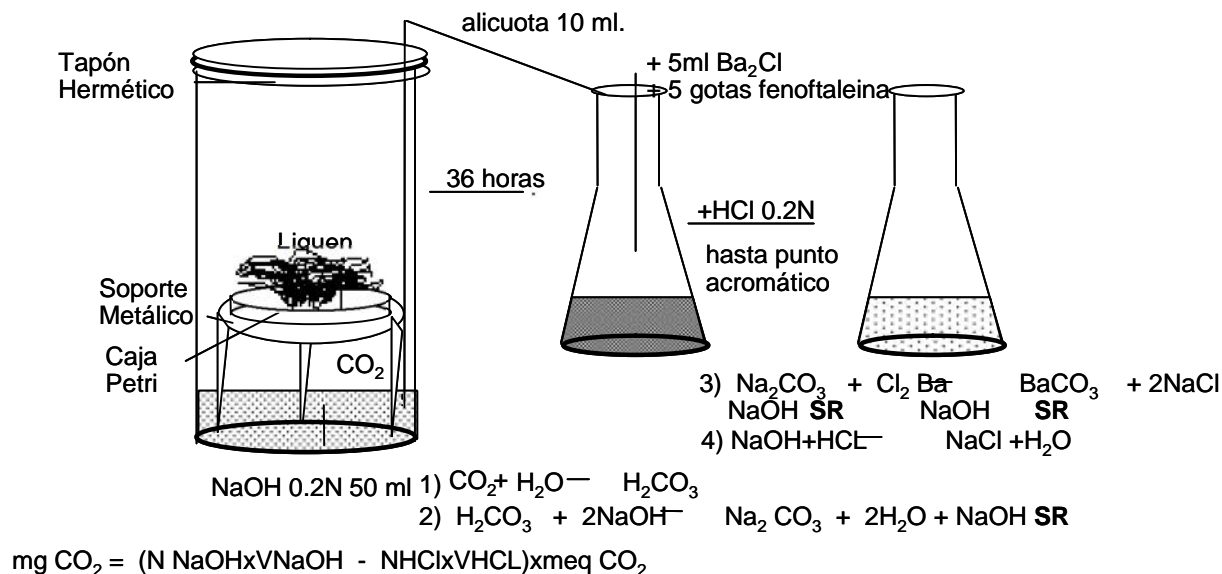


Figura 4. Método de evaluación de variaciones en la respiración propuesto por Rovalo y Rojas (1982). Fuente: Anze 1993.

“sin contaminación” hasta “contaminación muy alta” (Canseco 2004).

Biomonitoreo activo

Influencia de la calidad del aire sobre líquenes

En este trabajo se utilizaron tres especies de líquenes, *Usnea subfloridana*, *Stereocaulon ramulosum* y *Hyptotrachina physcioides*, que fueron sometidas a pruebas controladas de laboratorio para evaluar cambios en la producción de dióxido de carbono metabólico (CO₂), como consecuencia de su exposición a concentraciones conocidas de dióxido de azufre (SO₂) en un rango establecido en función a los estándares de calidad del aire de la EPA y de Alemania (0.1-0.7 ppm). Las tres especies se extrajeron de una zona no contaminada (Valle de Zongo), y se adaptaron durante seis meses en el Campus Universitario de La Paz en condiciones de aire limpio (Anze 1993, 1996b).

En laboratorio se estudiaron comparativamente dos métodos para exposición controlada a soluciones de sulfito de sodio (Steubing & Fangmeier 1992 y Hill 1971 modificado). En ambos casos se observaron las variaciones en la respiración de acuerdo con el método de Rovalo y Rojas (1982) (ver figura 4).

Con las mismas especies utilizadas en laboratorio se realizó un estudio de biomonitoreo activo, en la ciudad de La Paz, en tres puntos a lo largo del eje troncal Norte – Sur de la ciudad (San Francisco – Següencoma), utilizando la metodología de Hale (1983) y modificando algunas especificaciones técnicas de la Asociación de Ingenieros Alemanes (VDI 1991).

Las tablas con los líquenes se colocaron en parantes de 1.5 m en tres diferentes sitios de exposición.

En cada estación se colocó un total de 4 tablas por especie. La exposición tuvo una duración de 30 días y cada semana se retiró una tabla por especie en la que se efectuaron las siguientes observaciones:

- Cambios en parámetros morfológicos, grado de daño producido en los líquenes como evidencia de clorosis o necrosis del talo en muestras previamente humedecidas.
- Respiración de las muestras con el método volumétrico de Rovalo & Rojas (1982).

Acumulación de metales y feofitización en *Lolium*

Se utilizó el método de exposición controlada de *Lolium multiflorum* especie de gramínea que sirve como bioindicador de reacción y de acumulación. Como indicador de reacción se evaluó la degradación de clorofila a, producida por los contaminantes gaseosos, oxidándose a feofitina a y de esta forma se determinó el índice de feofitización. Como indicador de acumulación se analizó la concentración de plomo y cadmio en las hojas. *L. multiflorum* fue expuesta a la atmósfera durante 14 y 28 días, para finalmente ser analizados en laboratorio y poder evaluar la calidad del aire en la ciudad de La Paz (Del Granado 2004).

Para el desarrollo del estudio, se trazó un transecto con 14 puntos de muestreo, con orientación norte-sur, en forma de “Y” en la ciudad de La Paz, cuyos extremos superiores fueron: Achachicala y Villa Fátima; el extremo inferior fue: Carreras (Río Abajo) y el centro de dicha “Y” lo constituyó la Plaza Isabel la Católica. En este transecto se consideraron algunos puntos en los que Swiss Contact realizó monitoreo con tubos pasivos para NO_x y ozono (O₃) así como también otros puntos usados en los trabajos de tesis de Canseco (2004) y Garrett (2004).

Al término de los periodos de exposición se efectuaron extractos de clorofila a y feofitina a para cuantificar las concentraciones por espectrofotometría.

Se calculó el índice de feofitización, que es un índice ampliamente empleado (Carreras et al. 1998, Carreras & Pignata 2001, Conti & Cecchetti 2001, Gonzales et al. 1996, Klumpp et al. 1994) para determinar el grado de contaminación con gases ácidos de un ambiente. Se calcula dividiendo las concentraciones de feofitina y clorofila, es decir, es el cociente entre feofitina y clorofila:

$$\text{Índice de feofitización} = \frac{\text{Feofitina}}{\text{Clorofila}}$$

Por esta relación se tiene que a mayor valor del índice mayor contaminación y a menor valor del índice menor contaminación.

En forma paralela, se obtuvieron muestras de los plantines para el análisis del contenido de metales (plomo y Cadmio), por absorción atómica, que se efectuó en el laboratorio del Instituto Boliviano de Tecnología y Energía Nuclear (IBTEN).

(Continúa en la página 65)

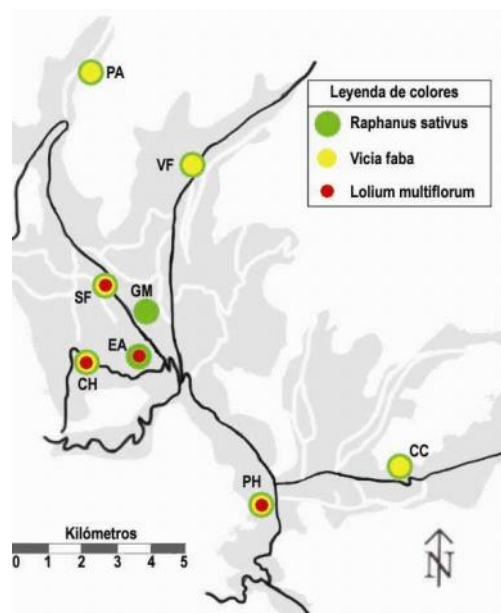


Figura 5. Ubicación de los puntos de biomonitoreo activo en la ciudad de La Paz. Fuente: Tríptico Red MoniCA.

Código	Puntos	Coordenadas	Altitud (m.s.n.m.)
CC	Cota Cota	16°32'14.27" S, 68°04'01.46" O	3421
PH	Plaza Humboldt	16°32'31.50" S, 68°05'29.20" O	3268
EA	Plaza Abaroa	16°30'39.11" S, 68°07'36.80" O	3551
GM	Garaje Municipal	16°29'52.43" S, 68°08'01.74" O	3620
SF	San Francisco	16°29'46.02" S, 68°08'14.12" O	3471
CH	Cotahuma	16°30'56.64" S, 68°08'21.92" O	3700
VF	Villa Fátima	16°28'21.11" S, 68°07'00.27" O	3796
PA	Plan Autopista	16°27'31.96" S, 68°08'48.33" O	3906

Tabla 1: Ubicación de los puntos de muestreo en la ciudad de La Paz

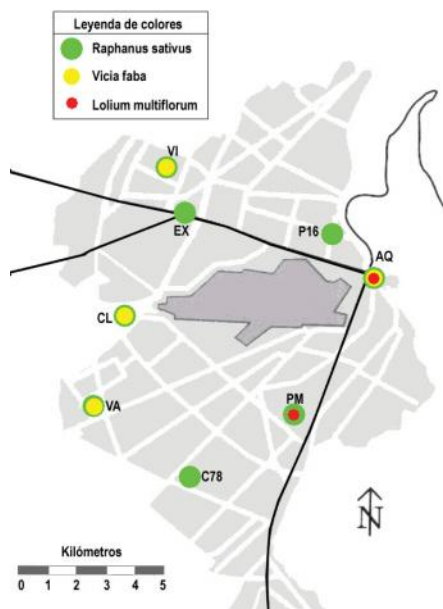


Figura 6. Ubicación de los puntos de biomonitorio activo en la ciudad de El Alto. Fuente: Tríptico Red MoniCA.

Código	Puntos	Coordenadas	Altitud (m.s.n.m.)
VI	Villa Ingenio	16°28'41.68" S, 68°12'41.59" O	4021
EX	Ex tranca Copacabana	16°29'24.66" S, 68°12'33.80" O	3990
P16	Plaza 16 de Julio	16°29'40.80" S, 68°10'25.72" O	4031
AQ	Alcaldía Quemada	16°30'17.18" S, 68°09'44.35" O	4046
PM	Plza. del Minero	16°32'14.20" S, 68°10'45.13" O	3975
C78	Cosmos 78	16°31'38.10" S, 68°11'55.77" O	3963
VA	Villa Adela	16°32'13.50" S, 68°13'45.62" O	3947
CL	San Felipe de Seque	16°30'47.81" S, 68°13'23.89" O	3950

Tabla 2: Ubicación de los puntos de muestreo en la ciudad de El Alto

(Viene de la página 62)

VI. Estudios actuales de biomonitorreo activo en la Red MoniCA

A partir de 2001 (El Alto) y 2004 (La Paz), los gobiernos municipales, con el apoyo de Swisscontact, operan la “Red de Monitoreo de la Calidad del Aire” en estas ciudades, que monitorea algunos parámetros

físico químicos de contaminantes atmosféricos. Las concentraciones promedias durante 14 días de los óxidos de nitrógeno (NO_x) y el ozono troposférico (O_3) se miden mediante tubos pasivos, mientras que se realizan bombeos de 24 horas para la medición de los polvos menores a 10 micrómetros (PM_{10}) suspendidos en el aire. En un lugar de la ciudad, en el Garaje Municipal frente a la Alcaldía de La Paz, se tiene instalado un equipo automático de medición continua de los gases ozono, óxidos de nitrógeno y monóxido de carbono.



Figura 7: Macetas preparadas con las cuerdas de absorción y riego semiautomático durante la fase de cultivo
Fotos: María de los Angeles Cuadros

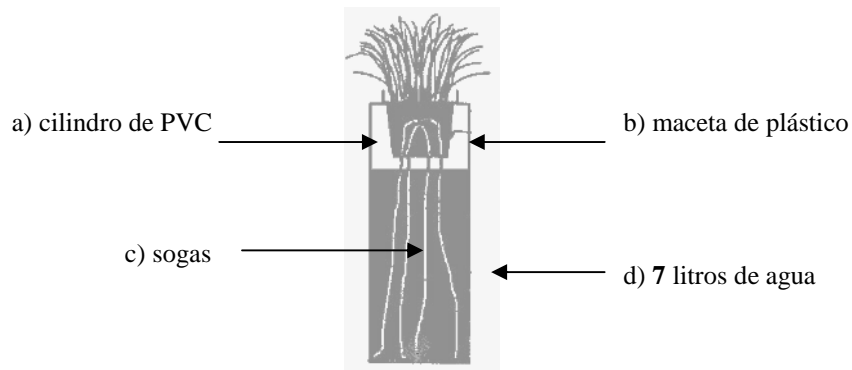


Figura 8: Esquema de riego semiautomático de las macetas con sogas tipo perlon durante la exposición Fuente: VDI, 2003.



Figura 9: Equipo de exposición instalado en Villa Ingenio Foto: Maria de los Ángeles Cuadros.



Figura 10: Germinación de semillas de *Lolium multiflorum*. Foto: Susana del Granado, 2004.

Desde el año 2006, el Instituto de Ecología expone varias plantas bioindicadoras en los sitios de la Red, donde cada planta sirve para distintos fines de indicación. Se ha tratado de implementar especies estandarizadas a nivel mundial, nativas de Bolivia, naturalizadas en la zona de La Paz, y/o cultivadas en las regiones altas de Bolivia.

Se realizan los siguientes estudios en cinco géneros de plantas superiores:

1. Acumulación de metales pesados en *Lolium multiflorum* cv. Lema (Familia *Gramineae*)
2. Efectos de la calidad del aire en *Raphanus sativus* cv. Cherry Belle (Familia *Brassicaceae*)
3. Evaluación de efectos de ozono sobre *Vicia faba* cv. Pairumani 1 (Familia *Leguminosae*)
4. Evaluación de efectos de ozono sobre dos clones de *Trifolium repens* (Familia *Leguminosae*)
5. Efectos genotóxicos en *Tradescantia pallida* ssp. *purpurea* y *T. cerinthoides* (Familia *Commelinaceae*)

El monitoreo de la red MoniCA en la ciudad de La Paz se desarrolla en ocho puntos, los mismos que se utilizan para el biomonitoreo activo (ver figura 5 y tabla 1).

El monitoreo de la red MoniCA en la ciudad de El Alto se desarrolla en ocho puntos, los mismos que se utilizan para el biomonitoreo activo (ver figura 6 y tabla 2).

En un primer paso se estandarizaron los métodos de cultivo y exposición de las plantas, en base a los manuales publicados por la Asociación de Ingenieros alemanes (VDI) y otros como el protocolo de ICP (2006) para *Trifolium*, además de la bibliografía específica para cada planta.

Método de exposición en la Red MoniCA

Esta metodología se basa en varios manuales de la Asociación de Ingenieros Alemanes (VDI) y se aplicó para las siguientes plantas: *Lolium*, *Raphanus* y *Vicia*.

Trifolium necesita un método de exposición especial que se describe en adelante, y *Tradescantia* no fue

apta para la exposición en las ciudades de La Paz y El Alto, porque requiere mayores temperaturas y grandes superficies para desarrollar suficientes inflorescencias, necesarias para el bioensayo de genotoxicidad.

Lolium, *Raphanus* y *Vicia* se cultivan hasta su desarrollo óptimo para la exposición, en un sitio de control (Achocalla) con poca contaminación atmosférica, a una altitud de 3800 m, intermedia entre los sitios de exposición en las ciudades La Paz y El Alto. Se realizaron cultivos en vivero y en invernadero, y se comprobó que el mejor crecimiento se logra en invernadero, luego adaptando las plantas por varios días hasta una semana a las temperaturas de ambiente en vivero. Las plantas adaptadas están listas para ser expuestas en la ciudad.

El cultivo y la exposición se realizan en macetas con sogas de perlon colgando a un recipiente de agua para el riego semiautomático de las plantas (ver figuras 7, 8). Estas macetas son colocadas mediante un soporte metálico a postes de luz en una altura de 2 m (ver figura 9). Un techo de semisombra evita la influencia de la radiación UV, que podría cambiar los efectos de la contaminación.

Medida	Hipocótilo	Hojas	Toda la planta
Peso en seco (PS)	X	X	X
Peso en fresco (PF)	X	X	X
Área		X	
Daños (%) visibles (clorosis, necrosis, brillo plateado)		X	

Tabla 3. Mediciones usadas para el biomonitoreo con *Raphanus sativus*.



Figura 11: a) seis plantas por maceta; b) después de la reducción a 3 plantas; c) plantas listas para la exposición
Fotos: Maria de los Ángeles Cuadros

Acumulación de metales pesados en *Lolium multiflorum* cv. Lema

Lolium multiflorum es una gramínea introducida y naturalizada en Bolivia, que se encuentra ampliamente distribuida en los departamentos de La Paz y Cochabamba (Renvoize 1998), y es utilizado con fines ornamentales como césped en jardines y canchas de fútbol. En la ciudad de La Paz se encuentra en las zonas urbanas y los alrededores como especie cultivada y espontánea (Del Granado 2004).

Se propaga a partir de semillas y es de rápido crecimiento. Para fines de biomonitoring se usa la variedad Lema, por su respuesta más homogénea en la acumulación de metales y porque su uso en el biomonitoring se encuentra altamente estandarizado en las ciudades europeas (Klumpp et al. 2003). Asimismo, es utilizada para la detección de flúor y SO_2 en el aire

debido a la capacidad de acumular flúor y azufre en sus tejidos (VDI 1978, 1991, 2001, 2003). Para fines del biomonitoring realizado en el trabajo de Del Granado (2004) y para su uso actual en la red MoniCA, las semillas certificadas fueron importadas desde Alemania.

Al final de la exposición se evaluó la biomasa fresca y seca, además de la acumulación de plomo y cadmio en los tejidos.

Efectos de la calidad del aire en *Raphanus sativus* cv. Cherry Belle

Raphanus sativus, o también conocido como rábano o rabanito, cumple con todas las características típicas de un buen bioindicador, aunque es una planta

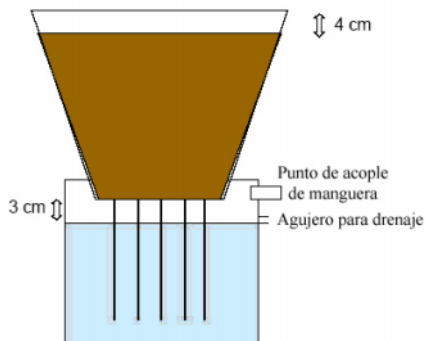


Figura 12: Equipo de exposición para *Trifolium* (ICP 2006).



Figura 13: Daños típicos por ozono en *Trifolium repens*, clon sensible (ICP 2006)

mayormente conocida por su importancia económica (Kostka-Rick & Manning 1993). En Bolivia se la cultiva hasta los 4000 m de altitud y resiste las heladas de invierno. Se propaga a partir de semillas, es de rápida germinación y pronto desarrollo de sus hojas, las cuales junto con el hipocótilo son utilizados en los estudios de bioindicación (ver tabla 3).

Es una planta sensible a diferentes contaminantes atmosféricos, donde los efectos más estudiados son aquellos causados por el ozono (EPA 1976), siendo más sensible al ozono que la zanahoria, la pimienta, el perejil, el algodón, la lechuga, el arroz y la frutilla, entre otros (Guderian 1985). Kleier et al. (2001) encontró que las plantas de rábano expuestas al ozono tienden a disminuir su biomasa.

La tabla 3 muestra las principales mediciones que se realizan en estudios de bioindicación con *R. sativus*.

Las variedades más utilizadas son Cherry Belle y Crimson Giant. En nuestros estudios se utilizó la variedad Cherry Belle, que se adaptó bien a las condiciones de La Paz, principalmente por su corto tiempo de germinación y desarrollo, en comparación a Crimson Giant. La semilla se importó de un proveedor de semillas certificadas de Estados Unidos.

Evaluación de efectos de ozono sobre *Vicia faba* cv. Pairumani 1

Vicia faba es mejor conocida como una planta económica al igual que el rábano, también es de fácil ger-

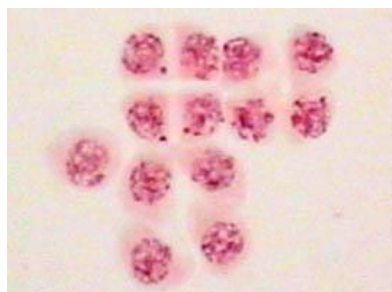


Figura 14. a) Tétradas tempranas (100 X), b) Tétrada con un micronúcleo. Fuente: Lobo (2005).

minación y corto tiempo de crecimiento. Es especialmente sensible al dióxido de azufre (SO₂) y el ozono (O₃), entre otros contaminantes atmosféricos. En Bolivia es cultivada en los valles interandinos (2300-2900 m.s.n.m.) y en zonas altiplánicas (3000-4000 m.s.n.m.) (Crespo 1990).

En diferentes países se han diseñado y aplicado bioensayos controlados con *Vicia faba* para contaminantes atmosféricos como el ozono y el dióxido de azufre, solos y combinados, sin embargo los métodos de exposición para la evaluación de la calidad del aire in situ aún no están estandarizados a nivel internacional.

Para el biomonitoreo se utilizaron semillas certificadas de *Vicia faba* var. mayor procedentes de la Oficina Regional de Semillas de La Paz y la convariedad Pairumani 1 procedente de la granja de Pairumani, Cochabamba.

Se evalúan el área foliar dañada por clorosis y/o necrosis, deficiencias en el crecimiento y la biomasa fresca y seca de las plantas.

Evaluación de efectos de ozono sobre dos clones de *Trifolium repens*

Trifolium repens es una especie naturalizada en Bolivia creciendo frecuentemente en los alrededores de La Paz y El Alto. Para el estudio de bioindicación se utilizan dos clones con diferente resistencia al ozono (uno resistente y uno sensible frente a este gas) que se propagan a partir de esquejes para mantener su homogeneidad genética (ICP 2006). Los esquejes se consiguieron del Jardín Botánico de Sao Paulo (Brasil) y actualmente se propagan en el Instituto de Ecología.

Las plantas se exponen en macetas grandes, de 10 litros, provistos de sogas de nylon que cuelgan en un recipiente de agua para el riego semiautomático (ver figura 12). Se deben exponer al menos 10 macetas de cada clon por lugar, a nivel del suelo durante varios meses. Cada mes se reportan los daños en las hojas de las plantas y luego se recorta la planta en una altu-

ra de 7 cm sobre el substrato para el análisis de biomasa fresca y seca.

Los daños causados por el ozono se miden por la biomasa y por daños en sus hojas en forma de necrosis y clorosis.

Efectos genotóxicos en *Tradescantia pallida* ssp. *purpurea* y *T. cerinthoides*

Tradescantia pallida y *cerinthoides* son especies ornamentales que provienen de Norte y Centroamérica y que en Bolivia se encuentran bastante bien distribuidas en jardines e interiores de casa. Se propagan mediante esquejes, garantizando la homogeneidad genética de la planta para su uso en los bioensayos. *Tradescantia pallida* var. *purpurea* se utiliza en una variedad de bioensayos para determinar los efectos genotóxicos de químicos, de radiación y de contaminación en aire, aguas y suelos (Klumpp et al. 2004), que están basados en la producción de micronúcleos, por efecto de mutágenos ambientales, en las células madre de los pólenes (Suyama et al. 2002, Guimarães 2003, Klumpp et al. 2004). Este test está altamente estandarizado y se conoce como test Trad-MCN. El fácil reconocimiento de micronúcleos (ver figura 14) hace del Trad-MCN un ensayo sólido, con bajo nivel de incertidumbre o subjetividad (Rodrigues et al. 1997).

Tradescantia pallida para su óptimo desarrollo y crecimiento necesita temperaturas relativamente altas, por encima de los 15 °C, especialmente no desarrolla inflorescencias a temperaturas más bajas. Esto restringe su uso en el biomonitoreo activo *in situ* en las ciudades de La Paz y El Alto.

Por este motivo, *Tradescantia* fue utilizado en bioensayos de laboratorio para medir la genotoxicidad del material particulado en suspensión (PM10), recolectado por la Red MoniCA, en los dos lugares con mayores concentraciones de PM10 en la ciudad de La Paz.

Por otro lado, se realizaron los primeros estudios comparativos de formación de micronúcleos entre *T.*

pallida y *T. cerinthoides*, especie más robusta y con inflorescencias a lo largo de todo el año en la ciudad de La Paz. Es importante determinar si *T. cerinthoides* es sensible a la presencia de contaminantes atmosféricos y reacciona de forma similar a *T. pallida* con la formación de micronúcleos porque no se cuenta con citas bibliográficas de uso en el test Trad-MCN. Para esta finalidad, se utilizaron plantas presentes en los jardines públicos y privados de la ciudad para su uso como biomonitores pasivos.

VII. Conclusiones

El biomonitoreo pasivo en las ciudades La Paz y El Alto se ve dificultado por la escasez de áreas verdes y la distribución inhomogénea de la vegetación arbórea y arbustiva. Estas dificultades se tropezaron igualmente con todos los estudios de biomonitoreo pasivo realizados en la ciudad de La Paz: la cartografía de líquenes, el estudio de deposición de polvos sobre hojas de árboles, el estudio de acumulación de metales pesados en hojas de árboles y finalmente, el estudio de micronúcleos en las inflorescencias de *Tradescantia*. Como las dos especies de *Tradescantia* aplicadas son especies ornamentales fácilmente de reproducir en grandes cantidades, esas especies parecen prometedoras para el biomonitoreo en la ciudad de La Paz, si el Gobierno Municipal toma la decisión de cultivarlas en las calles y plazas de toda la ciudad.

El método de cartografía de líquenes ha resultado muy económico y rápido. Un factor limitante es la necesidad de expertos entrenados en el reconocimiento de las especies en campo. La distribución de los líquenes, el índice de pureza atmosférica (IAP) y en especial la cobertura de líquenes sobre la corteza de los árboles parece responder a tres factores: contaminación atmosférica por el tráfico vehicular y otras fuentes de emisión, dispersión de los contaminantes por brisas de viento en plazas y avenidas anchas y extensión de las áreas con vegetación. La vegetación aumenta la humedad del aire y adsorbe y absorbe parcialmente los contaminantes, lo que mejora las condiciones ambientales para los líquenes.

Para el biomonitoreo activo, los métodos de cultivo, exposición y análisis ahora están altamente estandarizados.

La especie más recomendable es *Raphanus sativus* cv. Cherry Belle, por su rápido crecimiento y resistencia a plagas, el bajo costo de los análisis y la buena respuesta a situaciones de contaminación atmosférica. *Raphanus* además aguanta las bajas temperaturas de invierno, así que es apta para mediciones durante todo al año, también en la ciudad de El Alto.

Vicia faba también se desarrolla rápidamente y resiste a las bajas temperaturas de invierno. La limitación de esta especie está en su sensibilidad al ataque del hongo fitoparásito *Botrytis fabae*, mejor conocido como mancha de chocolate, que daña a las hojas y tallos de la planta causando daños similares a los causados por el ozono. La convariedad Pairumani 1 es de crecimiento más rápido y es menos afectado por el hongo, así que se la recomienda frente a la variedad mayor o Uznayo cultivada en la zona de La Paz y El Alto.

Lolium multiflorum es la especie más recomendada mundialmente para la medición de la acumulación de metales pesados y flúor. Es una especie robusta que también se puede usar durante todo el año. En nuestro país todavía no se realizaron mediciones de flúor con esta planta.

Tradescantia pallida necesita temperaturas promedio mayores a 15 °C, para su crecimiento y en especial para el desarrollo de las inflorescencias que se utilizan en el método de bioindicación (Ensayo

TRAD-MCN). Por este motivo, sólo se presta para el biomonitoreo pasivo durante los meses de verano y para bioensayos en laboratorio. *T. cerinthoides* es más robusta y desarrolla inflorescencias durante todo el año y en todo el gradiente altitudinal de la ciudad de La Paz. Por lo menos para La Paz parece una planta bioindicadora muy prometedora, en el biomonitoreo pasivo. Todavía no se ha comprobado, si también es apta para la ciudad de El Alto.

Trifolium repens todavía se encuentra en la fase de propagación y no se tienen resultados sobre su respuesta a la exposición.

Referencias

- Anze, R., 1993. Ensayos para la utilización de líquenes del Valle de La Paz como indicadores de contaminación atmosférica por dióxido de azufre. Tesis de Licenciatura en Biología. Universidad Mayor de San Andrés. La Paz.
- Anze, R., 1996a. Propuesta para la implementación de una red de biomonitoreo para contaminación atmosférica en la ciudad de La Paz. Tesis de Maestría. Universidad Mayor de San Andrés. La Paz. 193 pp.
- Anze, R., 1996b. Líquenes del valle de La Paz como bioindicadores de contaminación atmosférica. *Ecología en Bolivia* 28: 65-80
- Anze, R., 1997. Evaluación rápida de fuentes de contaminación atmosférica en la ciudad de La Paz. *Ecología en Bolivia* 29: 51-70
- Beck, S. & E. García, 1991. Flora y vegetación en los diferentes pisos altitudinales. En: E. Forno & M. Baudoin (eds). *Historia Natural de un Valle en los Andes: La Paz*. pp. 65 – 108. Instituto de Ecología, La Paz.
- Canseco, A. 2004. Comunidades de líquenes: Indicadoras del nivel de calidad del aire en la ciudad de La Paz, Bolivia. Tesis en Biología, UMSA, La Paz, Bolivia
- Carreras, H., G. Gudiño & M.L. Pignata, 1998. Comparative biomonitoring of atmospheric quality in five zones of Córdoba city (Argentina) employing the transplanted lichen *Usnea* sp. *Environmental Pollution* 103: 317 – 325.

- Carreras, H. & M.L. Pignata, 2001. Comparison among air pollutants, meteorological conditions and some chemical parameters in the transplanted lichen *Usnea amblyoclada*. *Environmental Pollution* 111: 45-52.
- Conti, M.E. & C. Cecchetti, 2001. Biological monitoring: lichens as bioindicators of air pollution assessment – a review. *Environmental Pollution*, Volumen 114, pp.471 - 492
- Crespo, M. W., 1990. Investigaciones realizadas en el cultivo de haba *Vicia faba* L. en Bolivia. pp. 1-14.
- Del Granado, S., 2004. Evaluación de la calidad del aire en distintos puntos de la ciudad de La Paz, por detección de contaminantes gaseosos (con énfasis en SO₂) y metales pesados (Pb y Cd), utilizando biomonitoreo activo con *Lolium multiflorum* (Gramínea) y monitoreo con filtros SAM. Tesis de Licenciatura. Carrera de Biología. Universidad Mayor de San Andrés. La Paz
- Fenger, J., 1999. Urban air quality. *Atmospheric Environmental* 33: 4877-4900.
- Garrett, A. 2004. Biomonitoreo pasivo de la contaminación atmosférica por Plomo y Cadmio en la ciudad de La Paz mediante análisis de hojas en *Populus balsamifera* (Salicaceae). Tesis en Biología, UMSA, La Paz, Bolivia. pp. 33 – 70
- García, L. & L. Rubiano, 1984. Comunidades de líquenes como indicadores de niveles de calidad de aire en Colombia. *Cont. Amb.*, Vol. 8, Cap. 13, pp. 79 – 90, Medellín, Colombia
- Gonzales, C., S. Casanovas & M.L. Pignata, 1996. Biomonitoring of Air Pollutants from Traffic and Industries Employing *Ramalina ecklonii* (Spreng.) Mey. and Flot. in Córdoba, Argentina. *Environmental Pollution*. Volumen 91 .No 3. pp. 269 - 277
- Guderian, R., 1985. *Air Pollution by Photochemical Oxidants*. Edit. Springer-Verlag. Berlin. Alemania.
- Guimarães, E.T., M. Domingos, E.S. Alves, N. Caldini Jr, D. Lobo, A.J.F.C. Lichtenfels & P.H.N. Saldiva, 2000. Detection of the genotoxicity of air pollutants in and around the city of São Paulo (Brazil) with the *Tradescantia*-micronucleus (Trad-MCN) assay. *Environmental and Experimental Botany* 44 (2000): 1-8.
- Guimarães, E.T., 2003. *Poluição atmosférica urbana na cidade de São Paulo e mutagênese: avaliação de riscos utilizando-se bioindicadores vegetais do gênero Tradescantia*. Tesis de Doctorado. San Pablo: Facultad de Medicina. Universidad de São Paulo.
- Hale, M.E., 1983. *The biology of lichens*. 3rd Edition, E. Arnold Publishers, Maryland, 190 p.
- Hill, D.J., 1971. Experimental study of the effect of sulphite on lichens with reference to atmospheric pollution. *New Phytologist* 70, pp. 831 – 836
- ICP, 2006. ICP Experimental protocol for monitoring the incidents of ozone injury on vegetation. ICP Vegetation Ozone Sub-programme 2006
- INE, 2006. <http://www.ine.gov.bo> Instituto Nacional de Estadística. La Paz
- Kleier, C., B. Farnsworth & W. Winner, 2001. Photosynthesis and biomass allocation of radish cv. "Cherry Belle" in response to root temperature and ozone. *Environmental Pollution* 111: 127-133.
- Klumpp, A., G. Klumpp & M. Domingos, 1994. Plants as bioindicators of air pollution at the Serra Do Mar near the industrial complex of Cubatao, Brazil. *Environmental Pollution*, Vol. 85, pp. 109 – 116
- Klumpp, A., W. Ansel & G. Klumpp, 2004. EuroBionet, European Network for the Assessment of Air Quality by the Use of Bioindicator Plants, Reporte Final. Universidad de Hohenheim. Stuttgart, Alemania.

- Kostka-Rick, R. & W. Manning 1993. Radish (*Raphanus sativus* L.): A model for studying plant responses to air pollutants and other environmental stresses. *Environmental Pollution* 82: 107-138
- Lobo, D.J.A. 2005. Manual práctico para utilização de *Tradescantia* como biomonitor. No publicado.
- Lorini, J., 1991. Clima. En: Forno, E. & M. Baudoin (Eds). *Historia natural de un valle de los Andes*: La Paz. pp. 27 – 46. Instituto de Ecología. La Paz.
- Pignata, M.L. 2003. Curso sobre: Empleo de biomonitores en estudios de contaminación atmosférica. Auspiciado por Swiss Contact, IB-TEN, Instituto de Ecología, La Paz, Bolivia
- Pinto, M.R. 2000. Biomonitorio de contaminación atmosférica por material particulado en árboles y arbustos ornamentales de la ciudad de La Paz. Tesis en Biología, UMSA, La Paz, Bolivia. 102 pp.
- Rodriguez, S.G., T.-H. Ma, D. Pimentel & L. Weinstein, 1997. *Tradescantia* bioassays as monitoring systems for environmental mutagenesis: A review. *Critical Reviews in Plant Sciences* 16 (4): 325-359.
- Rovalo, M. & M. Rojas, 1982. *Fisiología vegetal experimental: prácticas de laboratorio*. Edit. LIMUSA, México D.E. 271 p.
- Steubing, L. & A. Fangmeier, 1992. *Pflanzenoekologisches Praktikum*. Eugen Ulmer Verlag, Stuttgart, Alemania, 205 pp.
- Suyama, F., E.T. Guimarães, D.J.A. Lobo, G.S. Rodrigues, M. Domingos, E.S. Alves, H.A. Carvalho & P.H.N. Saldiva, 2002. Pollen mother cells of *Tradescantia* clone 4430 and *Tradescantia pallida* var. *purpurea* are equally sensitive to the clastogenic effects of X-rays. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 35: 127-129.
- Swisscontact, sin año. Tríptico Red MoniCA.
- Swisscontact, 2007. Proyecto Aire Limpio. Conferencia inédita
- VDI 3792. 1978. *Verfahren der standardisierten Graskultur*. Parte 1. Beuth Verlag GmbH. Alemania
- VDI 3792. 1991. *Measurement of the response dose of ambient lead in plants with standardized grass cultures*. Parte 3, Beuth Verlag GmbH, Alemania
- VDI. 1991. *Measurement and evaluation of phytotoxic effects of ambient air pollutants (immissions) with lichens: Method of standardized lichen exposure*. Verein Deutscher Ingenieure. Duesseldorf, Alemania, 14 pp.
- VDI. 1999 *Biologische Messverfahren zur Ermittlung und Beurteilung der Wirkung von Luftverunreinigungen auf Pflanzen (Bioindikation)*. Grundlagen und Zielsetzung. Norma 3957, Hoja 1. Berlin: Beuth Verlag GmbH.
- VDI 3957. 2001. *Biologische Messverfahren zur Ermittlung und Beurteilung der Wirkung von Luftverunreinigungen auf Pflanzen (Bioindikation)*. *Verfahren der standardisierten Graskultur*. Borrador, Parte 2. Beuth Verlag GmbH, Alemania.
- VDI 3957. 2003. *Biological measuring techniques for the determination and evaluation of effects of air pollutants on plants (bioindikation)*. *Method of standardized grass exposure*. Parte 2. Beuth Verlag GmbH, Alemania.
- VDI 3957b. 2003. *Tradescantia*. Borrador. Blatt 16. Berlin: Beuth Verlag GmbH.
- Zeballos, G., M. Zaballa Romero, A. De la Rocha, M. Cuadros, S. Del Granado, R. Anze & M. Franken 2006. Estandarización de métodos de cultivo y exposición para estudios de biomonitorio. *ACTA NOVA* 3(2): 412-421