

UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE QUÍMICA
DEPARTAMENTO DE GEOQUÍMICA



Distribución de metales pesados entre quebrada Quintero y Altamira-Caracas empleando líquenes y bromeliáceas como biomonitores de contaminación atmosférica

Trabajo Especial de Grado
presentado ante la Ilustre
Universidad Central de
Venezuela por la Br. Erika
Carolina Arguello Fernández
para optar al Título de
Licenciado en Geoquímica.

Caracas, Febrero 2009

UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE QUÍMICA
DEPARTAMENTO DE GEOQUÍMICA



Distribución de metales pesados entre quebrada Quintero y Altamira-Caracas empleando líquenes y bromeliáceas como biomonitores de contaminación atmosférica

**Tutores. Profesora Raiza Fernández
Licenciado Jesús Hernández**

Realizado por Erika Arguello

Caracas, Febrero 2009



ACTA

APROBADO EN NOMBRE DE LA UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA por
los Miembros del Jurado Examinador.



Profesora Raiza Fernández
Directora



Licenciado Jesús Hernández
Director



Profesor José Chirinos
Jurado



Profesor Efraín Moreno
Jurado



Your complimentary
use period has ended.
Thank you for using
PDF Complete.

[Click Here to upgrade to
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

pesados entre quebrada Quintero y Altamira-Caracas
liáceas como biomonitores de contaminación atmosférica



*Para ti Dios, por ser mi guía, señor y mejor amigo!!!
Gracias por ser mi mayor motivación!!! A ustedes
padres y hermanos mis seres de toda la vida!!! y para
ti Anthony compañero especial!!!*



AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer en primer lugar a Dios por brindarme las condiciones y circunstancias idóneas que me permitieron terminar esta etapa tan importante de mi vida, infinitas gracias a ti por siempre. A mis padres y familia en general por estar presentes durante este transcurso, en especial a Yamiree y Enyimar por sus sugerencias y críticas constructivas, gracias hermanas. A ti Anthony por tu compañía, motivación y apoyo incondicional en todo momento que fueron necesarios para culminar esta etapa, gracias por ser quien eres y por estar presente. Agradezco a mi casa de estudio Universidad Central de Venezuela, en especial a la Facultad de Ciencias y al Instituto de Ciencias de la Tierra por la oportunidad ofrecida en mi formación académica y crecimiento como individuo. A mis formadores académicos la profesora Raiza, por el seguimiento, atención y recomendaciones en todo lugar y momento, gracias por su capacidad de haberme permitido sentir motivada y segura en cada situación durante este proceso, gracias por su buen ánimo, risas y su excelente manera de transmitir que para todo hay una solución. A Jesús por la gran disposición e incesante colaboración, gracias por las sugerencias, atenciones, ayuda, diligencia, paciencia, por el seguimiento y los conocimientos transmitidos que me permitieron definir y concretar este proyecto de investigación, muchas gracias Jesús. A Roschman por su colaboración, conocimientos y su buen humor en todo tiempo, gracias Roschman fue un apoyo muy valioso. A José Gregorio por su ayuda y disposición de tratar de transmitir toda su experiencia, gracias Goyo. Al profesor Efraín por sus consejos y disposición para llevar a cabo el cumplimiento de los objetivos del proyecto. Al profesor Armando por sus consejos, gracias profesor. A la Dra. Zully y al Centro de Química del IVIC por permitirme aprender de nuevas experiencias. Gracias a todos los que estuvieron presente durante etapa culminante.



RESUMEN

En esta investigación fueron empleados dos organismos biológicos diferentes, los líquenes *Pyxine sp.* y bromeliáceas *Tillandsia recurvata* como biomonitores de contaminación atmosférica. Estos organismos fueron tomados a lo largo de una transecta comprendida entre El Ávila (cercañas a quebrada Quintero con altura de aproximadamente 1200 m) hasta Plaza Altamira (890 m de altitud).

La metodología aplicada en la determinación de los elementos en ambos organismos consistió en la pulverización del biomaterial con nitrógeno líquido para posterior digestión con HNO₃ concentrado para *Pyxine sp.* y HCL (18%):HNO₃ (65%) para *Tillandsia recurvata*, en bloque digester a 110 °C por 8 horas, filtrando el líquido y enrasándolo a 25 mL, posteriormente analizándolo por ICP-OES. Permitiendo registrar las concentraciones de Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, V y Zn, excepto para Cd que estuvo por debajo del límite de detección del equipo. Por otra parte, fue realizada una comparación de dos métodos de disolución para *Tillandsias recurvata*, en la que el método con HNO₃ y por microondas digester resultó muy efectivo. Para clasificar, comparar y agrupar los resultados de los análisis químicos obtenidos, fueron utilizados los análisis multivariados. En el Análisis de Varianza de dos factores fueron encontradas diferencias estadísticamente significativas en la acumulación de los elementos entre líquenes *Pyxine sp.* y bromeliáceas *Tillandsia recurvata*. El Análisis de residuales mostró la variación de las concentraciones de los elementos en cada localidad a lo largo de la transecta. El Análisis de Componentes Principales y de Cluster mostraron que los líquenes *Pyxine sp.* son mas eficientes en la acumulación de los elementos Ni, Pb y V, mientras que las *Tillandsias recurvata* para los elementos Cr y Zn. Adicionalmente los resultados indicaron un incremento de la concentración de los elementos respecto a otros estudios.



INDICE

Contenido	Página
1. INTRODUCCIÓN	.1
2. OBJETIVOS	
2.1 Objetivo General	.3
2.2 Objetivos Específicos	..3
3. REVISION BIBLIOGRAFICA	
3.1 FUNDAMENTOS TEORICOS	
3.1.1 Contaminación del medio ambiente	4
3.1.2 Contaminación atmosférica	..4
3.1.3 Contaminantes	..4
3.1.4 Fuentes de contaminación	.5
3.1.5 Evaluación de la calidad del aire	..6
3.1.6 Equipos semiautomáticos de evaluación de calidad del aire	.6
3.1.7 Biomonitoreo	.8
3.1.8 Biomonitores	..1
3.1.9 Bioindicadores y Bioacumuladores	..11
3.1.10 Absorción de metales en líquenes y bromeliáceas	..11
3.1.11 Líquenes	..12
3.1.12 Líquenes como biomonitores	.13
3.1.13 Líquenes <i>Pyxine</i> para estudio de contaminación atmosférica	..13
3.1.14 Bromeliáceas (<i>Tillandsia sp.</i>)	.14
3.1.15 Bromeliáceas <i>Tillandsia recurvata</i>. como biomonitores	..15



3.1.16 Material certificado de referencia hojas de tomateí	16
3.2 ANTECEDENTES	
3.2.1 Antecedentes Internacionales de líquenes como biomonitores y bioindicadores	17
3.2.2 Antecedentes Nacionales de líquenes como biomonitores y bioindicadores	19
3.2.3 Antecedentes Internacionales de bromeliáceas (<i>Tillandsia Recurvata</i>) como biomonitores y bioindicadores	20
3.2.4 Nacionales de bromeliaceae (<i>Tillandsia sp.</i>) como biomonitores y bioindicadores	22
4. ÁREA DE ESTUDIO	
4.1 Ciudad de Caracas	23
4.1.1 Fuentes móviles	23
4.1.2 Fuentes fijas	23
4.2 Variables a considerar en el área de estudio	24
4.3 Definición de variables	24
4.4 Hipótesis	24
5. METODOLOGIA EXPERIMENTAL	
5.1 Muestreo	25
5.1.1 Criterio para elección de zonas de muestreo	25
5.2. Determinación de los especímenes colectados	25
5.3 Técnicas para la colección y preservación de líquenes	26
5.4 Técnicas para la colección y preservación de bromeliáceas	26



5.5. TRATAMIENTO FÍSICO Y QUÍMICO DE LAS MUESTRAS

5.5.1 Tratamiento de los líquenes (<i>Pyxine sp</i>)	í í	..í	27
5.5.2 Tratamiento de las bromeliáceas (<i>Tillandsia recurvata</i>)	í í .í í .í í .í	í í .í	30
5.5.3 Tratamiento de las bromeliáceas con microondas digestor	í íí í	..32
5.5.4 Tratamiento del material certificado de referencia (MCR)			
hojas de tomate	í í		.32
5.6 Tratamiento estadístico de los datos	í í í í í	..í í í í í í í í í í í í í í í í	...í .33
5.6.1 Análisis de la Varianza	í í í	..í í	33
5.6.2 Análisis de Perfiles	í í		.34
5.6.3 Análisis de Cluster	í í		.34
5.6.4 Análisis de Componentes Principales	í í		..34
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN			
6.1 Curvas de calibración	í í		.35
6.2 Material certificado de referencia (MCR) òhojas de tomate	í í .í í í í	í í .í í í í	..35
6.3 Determinación de la concentración de metales en líquenes y bromeliáceas....	í		.37
6.4 Comparaciones de dos métodos de digestión y de procedimientos			
analíticos diferentes aplicados en <i>Tillandsias recurvata</i>	í í í í í í í í í í í í í í í í		.39
6.5 Análisis de la Varianza por elemento	í í		...43
6.6 Análisis de Perfiles por elemento	í í	...í í í í í í í í	50
6.6.1 Análisis de perfiles para líquenes	í í í í í í í í í í	...í í í í í í	..50
6.6.2 Análisis de perfiles para <i>Tillandsias recurvata</i>	í í í í í	...í í í í í	..54
6.7 Concentraciones de los elementos a lo largo de la transecta			
en la zona de estudio	í í		.58
6.8 Comparación de la bioacumulación de metales entre líquenes y bromeliáceas	í		60



6.9	Análisis de Componentes Principales	63
6.10	Análisis de Cluster	64
6.11	Comparación de la concentración de los metales Cr, Cu, Ni, Pb, V y Zn entre otros estudios para los años 2006-2008 en la ciudad de Caracas	65
6.12	Comparación de la concentración de Pb en <i>T. Recurvata</i> con un estudio para el año 1976 en la ciudad de Caracas	67
7.	CONCLUSIONES	68
8.	RECOMENDACIONES	69
9.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	70

INDICE DE TABLAS

1.	Contaminantes en función de su naturaleza química	5
2.	Variables a considerar en el monitoreo durante la etapa de campo	21
3.	Concentración promedio de los elementos en líquenes <i>Pyxine sp.</i> en ($\mu\text{g/g}$)	38
4.	Concentración promedio de los elementos en <i>Tillandsias recurvata</i> en ($\mu\text{g/g}$)	38
5.	Concentración en ($\mu\text{g/g}$) de los metales pesados en muestras controles (Quijada, 2006)	39
6.	Método de digestión con microondas empleando ácido nítrico concentrado	39
7.	Método de digestión con bloque digestor empleando ácido clorhídrico (18%) y ácido nítrico concentrado en relación 3:1	40
8.	Comparaciones de dos métodos de digestión (MD = Microondas digestor. BD = Bloque digestor)	40
9.	Resultados de Análisis de la varianza para cromo	44
10.	Resultados de Análisis de la varianza para cobre	45



11. Resultados de Análisis de la varianza para níquel	46
12. Resultados de Análisis de la varianza para plomo	47
13. Resultados de Análisis de la varianza para vanadio	48
14. Resultados de Análisis de la varianza para zinc	49
15. Comparación del <i>Pyxine sp.</i> para el año 2006 en la ciudad de Caracas (según Quijada, 2006) respecto a la de esta investigación	65
16. Comparación de la concentración de Pb en <i>Tillandsia recurvata</i> con un estudio para el año 1976 en la ciudad de Caracas	67
17. Longitudes de ondas del ICP-OES	80
18. Características de las muestras colectadas	81
19. Concentración de los elementos en líquenes en ($\mu\text{g/g}$)	87
20. Concentración promedio de los elementos en líquenes en ($\mu\text{g/mL}$)	87
21. Concentración de los elementos en bromeliáceas en ($\mu\text{g/g}$)	88
22. Concentración de los elementos en bromeliáceas en ($\mu\text{g/mL}$)	89
23. Valores observados en líquenes (análisis de perfiles)	94
24. Valores esperados en líquenes (análisis de perfiles)	94
25. Residuales estandarizados en líquenes (análisis de perfiles)	94
26. Valores observados en bromeliáceas (análisis de perfiles)	95
27. Valores esperados en bromeliáceas (análisis de perfiles)	95
28. Residuales estandarizados en bromeliáceas (análisis de perfiles)	95
29. Pruebas de Duncan para Cr (grupos homogéneos)	105
30. Pruebas de Duncan para Cu (grupos homogéneos)	106
31. Pruebas de Duncan para Pb (grupos homogéneos)	107
32. Pruebas de Duncan para V (grupos homogéneos)	108



33. Pruebas de Duncan para Zn (grupos homogéneos)	í í í í í í í í í í í í í í í	..109
34. Pruebas de Duncan para Cr	í í í í í í í í í í ..í í í í í í í í í í	.110
35. Pruebas de Duncan para Cu	í í í í í í í í í í ..í í í í í í í í í í	.111
36. Pruebas de Duncan para Pb	í í í í í í í í í í ..í í í í í í í í í í	.112
37. Pruebas de Duncan para V	í í í í í í í í í í ..í í í í í í í í í ..í	.113
38. Pruebas de Duncan para Zn	í í í í í í í í í í ..í í í í í í í í í í	.114

INDICE DE FIGURAS

1. Muestreador de alto volumen	í í í í í í í í í í í í í í í í í í í í	. 7
2. Mecanismo de adsorción de metales	í í í í í í í í í í í í í í í í í í í	..11
3. Tipos morfológicos de líquenes	í í í í í í í í í í í í í í í í í í í í	.í .12
4. Liqueen <i>Pyxine sp.</i>	í í í í í í í í í í í ..í í í í í í í í í í í í í	.14
5. Bromeliáceas <i>Tillandsia recurvata</i>	í í í í í í í í í í í í í í í í í í í í16
6. Esquema de recolección de muestras	í í í í í í í í í í í í í í í í í í í	..í ..25
7. Separación del líquen del sustrato	í í í í í í í í í í í í í í í í í í í í	.í í í 27
8. Extracción de restos de materiales en líquenes	í í í í í í í í í í í í í í í í í í í	28
9. Limpieza de los líquenes	í í í í í í í í í í í í í í í í í í í í	.28
10. Pulverización del líquen con nitrógeno líquido	í í í í í í í í í í í í í í í í í í í	29
11. Bloque digestor Kjeldahl	í í í í í í í í í í í í í í í í í í í í	29
12. Filtrado de disoluciones de líquenes	í í í í í í í í í í í í í í í í í í í í	..30
13. Extracción de residuos en bromeliáceas...	í í í í í í í í í í í í í í í í í í í í	30
14. Filtrado de disoluciones de bromeliáceas	í í í í í í í í í í í í í í í í í í í í	..31
15. Microondas CEM (IVIC)	í í í í í í í í í í í í í í í í í í í í	...í 32
16. Prueba t-student para cromo	í í í í í í í í í í í í í í í í í í í í	.41



17. Prueba t-student para cobreí	í í í í í í í í í í í í í í í í í í	.í í í	.41
18. Prueba t-student para níquelí	í í í í í í í í í í í í í í í í í í		.41
19. Prueba t-student para plomoí	í í í í í í í í í í í í í í í í í í		.41
20. Prueba t-student para vanadioí	í í í í í í í	.í í í í í í í í í í í	.42
21. Prueba t-student para zincí	í í í í í í í í í í í í í í í í í í		.42
22. Gráfico de Errores Estándar para cromoí	í í í í	.í í í í í í í í í í	...44
23. Gráfico de Errores Estándar para cobreí	í í í í í í í í í í í í í í	.í	.45
24. Gráfico de Errores Estándar para níquelí	.í í í í í í í í í í í	.í	...46
25. Gráfico de Errores Estándar para plomo..	í í í í í í í í	.í í í í í í í	..47
26. Gráfico de Errores Estándar para vanadioí	í	.í í í í í í í í í í í	.í 48
27. Gráfico de Errores Estándar para zincí	í í	.í í í í í í í í í í í í	...49
Análisis de perfiles para líquenes <i>Pyxine sp</i>			
28. Gráfico de Análisis de perfil para cromoí	í í í í í í í í í í í í í í í		..50
29. Gráfico de Análisis de perfil para cobreí	í í í í í í í í í í í í í í í	.í	..51
30. Gráfico de Análisis de perfil para níquelí	í í í í í í í í í í í í í í í		..51
31. Gráfico de Análisis de perfil para plomoí	í í ...í í í í í í í í í í í	.í	..52
32. Gráfico de Análisis de perfil para vanadio...	í ...í í í í í í í í í í í í		.53
33. Gráfico de Análisis de perfil para zincí	.í í í í í í í í í í í í í í í		.53
Análisis de perfiles para <i>Tillandsias recurvata</i>			
34. Gráfico de Análisis de perfil para cromoí	í í í í í í í í í í í í í í í		..54
35. Gráfico de Análisis de perfil para cobreí	í í í í í í í í í í í í í í í	...	55
36. Gráfico de Análisis de perfil para níquelí	í í í í í í í í í í í í í í í		..55
37. Gráfico de Análisis de perfil para plomoí	í í í í í í í í í í í í í í í		..56
38. Gráfico de Análisis de perfil para vanadioí	í í í í í í í í í í í í	.í í	..57



39. Gráfico de Análisis de perfil para zinc	í í í í í í í í í í í í í í í í	..57
40. Grafico de Análisis de Componentes Principales	í í í í í í í í ..í í í	...63
41. Gráfico de Análisis de Componentes Principales	í í í í í í í í í í í í	.66
42. Gráfico de Análisis de Cluster	í í í í í í í í í í í í í í í í í í	...64
43. Gráfico de comparación de líquenes <i>Pyxine sp.</i> para el año 2006 y 2008	í í	..66
44. Espectrofotómetro ICP-OES (ICT)	í í í í í í í í í í í í í í í í í í	..78
45. Estación 1 y 2 (Cercanía a quebrada Quintero del Ávila-Caracas)	í í í í í	..82
46. Estación 3 (cercanía a Cota mil)	í í í í í í í í í í í í í í í í í í	...82
47. Estación 4 (transversal 9 de segunda Av. de Altamira)	í í í í í í í í í í	..83
48. Estación 5 y 6 (transversal 8 y 7 de Altamira)	í í í í í í í í í í í í í í	.83
49. Estación 7 (transversal 6 de Altamira)	í í í í í í í í í í í í í í í í	.í 84
50. Estación 8 y 9 (transversal 3 de Av. San Bosco de Altamira)	í í í í í í í í	84
51. Estación 10 (Plaza Altamira)	í í í í í í í í í í .í í í í í í í í í í í	85
52. Transecta de la zona de estudio vista desde frente (<i>Imagen Google Earth</i>)	í í	...86
53. Transecta de la zona de estudio (vista diagonal 1)	í í í í í í í í í í í í	.í ..86
54. Transecta de la zona de estudio (vista diagonal 2)	í í í í í í í í í .í í í	..86
Gráficos de curvas de calibración para líquenes		
55. Curva de calibración del cromo	í í í í í í í í í í í í í í í í í í	.í 90
56. Curva de calibración del cobre.	í í	90
57. Curva de calibración del níquel.	í í	90
58. Curva de calibración del plomo.	í í	91
59. Curva de calibración del vanadio.	í í	91
60. Curva de calibración del zinc	.í í	91
Gráficos de curvas de calibración para bromeliáceas		



61. Curva de calibración del cromoí	92
62. Curva de calibración del cobre.	92
63. Curva de calibración del níquel.	92
64. Curva de calibración del plomo.	93
65. Curva de calibración del vanadio.	93
66. Curva de calibración del zincí	93
67. Gráfico de prueba a priori para cromoí	96
68. Gráfico de prueba a priori para cobre.	96
69. Gráfico de prueba a priori para níquel.	97
70. Gráfico de prueba a priori para plomo.	97
71. Gráfico de prueba a priori para vanadio.	98
72. Gráfico de prueba a priori para zincí	98
73. Gráfico de diferencias estadísticas entre líquenes y bromeliáceas para Crí	99
74. Gráfico de diferencias estadísticas entre líquenes y bromeliáceas para Cuí	99
75. Gráfico de diferencias estadísticas entre líquenes y bromeliáceas para Nií	100
76. Gráfico de diferencias estadísticas entre líquenes y bromeliáceas para Pbí	100
77. Gráfico de diferencias estadísticas entre líquenes y bromeliáceas para Ví	101
78. Gráfico de diferencias estadísticas entre líquenes y bromeliáceas para Zní	101
79. Gráfico de diferencias estadísticas entre las localidades para Crí	102
80. Gráfico de diferencias estadísticas entre las localidades para Cuí	102
81. Gráfico de diferencias estadísticas entre las localidades para Nií	103
82. Gráfico de diferencias estadísticas entre las localidades para Pbí	103
83. Gráfico de diferencias estadísticas entre las localidades para V.	104
84. Gráfico de diferencias estadísticas entre las localidades para Zní	104



INDICE DE APENDICES

1. Tratamiento de los líquenes (*Pyxine sp.*)í í í í í í í í í í í í í í í í í í í ...í75
2. Tratamiento de las bromeliáceas (*Tillandsia recurvata*)í í í í í í í í ..í í í 76
3. Fundamentos de Espectroscopia de Emisión Óptica con Plasma Acoplado
Inductivamente (ICP-OES)í ...í .77
4. Características de las muestras colectadasí í í í í í í í í í í í í í í í í í í ...81
5. Ubicación de las estaciones en la zona de estudioí í í í í í í í í í í í í í í í 82
6. Concentraciones de los metales pesados en ($\mu\text{g/mL}$) y ($\mu\text{g/g}$) en líquenes y
bromeliáceas...í í í í í ...í ..87
7. Curvas de calibración para cada elementoí í í í í í í í í í í í í í í í í í í ...í í í í 90
8. Análisis de residualesí .í .94
9. Pruebas a priori (para aplicación de ANOVAS)í í í í í í í í í í í í í í í í .96
10. Diferencias estadísticas entre líquenes y bromeliáceas (ANOVAS)í í í í í ...99
11. Diferencias estadísticas entre localidades (ANOVA)í í í í í í í í í í í í í í í .102
12. Pruebas de Duncan (grupos homogéneos)í í í í í í í ...í í í í í í í ...í 105
13. Pruebas de Duncan í í í í í ..í ...í .110



1. INTRODUCCIÓN

El rápido crecimiento de la población, el desarrollo industrial y del sector público y la acelerada urbanización en la ciudad de Caracas, conduce a una creciente preocupación por la contaminación atmosférica generada y su efecto sobre el ecosistema y el hombre.

Pueden distinguirse varias causas bien definidas de la contaminación del aire, entre ellas: las actividades domésticas e industriales. Las domésticas incluyen los productos de la combustión de sustancias empleadas en los sistemas de calefacción y el humo proveniente de la quema de basura. Las actividades industriales incluyen el aporte de los desechos de industrias químicas y refinerías de petróleo, adicionalmente es importante considerar el efecto de las emisiones de gases por los vehículos automotores. Estas causas permiten establecer dos fuentes de contaminación principalmente; fuentes fijas (fábricas, industrias, plantas termoeléctricas y viviendas) o fuentes móviles (vehículos, aviones, trenes y barcos) que producen múltiples efectos sobre el medio ambiente y el hombre.

En Venezuela, la contaminación por metales pesados, gases y partículas, debe tenerse en consideración dentro del plan general de mejoras en la calidad del aire. Las redes de control y evaluación de opciones y alternativas son un primer paso hacia la implementación de planes de acción, estrategias y políticas ambientales, destinados a trazar las políticas de prevención y control de la contaminación. El Ministerio del Poder Popular para el Ambiente junto con PDVSA realizan muestreos de calidad del aire y análisis de partículas totales suspendidas (PTS), material particulado iguales o menores a 10 micras (PM10), dióxido de azufre, monóxido de carbono, metales pesados como el plomo, y entre otros en las diferentes estaciones de captación de muestras (*MARN-PDVSA, 2005*). Sin embargo; los equipos semiautomáticos de evaluación de calidad del aire, en especial los PM10 usados en la actualidad limitan la determinación de contaminantes con instrumentales analíticos tales como



ICP-OES (Espectrómetro de Emisión Óptica con Plasma Acoplado Inductivamente), debido a la poca cantidad de muestra que pueden acumular. Es por ello, que es necesario aplicar un seguimiento a través de materiales biológicos conocidos como biomonitores; que permitan evaluar la calidad del aire.

En países de Suramérica ha sido estudiada la contaminación atmosférica por metales y en especial por metales pesados, empleando el método de biomonitoreo a través de una especie epífita. Los líquenes y bromeliáceas son biomonitores eficientes de la contaminación del aire debido a que obtienen sus nutrientes directamente de la atmósfera. Son considerados como potenciales indicadores y biomonitores de elementos aerotransportados. Pudiéndose determinar la composición elemental en los tejidos (líquenes y bromeliáceas) y sus respuestas fisiológicas ante la acumulación de contaminantes, como metales pesados (Figueiredo, *et al.* 2001).

La presencia de líquenes y bromeliáceas en la ciudad de Caracas, permite emplearlos como biomonitores de metales pesados. Sin embargo, son escasos los estudios realizados en la ciudad que han aprovechado la capacidad de los líquenes como biomonitores de la contaminación por metales pesados Pb, Cu, Zn, Cd, Ni, V Cr y de hidrocarburos policíclicos (Quijada 2006, Réquiz 2006 y Díaz 2008).

Por lo tanto, la contaminación del aire en la ciudad de Caracas-Venezuela, es un problema ambiental, que requiere de mucha atención en estos tiempos, debido al crecimiento del parque automotor, al poco mantenimiento de los vehículos particulares y de transporte público. Esto conlleva a impulsar estudios para la determinación de los contaminantes y de las fuentes asociadas a las emisiones de los mismos.



2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo General

Evaluar la distribución de metales pesados entre Quebrada Pajarito y Altamira-Caracas empleando líquenes y bromeliáceas como biomonitores de la contaminación atmosférica.

2.2 Objetivos Específicos

2.2.1 Determinar la concentración de los metales pesados Pb, Cu, Zn, Cd, Ni, V, Cr en líquenes y bromeliáceas en el área de estudio para realizar un seguimiento de la calidad del aire.

2.2.3 Evaluar la concentración de los metales pesados Pb, Cu, Zn, Cd, Ni, V, Cr en líquenes y bromeliáceas a lo largo de una transecta para estudiar la dinámica de estos elementos en la zona.

2.2.3 Comparar la concentración de metales pesados entre líquenes y bromeliáceas para establecer la eficiencia de bioacumulación de ellos en estos organismos.

2.2.4 Comparar los resultados obtenidos para los metales pesados en líquenes y bromeliáceas con estudios previos en la ciudad de Caracas, para observar la variabilidad de sus concentraciones en el tiempo.



3.- REVISION BIBLIOGRÁFICA

En esta sección son presentados los fundamentos teóricos y los antecedentes bibliográficos que sustentan el presente proyecto. Dentro de los fundamentos son tratados aspectos como la contaminación atmosférica y sus fuentes, biomonitores, los especímenes líquenes y bromeliáceas; así como algunas características del área de estudio. Los antecedentes están agrupados en antecedentes internacionales y nacionales, correspondiendo a los estudios realizados empleando líquenes y bromelias como biomonitores.

3.1.- FUNDAMENTOS TEÓRICOS

3.1.1.- Contaminación del medio ambiente. Presencia en el ambiente de cualquier agente (físico, químico o biológico) o bien de una combinación de varios agentes en lugares, formas y concentraciones tales que sean o puedan ser nocivos para la salud, la seguridad o para el bienestar de la población, o que puedan ser perjudiciales para la vida vegetal o animal. La contaminación ambiental es también la incorporación a los cuerpos receptores de sustancias sólidas, líquidas o gaseosas, o mezclas de ellas, siempre que alteren desfavorablemente las condiciones naturales del mismo.

3.1.2.- Contaminación atmosférica. Es la impurificación de la atmósfera por inyección y permanencia temporal en ella de materias gaseosas, líquidas sólidas o radiaciones ajenas a su composición natural o en proporción superior ella. (Orozco 2004).

3.1.3.- Contaminantes

La emisión de contaminantes a la atmósfera puede ocasionar transformaciones químicas que alteran su naturaleza. Estos contaminantes pueden clasificarse distinguen en dos tipos: primarios y secundarios.



Los contaminantes primarios; son aquellos agentes que se emiten de forma directa a la atmósfera. Los contaminantes secundarios son aquellos agentes que no se emiten directamente a la atmósfera, sino que son formadas en ella por interacciones entre contaminantes primarios, componentes naturales de la atmósfera, radiaciones incidentes en la misma y sus componentes naturales. Los contaminantes más destacados se pueden apreciar en la siguiente tabla:

Tabla 1. Contaminantes en función de su naturaleza química (Vanloon, *et al*; 2000).

Contaminantes en función de su naturaleza química	
Primarios	Secundarios
Monóxido de carbono (CO)	Ozono
Óxidos de nitrógeno (NO _x , específicamente NO y NO ₂)	Oxidantes fotoquímicos
Partículas	Sulfatos
Óxidos de azufre (SO _x , especialmente SO ₂)	Nitratos
Hidrocarburos o compuestos orgánicos	Metales pesados
Dióxido de carbono (CO ₂)	Amoniaco (NH ₃)
Monóxido de dinitrógeno (N ₂ O)	Sulfuro de hidrógeno (H ₂ S)

3.1.4.- Fuentes de contaminación

Las fuentes de contaminación pueden tener un doble origen:

- **Fuentes de contaminación natural:** pueden ser erupciones volcánicas y fuegos. Las sustancias consideradas contaminantes de la atmósfera, tienen en buena parte un origen natural, siendo estas fuentes las responsables de las sustancias existentes en una atmósfera no contaminada antropogénicamente.
- **Fuentes de contaminación antropogénica:** las fuentes de emisión de contaminantes en la troposfera son clasificadas como:
 - **Fuentes fijas:** se localizan en un punto determinado; subdividiéndose en focos de combustión estacionaria, diferenciando los industriales, vertederos, domésticos y otros tipos de focos.



- **Fuentes móviles:** referidos a los diversos tipos de vehículos de motor utilizados en el transporte.

3.1.5.- Evaluación de la calidad del aire

La evaluación de la calidad del aire es el resultado de los procedimientos de muestreo y análisis de los contaminantes atmosféricos. Los contaminantes atmosféricos importantes que se monitorean comúnmente son: SO₂, CO, PTS (partículas totales suspendidas), PM₁₀ (material particulado igual o menor a 10 micras), ozono y óxidos de nitrógeno (NO_x), hidrocarburos sin metano (HSM) y algunos metales. Estos contaminantes son conocidos como contaminantes criterio, para los cuales existen normas de calidad del aire. La finalidad de las normas es proteger la salud de los seres vivos.

Para la evaluación de la contaminación atmosférica en áreas metropolitanas, se distinguen las siguientes zonas: tráfico urbano, industrias, residencia urbana, orillas de carretera y zona rural como referencia.

3.1.6.- Equipos semiautomáticos de evaluación de la calidad del aire

La Dirección General Sectorial de Calidad Ambiental del Ministerio del Poder Popular para el Ambiente, a través de la Dirección de Calidad del Aire, opera la Red Nacional de Evaluación de Calidad del Aire desde 1981. Esta red está constituida por 11 estaciones fijas: cuatro en Caracas (El Silencio, El Cementerio, Los Ruices y Bello Campo); dos en el Estado Anzoátegui (Barcelona y Puerto La Cruz); dos en Valencia (INSALUD y Colegio Lourdes); dos en San Cristóbal (MSDS y MINFRA). Para su ubicación se consideró: tráfico automotor, seguridad y protección de equipos, dirección predominante del viento, sectores de población expuesta y facilidad de acceso al lugar.

En las estaciones de calidad de aire en Caracas los contaminantes medidos son PTS (partículas totales suspendidas), Pb, NO₂ y SO₂. En las estaciones del interior del país se mide



PTS y Pb. En julio de 1995 se inició un estudio para establecer un diagnóstico de la situación de la contaminación atmosférica generada por el parque automotor a nivel nacional. Este estudio está siendo coordinado por el Ministerio del Poder Popular para el Ambiente con la participación de los Ministerios del Poder Popular para la Energía y Petróleo, para la Infraestructura, Asistencia Social; Petróleos de Venezuela, S.A. y la Fundación Fondo Nacional del Transporte Urbano.

El diseño de una red (ver Fig. 1) depende altamente de los objetivos del monitoreo. Las mediciones deben ser representativas para el área de la investigación. Los objetivos de la evaluación pueden ser:

1. Identificación de fuentes contaminantes.
2. Observación de la tendencia de la contaminación a largo plazo.
3. Identificación de sitios representativos de monitoreo.
4. Investigación del impacto de la contaminación en la salud de la población.
5. Supervisión del cumplimiento de normas de calidad del aire.



Fig. 1 Muestreador de alto volumen

Tanto la evaluación a tiempo real como la evaluación de valores pico se pueden lograr únicamente con analizadores continuos, mientras que métodos integrales como los colectores pasivos dan buenos resultados para el control de áreas a largo plazo.



3.1.7.- Biomonitorio

Es la utilización de biomonitores definidos en el tiempo con la finalidad de evaluar la calidad del aire en un sitio determinado, para un contaminante específico o un grupo de contaminantes presentes en dicha zona.

La elección de biomonitores como herramientas para analizar contaminantes atmosféricos como metales pesados, se basa en que estos organismos pueden concentrar compuestos tóxicos dentro de sus tejidos y en ellos se pueden detectar las concentraciones de los mismos. Son muy sensibles, independientes de los efectos de matriz y adecuados para un amplio intervalo de concentraciones. Su empleo es de bajo costo, posibilitando la aplicación a grandes áreas por su distribución y permanencia.

El biomonitorio se puede realizar de dos formas: pasivo o activo. El biomonitorio pasivo es el que utiliza especies que se encuentran presentes en los ecosistemas a evaluar. Es generalmente más rápido, simple y puede permitir la evaluación de la exposición a largo plazo de la contaminación. En el biomonitorio activo son especies que se introducen (transplantes) y/o son utilizadas en sistemas de exposición controlados por el hombre. Representa un seguimiento de la contaminación concluido en un período de tiempo corto.

Las técnicas de biomonitorio, pueden proporcionar una manera flexible de identificar la presencia de contaminantes en diferentes niveles de contaminación. Aplicando herramientas estadísticas adecuadas, como por ejemplo análisis multivariados, es posible obtener información sobre tipos de fuentes de emisión y su localización, así como sobre transporte de corta, media y larga distancia de contaminantes atmosféricos. Algunas ventajas y aspectos importantes del biomonitorio de acuerdo a Villanueva, *et al.* (2001) son:

1. La concentración de contaminantes en el biomonitor es, frecuentemente, mayor cuando aumenta en el sistema que es monitoreado. Esto puede facilitar la exactitud del



muestreo y análisis, cuando existen dificultades por otros métodos debido a los muy bajos niveles de contaminantes traza (concentraciones en ppb) presentes en la atmósfera.

2. Tolerancia a los agentes contaminantes.
3. Abundancia en el área de interés, independientemente de las condiciones meteorológicas.
5. Respuesta a las concentraciones que se presumen serán evaluadas.
6. Captación apreciable del elemento en la atmósfera.
7. Diseño sencillo del muestreo y preparación de la muestra.
8. Acumulación del elemento a niveles de concentración accesibles por técnicas analíticas rutinarias, tomando en consideración las ventajas y desventajas de las mismas.

El biomonitorio considera aspectos como:

1. Uso de la superficie de los organismos como receptores de contaminantes y su capacidad para acumularlos en sus tejidos. Esencialmente la planta es un muestreador y debe ser colectada y analizada en el laboratorio por medio de métodos clásicos.

2. Estimación de los efectos de los contaminantes en el metabolismo o en la información genética de los organismos.

3. Estimación de los efectos de los contaminantes en la apariencia de los organismos. La estimación puede llevarse a cabo en el campo y no se necesitan análisis de laboratorio.

4. Distribución y análisis de organismos específicos como indicadores de calidad del aire.

3.1.8.- Biomonitores

Son organismos, partes de organismos o una comunidad de ellos que permiten cuantificar la calidad atmosférica mediante comparación de rangos de concentraciones. Su comportamiento muestra una relación lineal en términos dosis-respuesta ya sea con la



concentración de un contaminante en el aire, con la combinación de ellos y/o con el tiempo de exposición (Pignata, 2002). La respuesta en forma de una reacción específica o la acumulación de ciertos contaminantes, debería ser fácilmente medible, con una metodología de bajo costo y debe diferenciarse de reacciones sobre factores naturales.

De acuerdo a Figueiredo, *et al*; (2002) Muchos organismos pueden usarse para evaluar la contaminación atmosférica, por cumplir con muchos de los requerimientos ya mencionados y porque reflejan cambios complejos del medio ambiente. Entre ellos, organismos herbáceos, de las que varias especies, principalmente epífitas, son indicadoras de acumulación de metales pesados. Varios órganos de plantas contienen diferentes cantidades de elementos. Las concentraciones más altas de elementos trazas pueden ser detectadas en raíces y hojas, mientras que los tallos y las frutas (semillas) contienen las más bajas. La composición química en las hojas indica contaminación sólida (por subsecuente asimilación de contaminantes biodisponibles).

De acuerdo a Garty, *et al*; (2003) la sensibilidad y tolerancia de la especie de la planta es fundamental en su elección. Los biomonitores acumulativos tienden a ser tolerantes a los agentes contaminantes bajo investigación, mientras que las especies sensibles indican agentes contaminantes, mostrando respuestas reconocibles. La selección de una especie dependerá de las técnicas empleadas y de los objetivos del programa de monitoreo. Así, para un estudio que determina si la contaminación atmosférica está teniendo o no impacto, pueden ser útiles las especies sensibles. Las especies más sensibles con la distribución más amplia son los biomonitores preferidos para asociarse con una fuente de contaminación específica.

Según Carreras, *et al*; (2002) la selección de la especie también depende de si se sospecha que la contaminación proviene de un grupo de contaminantes o si es uno solo el agente responsable. En la deposición del metal monitoreado, la especie utilizada y su eficacia



dependerá de la extensión de los elementos bajo vigilancia; ciertas especies pueden ser mejores bioacumuladores de un elemento determinado que otras.

Los bioindicadores deben mostrar una respuesta diferente y fácilmente medible a un agente contaminante. La respuesta se debe poder medir con exactitud y precisión. Otros factores que afectan la selección de la especie de la planta incluyen su disponibilidad y facilidad de muestreo.

3.1.9.- Bioindicadores y bioacumuladores

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 contaminantes (Pignata, 2003).

3.1.10 Adsorción de metales en líquenes y bromeliáceas

En tiempo lluvioso puede ser favorecida la acumulación de metales disueltos (Adamo *et al.*, 2003), debido al hecho de que la lluvia disuelve y transporta las partículas y también facilita la absorción de metales. Otros afirman que los períodos de fuertes lluvias pueden lixiviar los metales de los líquenes en lugar de ayudar a su acumulación (Branquinho, 2001). La adsorción de los metales también puede estar influenciada por variaciones geográficas, cambios climáticos, polvos provenientes de los suelos, fuentes de contaminación locales y Transporte de contaminantes a través de largas distancias (Szczepaniak, *et al.*; 2003).

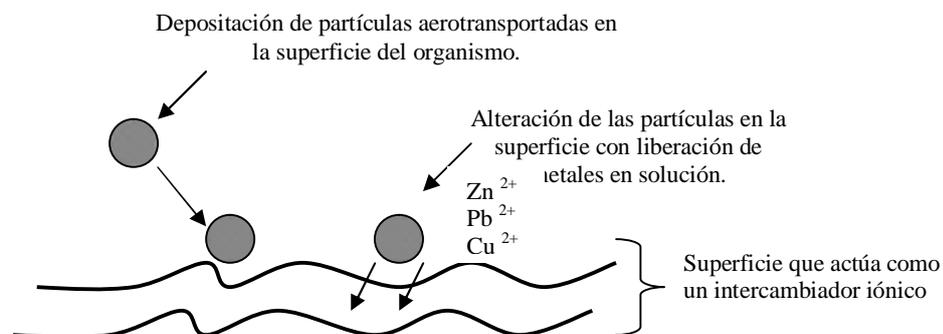


Fig. 2. Mecanismo de adsorción de metales (Williamson *et al.*, 2004)



3.1.11.- Líquenes

Los líquenes son una asociación simbiótica de un hongo y un alga. Las especies líquénicas presentan diferentes tipos morfológicos: crustáceos, foliáceos y fruticosos.

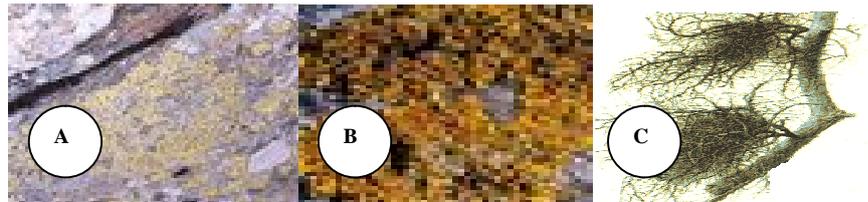


Fig. 3. Tipos morfológicos de líquenes: A. Crustáceos. B. Foliáceos. C. Fruticosos

<http://recursos.cnice.mec.es/biosfera>

Los líquenes pueden reproducirse por fragmentación de su talo o mediante estructuras vegetativas especializadas conocidas como soredios (células algales rodeadas de hifas fúngicas) o isidios (pequeñas excrecencias del talo que contiene tanto hifas como células de fotobionte). Los líquenes no se reproducen sexualmente, aún cuando el componente fúngico por su parte si puede desarrollar esporas de origen sexual (ascosporas).

Los líquenes producen como metabolitos secundarios, sustancias conocidas generalmente como ácidos liquénicos, los cuales han sido de alto valor para su caracterización taxonómica.

Una de las tantas utilidades que le ha conseguido el hombre a los líquenes es quizás su uso como fuente de colorantes. La primera tintura de tornasol usada en química para la determinación de pH fue obtenida a partir de los líquenes. Algunos líquenes se utilizan en cosmética y perfumería, suministrando aceites esenciales. En los líquenes se han encontrado propiedades antibióticas en ciertas sustancias líquénicas. En el campo de la Farmacia han servido para preparar pomadas que evitan infecciones en heridas superficiales y como cicatrizantes en quemaduras. Por otra parte, investigaciones sobre las propiedades medicinales



de los líquenes han demostrado que cerca del 50% de las sustancias liquénicas tienen efecto antibiótico (Hale, 1967).

3.1.12.- Líquenes como biomonitores

Son uno de los biomonitores más importante de contaminación atmosférica; ello se debe entre otras razones a:

1) Tienen un talo de crecimiento lento, el cual carece de cutícula por lo que están expuestos al efecto de todo tipo de sustancias líquidas y gaseosas.

2) Son estenoicos, es decir, de requerimientos ecológicos estrechos y precisos, y son altamente sensibles a los cambios en el ambiente.

3) Pueden concentrar y acumular distintos compuestos, entre ellos contaminantes de la atmósfera, en distintos grados en distintas especies, a nivel celular y extracelular. (Chaparro & Aguirre 2002). En zonas muy contaminadas se observa un descenso significativo de la diversidad y biomasa liquénica. Esto se debe a que los talos viejos comienzan a degradarse y los talos jóvenes no pueden crecer (Vareschi y Moreno, 1973).

El avance de las áreas urbanas y de la contaminación que ello implica, ha convertido dichas áreas en verdadero òdesiertos de líquenesö. Podría ocurrir en breve lapso, la extinción de algunas especies liquénicas.

3.1.13.- Líquenes del genero *Pyxine* para estudio de contaminación atmosférica

El líquen del género *Pyxine* sp. presenta talo foliáceo pero generalmente muy adherido al sustrato; lóbulos angostos e irregulares; talo de color grisáceo claro, cara ventral lisa, pseudocifelas presentes o ausentes; rizinas ausentes o cortas y esparcidas; de amplia distribución. Muy común sobre troncos de árboles. Morfológicamente parecida a *Physcia* sp. (Moreno, *et al*; 2007). La superficie del líquen *Pyxine* está constantemente abierta al paso de líquidos y gases durante toda su vida, que es larga. Existe una relación fisiológica íntima entre



los talos, el ambiente y los líquenes, siendo nutricional e independientes del sustrato. Por lo que son capaces de concentrar y acumular distintos compuestos (entre ellos los contaminantes atmosféricos como metales pesados) en su talo.



Fig. 4 Líquen Pyxine

3.1.14.- Bromeliáceas (*Tillandsia sp.*)

Las bromeliáceas son una familia grande de plantas con flores. Presentan 50 géneros con 1500 especies, presentándose en la zona tropical y subtropical de América. Es una planta que se nutre por las hojas. Sus requerimientos de agua y nutrientes son mínimos. Todas sus necesidades las obtienen literalmente del aire. Las hojas, en algunos casos suculentas o semisuculentas están cubiertas por tricomas, que les permiten absorber agua y nutrientes. Las raíces no tienen capacidad de absorción, sólo les sirven para fijarse a un soporte. Entre todos los géneros, *Tillandsia sp.* tiene el mayor número de especies y la mayor extensión geográfica. Puede ser terrestres o epífitas; una misma especie puede variar respecto a esto. Algunas *Tillandsia sp.* del desierto, las cuales viven en arenales o rocas, resisten la escasez de agua como lo hacen ciertos líquenes y se mantienen exclusiva o principalmente con la poca agua del rocío que sus hojas reciben (Vivas, *et al*; 2007).



La familia bromeliácea está conformada por 3086 especies agrupadas en 56 géneros, distribuidas ampliamente en el trópico y subtrópico americano. Actualmente, en Venezuela se reportan 374 especies, incluidas en 25 géneros, estando presentes el género *Tillandsia sp* (Vivas, *et al*; 2007).

3.1.15.- Bromeliáceas (*Tillandsia recurvata*) como biomonitores

La *Tillandsia recurvata* es una especie perenne que se consigue en las ramas de los árboles y arbustos, paredes y cables eléctricos. Es de morfología arrosetada (similar a la rosa) y de unos 10 cm. de diámetro. Por lo general, se consiguen muchas plantas juntas en el mismo árbol (Vivas 2007).

La *Tillandsia recurvata* y su empleo como biomonitor de la contaminación atmosférica, se conoce extensamente a nivel mundial, destacándose algunas publicaciones que examinaron su comportamiento ante la influencia de emisiones. Por ejemplo, *Tillandsia recurvata* ha sido descrita en un estudio realizado en Medellín, Colombia como buena acumuladora para metales pesados (Schrimpff 1984). Otras investigaciones muestran que la misma especie, es sensible a las modificaciones ambientales de las diversas áreas de la zona urbana, empleando parámetros tales como síntomas externos (coloración, debilidad del tejido, y cambios en la epidermis de la planta), modificaciones en el tejido de la planta y análisis de azufre y metales pesados (Villanueva 2001).



Fig. 5. Tillandsia recurvata
<http://www.floridata.com/>

3.1.16.- Material certificado de referencia hojas de tomate

La exactitud de los procedimientos a llevar a cabo en la presente investigación puede comprobarse a través del material certificado de referencia hojas de tomate (Instituto Nacional de Estándares y Tecnología). Por ejemplo, es una buena alternativa emplear este material, en el cual se encuentra certificado un contenido en ppm de Cr, Cu, Cd, Ni, V, Zn, que son los elementos a determinar en el presente estudio; así como por tratarse de un material que se asemeja a la matriz de los materiales biológicos de estudio líquenes y bromeliáceas (Riu, *et al*; 2000).



4.2.- ANTECEDENTES

3.2.1.- Antecedentes internacionales de líquenes como biomonitores y bioindicadores

En el siglo XIX, los líquenes fueron reconocidos por primera vez como posibles bioindicadores de la contaminación y años más tarde fue identificado el dióxido de azufre como el factor principal que influye en el crecimiento, distribución y salud de los líquenes. Por eso, emplean los líquenes como biomonitores debido a que concentran una variedad de contaminantes en sus tejidos a los niveles superiores de concentración en el medio ambiente (Nash, 1996).

En países como Italia, España, Inglaterra y Estados Unidos son utilizados los líquenes para monitorear los efectos causados por gases y por metales. Como producto de esto se les reconoce como bioindicadores de ciertos contaminantes. Por ejemplo, el líquen foliáceo *Xanthoria*, fue utilizado como biomonitor en el sureste de Gran Canaria, provincia (Las Palmas, España), durante cinco años, con el fin de comprobar niveles de bioacumulación de azufre y su correlación con el SO₂ atmosférico, los resultados muestran áreas diferenciadas de bioacumulación determinadas por isolíneas de concentración como consecuencia de vientos dominantes y la ubicación de áreas de actividad industrial y tráfico vehicular (Vásquez, *et al*; 2005).

Los líquenes están siendo empleados para el seguimiento intensivo y continuo de los ecosistemas forestales. En Gran Bretaña e Irlanda se han obtenido datos confiables y a bajo costo utilizando especímenes de *Usnea* y *Parmelia* para la determinación de metales pesados atmosféricos (Richardson, 1992).

Los líquenes han sido utilizados ampliamente para controlar la calidad del aire en torno a las zonas urbanas, aplicando biomonitoreo pasivo y activo para determinar contaminantes como metales pesados. Los resultados indican que los metales pesados como



Pb, V, y Cd podrían ser responsables de los daños significativos en las membranas celulares de los líquenes. (Garty 2001; Carignan *et al.*, 2002; Purvis *et al.*; 2004; Carreras, H ; 2005).

En Italia los líquenes han sido empleados como bioindicadores para controlar la contaminación del aire y seguir los cambios en los patrones de contaminación. Una forma para lograr la exactitud de los resultados fue utilizando los procedimientos analíticos validados con materiales certificados de referencia para líquenes (MCR) 0482 *Pseudovernia furfurea* (Quevauviller, *et a.*; 1996). Estos procedimientos fueron llevados a cabo por la comisión Europea a través de una campaña de certificación con la participación de los laboratorios especializados y probado en muestras reales mediante la comparación de diferentes técnicas analíticas (Bettinelli *et al.*, 2002).

Garty *et al.*, 2003 en Israel aplicaron los líquenes como biomonitores de la contaminación del aire por siete meses de exposición, para determinar el impacto ambiental de una central eléctrica de carbón. Los resultados obtenidos permitieron determinar el comportamiento del líquen ante la presencia de contaminantes como Pb, S y V. Tras una exposición por varios meses, los líquenes fueron recuperados y los parámetros fisiológicos como el potencial de rendimiento fotosintético y la integridad de las membranas celulares del líquen fueron analizados comparativamente con el contenido elemental.

Actualmente, el dióxido de azufre y una amplia gama de otros compuestos como amoníaco, fluoruros y metales pesados, así como la eutrofización y la lluvia ácida, pueden ser detectados y monitoreados utilizando líquenes. (Hawksworth *et al.*, 2005). En Canadá, el sur de California, Brasil y Argentina los líquenes han sido utilizados para evaluar la contaminación por metales y gases en un ecosistema forestal, en las proximidades industriales y vehiculares. Los elementos determinados fueron Cu, Cd, Pb, Zn, Ba, Na, Mn, Br y del gas HNO_3 (Aznar *et al.*, 2007; Riddell *et al.*, 2007; Fuga *et al.*, 2007; Carreras *et al.*, 2007).



Por otra parte, en una región de Eslovenia bajo la influencia de industrias, emplearon líquenes para estudiar la calidad de aire en espacios abiertos y en sitios de bosques. Una comparación de los contaminantes en líquenes de los bosques y en espacios abiertos, estableció que en áreas abiertas la contaminación era mayor en términos de las fuentes de contaminación cercanas a estos sitios (Policnik *et al.*, 2007).

El estudio del comportamiento de líquenes (*Flavoparmelia caperata*) y la acumulación de contaminantes en sus tejidos ha sido comparado a corto y largo plazo en una zona de Portugal. Encontrándose que los líquenes expuestos por trasplante por un corto tiempo no mayor a tres meses se comportaron de manera diferente a líquenes expuestos por largo plazo. Sugiriendo que la bioacumulación de contaminantes en los tejidos de líquenes varían dependiendo del tiempo de exposición y de las condiciones medioambientales (Godinho *et al.*, 2008).

3.2.2.- Antecedentes nacionales de líquenes como biomonitores y bioindicadores

En el trabajo de Vareschi, *et al.*; (1953) los líquenes fueron empleados por primera vez en Venezuela como bioindicadores. Estos autores realizaron un mapeo de los líquenes en la ciudad de Caracas, en el cual obtuvieron un òdesierto de líquenesö; indicando que probablemente existió contaminación para esa área de estudio. En esa época, se empezaba a conocer la correlación entre la presencia de éstos y los niveles de contaminación, y solo fue dos décadas más tarde (Vareschi *et al.*, 1973) cuando se verificó la correlación entre las comunidades de líquenes sobre amplias áreas geográficas y la concentración de los contaminantes en éstas.

En la ciudad de Caracas, Quijada (2006), Réquiz (2006) y Díaz (2008) han realizado estudios de la contaminación por metales pesados y de hidrocarburos policíclicos empleando líquenes (*Pyxine sp.* y *Ramalina sp.*) como biomonitores. Los metales pesados determinados



fueron Pb, Cu, Zn, Cd, Ni, V, Cr; así como los hidrocarburos aromáticos policíclicos determinados por Espectrometría de Emisión Óptica con Plasma Acoplado Inductivamente ICP-OES. Los hidrocarburos aromáticos policíclicos fueron determinados mediante Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masa (GCMS) y Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (HPLC).

La especie *Ramalina sp.* permitió observar la acumulación de metales pesados, y la especie *Pyxine sp.* permitió observar la variabilidad de los metales pesados en la ciudad a lo largo de una transecta; obteniéndose las mayores concentraciones de Pb (378.12 $\mu\text{g/g}$) y Zn (105.71 $\mu\text{g/g}$) en Plaza Venezuela y Parque Carabobo. El Análisis de Perfiles, permitió evaluar el comportamiento de cada elemento a lo largo de la transecta en la ciudad de Caracas desde Propatria hasta El Marqués, obteniéndose un enriquecimiento relativo de metales en la localidad de Propatria, Plaza Venezuela y Parque Carabobo. Este autor (Quijada) indicó el papel preponderante que pueden tener los líquenes como indicadores de contaminación ambiental y en la evaluación de la calidad del aire.

Las especies de líquenes estudiadas por Díaz fueron *Parmotrema sp.* y *Physcia sp.* Ambos organismos estuvieron durante dos períodos de tres y seis meses en las estaciones de calidad de aire a cargo del Ministerio del Poder Popular para el Ambiente, ubicadas en los sectores: Bello Campo, Cementerio, CORE 5 (Tazón) y Los Ruices. El líquen *Parmotrema* estudiado por Díaz en comparación al líquen *Physcia* resultó ser un mejor acumulador de los metales Cd, Cr, Ni, Pb, V y Zn.

3.2.3.- Antecedentes internacionales de bromeliaceae (*Tillandsia spp.*) como biomonitores y bioindicadores

Las *Tillandsias spp.* son organismos capaces de absorber el agua y nutrientes directamente del aire. Por esta razón, Brighigna, *et al.* (1997) eligieron estas especies para



llevar a cabo un estudio de seguimiento de la contaminación atmosférica en la ciudad de San José (Costa Rica). Tres metales trazas fueron puestos a prueba cada dos meses en la planta: Pb, Cu y Cd, cuya presencia indica las diferentes fuentes de contaminación como fuentes móviles (vehiculares). Los resultados de la investigación muestran que *T. caput-medusae* puede ser utilizada como un buen biomonitor para la contaminación del aire. Es aconsejable el uso de *Tillandsia spp.* en todos los países de América Latina, donde algunas de estas especies epífitas están muy extendidas.

En el sur de Luisiana (EEUU), las bromeliaceae epífitas *Tillandsia usneoides* y el líquen *Parmotrema sp.* han sido empleados como biomonitores de contaminación atmosférica. Estos materiales biológicos fueron examinados químicamente para determinar el contenido de elementos químicos y compararlos entre ambos organismos. Las bromeliaceae y líquenes bioacumularon de manera efectiva metales pesados y el azufre de la atmósfera. La bioacumulación de ciertos metales pesados como el manganeso, níquel y cadmio aumentó con la vejez de la *Tillandsia usneoides* (Pyatt *et al.*, 1999).

Villanueva *et al.*, 2008, estudiaron en Paraguay algunos elementos como Pb, Cr, Fe, Cu y Br, para evaluar la calidad del aire en avenidas y carreteras de Asunción, permitiendo caracterizar espacialmente la concentración de los metales. El muestreo fue realizado en zonas escogidas aleatoriamente en Asunción, tomando en consideración la prevalencia de fuentes móviles y el continuo incremento del parque automotor, con el consiguiente aumento de emisiones a la atmósfera. El estudio llegó a la conclusión de que la principal fuente de contaminación es de origen antropogénico (tráfico vehicular).

La calidad atmosférica y la distribución de metales pesados fueron estudiadas a lo largo de una amplia región de Argentina y de Brasil. Algunos resultados obtenidos fueron; el Fe, Mn y Co probablemente se originaron en el suelo; asociados a los mecanismos



fisiológicos de las plantas, donde estos elementos vienen a ser constituyentes esenciales en las mismas. Para Pb, los valores más altos fueron encontrados en la zona montañosa, lo que puede atribuirse a la presencia de Pb (0.435 $\mu\text{g/g}$) en rocas graníticas. El níquel (Ni) mostró principalmente un origen antropogénico, con valores más altos en lugares próximos a centros industriales. Los altos valores de Zn fueron encontrados en zonas de desarrollo agrícola; lo mismo se observó para el Cu, cuya presencia podría estar relacionada con el uso de los plaguicidas. Los datos obtenidos mostraron que el sitio de control (Instituto Botánico de São Paulo.) presentó menor concentración para la mayoría de los elementos analizados y las más altas concentraciones de Na, Cl, Br, y K. (Pignata 2002; Figueiredo 2004; Wannaz 2006).

3.2.4.- Antecedentes nacionales de bromeliaceae (*Tillandsia spp.*) como biomonitores y bioindicadores

Las *Tillandsias recurvata* fueron estudiadas por primera vez en Caracas por Tugues (1976) como indicadora de plomo en la atmósfera de Caracas, en sitios como Plaza Venezuela y el Centro de Caracas a fin de buscar correlaciones con las concentraciones de Pb en el aire. Las concentraciones de las muestras fueron determinadas mediante Espectrometría de Absorción Atómica. El estudio estableció que la concentración de plomo en las plantas esta muy relacionada con la distancia a la fuente de contaminación, que la concentración varía dependiendo de las características de la fuente contaminante, es decir, si el tráfico era rápido o lento y el número de vehículos; y la concentración de plomo en las plantas y el aire depende también de la velocidad y dirección predominante de los vientos.



4.- ÁREA DE ESTUDIO

4.1.- Ciudad de Caracas

Caracas está ubicada en una cuenca hidrográfica con un valle angosto, que limita por el Norte por la Cadena Litoral y por el Sur por los Altos de Pipe. Estas características del terreno hacen que el viento se canalice en la dirección Este; así mismo, la mayor parte del tiempo las masas de aire están calmadas, notándose que en las tardes y temprano por las mañanas el aire queda atrapado en la cuenca, formando una inversión de capas.

Los vientos predominantes en el Parque Nacional El Ávila y la Cordillera Central son los Alisios del N-E, los cuales soplan todo el año. La temperatura media anual varía conforme a la ubicación y altitud de la cordillera, 27 °C en el Litoral Central, 21°C en el Valle de Caracas, 13 °C en las cumbres del cerro El Ávila (MARN-PDVSA; 2005).

4.1.1.- Fuentes Móviles. Las vías más importantes de Caracas incluyen las autopistas del Este, Valle-Coche, Francisco Fajardo, Francisco de Miranda, Boyacá, Caracas-Baruta y Caracas-La Guaira. Sin embargo, los volúmenes de tráfico más grandes se ubican en la autopista del Este; otras vías de mediano tráfico, incluye las avenidas Libertador, Sucre y Bolívar (MARN-PDVSA; 2005).

4.1.2.- Fuentes Fijas. Las zonas industriales mayores se localizan al Este y Sureste del área metropolitana, en los municipios Sucre y Libertador. Las zonas del Este incluyen Los Ruices, Boleita Norte, Los Cortijos y Petare, donde se hayan industrias ligeras de alimentos, textiles, cosméticos y farmacéuticos. En el Suroeste, en el área de la Yaguara, Capara y La Vega se encuentran industrias pesadas de hierro y acero, cementeras, químicos, alimentos, entre otras (MARN-PDVSA; 2005).

4.2.- Variables a considerar en el área de estudio

Las variables a estudiar en el biomonitoreo pueden apreciarse en la siguiente tabla.



Tabla 2.- Variables a considerar durante la etapa de campo

Variable	Tipo de Variable
Localidad	Independiente
Material biológico	Independiente
Concentración de los metales Pb, Cu, Zn, Cd, Ni, V y Cr en líquenes (<i>Pyxine</i>) y bromeliáceas (<i>Tillandsia recurvata</i>)	Dependiente

4.3.- Definición de variable de estudio

- **Localidad.** Es la variable independiente que corresponde a cada una de las estaciones (10 estaciones de E1-E10) a lo largo de la transecta que esta comprendida entre quebrada Quintero (El Ávila) y Plaza Altamira-Caracas.
- **Material biológico.** Es la variable independiente que corresponde a los especímenes empleados durante el biomonitoreo. Estos especímenes son *Pyxine sp.* y *Tillandsia recurvata*.
- **Concentración de los metales pesados.** Es la variable dependiente expresada en $\mu\text{g/g}$ de cada elemento determinado (Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, V y Zn).

4.4.- Hipótesis

- **Primera hipótesis alternativa.** Las concentraciones de los metales pesados Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, V y Zn varían a lo largo de la transecta comprendida entre quebrada Quintero y Plaza Altamira-Caracas.
- **Segunda hipótesis alternativa.** Existen diferencias estadísticamente significativas en la eficiencia de bioacumulación de metales pesados entre líquenes y bromeliáceas.
- **Tercera hipótesis alternativa.** Las concentraciones de los metales pesados Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, V y Zn en líquenes y bromeliáceas varían con el tiempo al compararse con resultados de estudios anteriores.



5.- METODOLOGIA EXPERIMENTAL

5.1.- Muestreo

El estudio fue realizado en la Ciudad de Caracas, a través de una transecta de aproximadamente 300 metros para determinar la variabilidad en las concentraciones de los metales pesados Cd, Cr, cu, Ni, Pb, V y Zn desde el Ávila (cercanías a Quebrada Quintero) hasta Plaza Altamira (ver apéndice 5).

5.1.1. Criterio para selección de zonas de muestreo

La selección de las zonas de muestreo fue realizada tomando en cuenta las intersecciones que correspondían a calles y avenidas con alto flujo vehicular y zonas lejos del alto flujo vehicular. Fueron seleccionados 10 puntos de muestreo a través de toda la transecta.

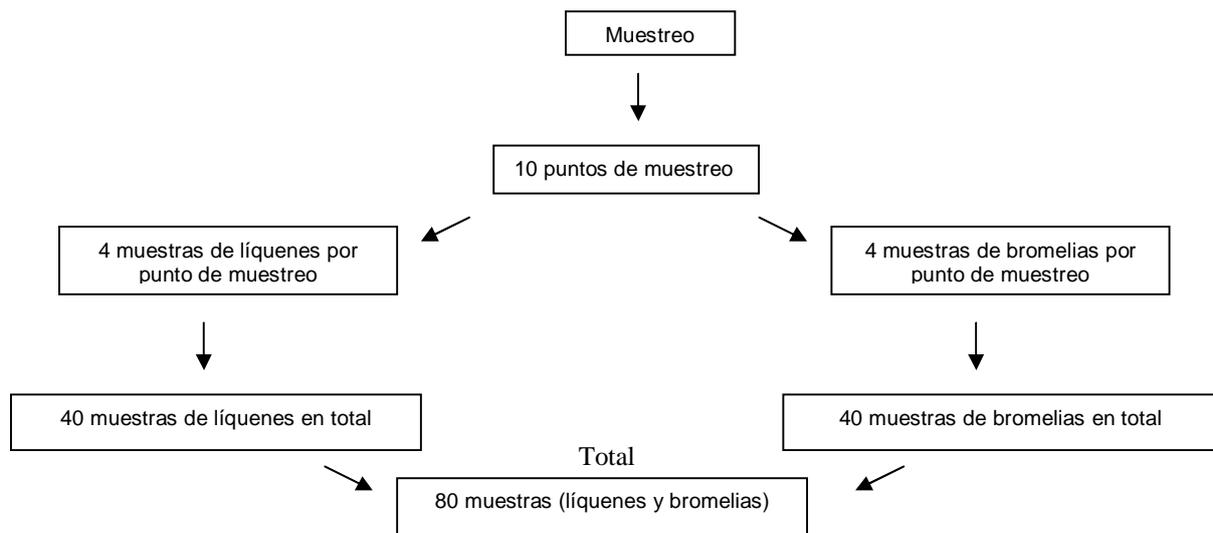


Fig. 6. Esquema de recolección de muestras

5.2.- Determinación de los especímenes colectados

Las muestras de líquenes y bromeliáceas colectadas fueron determinadas por Jesús Hernández (especialista en líquenes) y Yuribia Vivas (especialista en bromeliáceas) del Fundación Instituto Botánico de Venezuela (Caracas).



5.3.- Técnicas para la colección y preservación de líquenes

Para coleccionar los líquenes fue necesario disponer del siguiente material: navaja o cuchillo de hoja fuerte, sobres de papel de tamaño grande a mediano, libreta de notas, lápiz y un pico o martillo pequeño.

1. Con la ayuda de la navaja o cuchillo fue coleccionado el líquen con una pequeña porción del sustrato, para asegurar la presencia de todas las estructuras.
2. Las muestras líquénicas fueron identificadas con un número y acompañadas de sus respectivos datos de campo: localidad, hábitat, sustrato (por ejemplo; corteza de árbol con su nombre científico, si es posible), altitud, fecha de colección y nombre del colector (Moreno, *et al*; 2007).
3. Para preservar los líquenes, fueron guardados en sobres, acompañados del número de colección de la muestra y una etiqueta con sus respectivos datos. Posteriormente fueron colocados en cajas y guardados.
4. Los especímenes, bien en cajas o carpetas estuvieron almacenados en un refrigerador a baja temperatura (menores a 5 °C) y poca humedad.

5.4.- Técnicas para la colección y preservación de bromeliáceas

Para coleccionar las bromelias fue necesario disponer del siguiente material: hoja, sobres de papel de tamaño grande a mediano, libreta de notas y lápiz.

1. Con la ayuda de una navaja y tijera fue colectada la bromeliácea.
2. Fueron identificadas con un número y acompañadas de sus respectivos datos de campo: localidad, hábitat, sustrato, altitud, fecha de colección y nombre del colector.



3. Para preservarlas fueron colocadas en sobres, acompañados del número de colección de la muestra y una etiqueta con sus respectivos datos.
4. Los especímenes, en sobres estuvieron almacenados en un refrigerador a bajas temperatura (menores a 5 °C) y poca humedad.

5.5.- TRATAMIENTO QUIMICO Y FISICO DE LAS MUESTRAS

5.5.1.- Tratamiento de los líquenes (*Pyxine sp.*). En los líquenes colectados fue aplicado el siguiente tratamiento:

Colección y conservación

Las muestras fueron colectadas en sobres de papel etiquetados y preservados en congelador menor a 5 °C hasta el momento de su tratamiento. El líquen fue separado del sustrato (corteza de árbol) usando pinzas y espátulas de plástico. Para facilitar su separación la muestra fue humedecida con agua destilada. Posteriormente, fue extraído todo material extraño (insectos muertos, maderas, otros) del líquen a través de una lupa binocular.



Fig. 7. Separación de líquen del sustrato



Fig. 8. Extracción de restos de material en líquenes

Lavado y secado

Fueron tomadas de 1 a 2 g ($\pm 0,0001$ g) de muestra aproximadamente. Posteriormente, fue realizada la limpieza de los líquenes con agua deionizada. Las muestras fueron colocadas sobre vidrios de relojes previamente identificados, y colocados en la estufa a 40-60 °C hasta llevar a peso constante.



Fig. 9. Limpieza de los líquenes

Pulverizado

Las muestras fueron pulverizadas utilizando un mortero de ágata, agregándole suficiente nitrógeno líquido hasta cubrirla, para facilitar la pulverización. Luego, fueron secadas a 50 °C por 2 horas.



Fig. 10. Pulverización del líquen con nitrógeno líquido

Digestión

Fue tomada una alícuota de la muestra de 0,35 g ($\pm 0,0001$ g) y trasladada a un bloque digestor con ácido nítrico (10 mL de HNO_3) por 25 min. a una temperatura de 110 °C (Garty, *et al*; 2003). Posteriormente, las disoluciones fueron filtradas con papel filtro Whatman 40 (papel con retención de partículas $>8\mu\text{m}$ con porosidad media, velocidad de filtración de ASTM de 75 segundos, Herzberg de 340 segundos) y enrasadas a 25 mL (realización de 1 a 2 réplicas, dependiendo de la cantidad de muestra disponible).



Fig. 11. Bloque digestor Kjeldahl



Fig. 12. Filtrado de disoluciones de líquenes

Análisis instrumental

Las concentraciones de los metales Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, V y Zn fueron determinadas empleando Espectrometría de Emisión Óptica por Plasma Acoplado Inductivamente.

5.5.2.- Tratamiento de las bromeliáceas (*Tillandsia recurvata*). Las bromelias colectadas presentaron el siguiente tratamiento:

Colección y conservación

Las muestras fueron colectadas en sobres de papel etiquetados y conservadas en un congelador a 0°C hasta el momento de su tratamiento. Posteriormente fueron extraídos todo material extraño de las muestras a través de una lupa binocular..



Fig. 13. Extracción de residuos en bromeliáceas



Lavado y secado

Fueron pesados con balanza analítica 1 a 2 g ($\pm 0,0001$ g) de muestra. Las hojas fueron lavadas por inmersión en agua desionizada y destilada, durante 3 minutos. Luego, secadas en una estufa a 50° C por un período mínimo de 24 horas o hasta llegar a peso constante.

Pulverizado

Posteriormente, fueron trituradas las hojas de los organismos con nitrógeno líquido hasta reducirlos a polvo y homogeneizarlos. Luego fueron secadas a 50 °C por 2 horas.

Digestión

Con una balanza de precisión fue tomada una alícuota de 0,35 g ($\pm 0,0001$ g) de la muestra. La muestra pulverizada fue digerida con HCl (18%): HNO₃ (9: 3) a 110 °C (Pignata, *et al*; 2002) en bloque digestor ver Fig. 10 y los residuos sólidos fueron filtrados. Finalmente, el volumen fue ajustado a 25 mL (realización de tres réplicas).



Fig. 14. Filtrado de disoluciones de bromeliáceas

Análisis instrumental

Las concentraciones de los metales Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, V y Zn fueron determinados empleando de Espectrometría de Emisión Óptica por Plasma Acoplado Inductivamente.



5.5.3- Tratamiento de las bromeliáceas con microondas digestor (IVIC)

1. Fueron pesados aproximadamente 5,00 g ($\pm 0,0001$ g) de la muestra en balanza analítica.
2. La disolución fue llevada a cabo con 10 mL de ácido nítrico en el microondas, el cual fue configurado previamente para obtener las características que siguen:

Tabla. Condiciones del microondas CEM

Etapa (N°)	Potencia Nivel (W)	Rampa t(s) mm:ss	Presión (Psi)	T (°C)	Tiempo (min) mantenido
1	400	15:00	800	200	15:00

3. Luego fue realizada la filtración de la disolución y llevada a un volumen de 25 mL.
4. Determinación de los elementos Cr, Cu, Ni, Pb, V y Zn por ICP-OES.

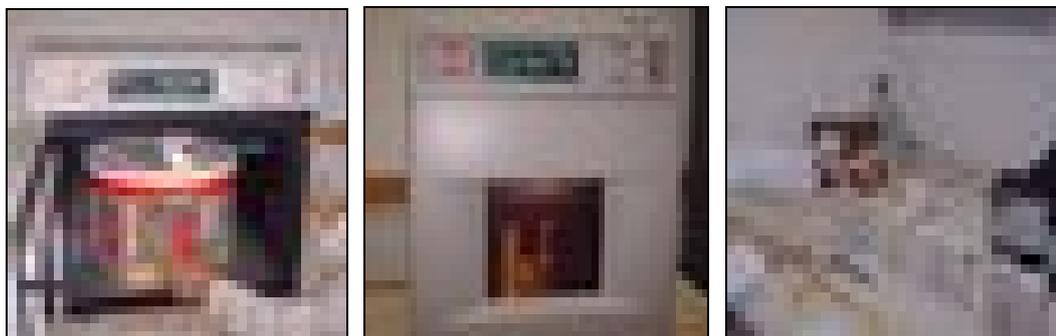


Fig. 15. Microonda CEM (IVIC)

5.5.4.- Tratamiento del material certificado de referencia (MCR) de hojas de tomate.

➤ Metodología de líquenes aplicada al material certificado de referencia MCR

Fue pesado aproximadamente 0,35 g ($\pm 0,0001$ g) de la muestra de MRC.

Disolución con HNO₃ (65%) en bloque digestor a 110°C por 8 horas. Posteriormente fue realizada la filtración y enrasado a 25 mL.

Determinación de los elementos por ICP-OES.



➤ Metodología de tillandsias aplicada a material certificado de referencia MCR

Fue pesado aproximadamente 0.35 g ($\pm 0,0001$ g) de la muestra de MRC. Disolución con HCL: HNO₃ (3:1) en bloque digestor a 110°C por 8 horas. Posteriormente fue realizada la filtración y enrasado a 25 mL.

Determinación de los elementos por ICP-OES.

5.6.- Tratamiento estadístico de los datos

Para clasificar, comparar y agrupar los resultados de los análisis químicos obtenidos, fueron aplicadas las técnicas de análisis multivariados: análisis de cluster, análisis de componentes principales, análisis de perfiles y de varianza (ANOVA).

5.6.1.- Análisis de la Varianza (ANOVA)

El análisis de la varianza es un método para comparar dos o mas medias, puede ser empleado para detectar la existencia de relaciones fijas entre medias de una población y para estimar los parámetros que definen tales relaciones.

En el análisis de la varianza el valor que nos sirve de referencia a la hora de aceptar o rechazar la hipótesis nula es el nivel de significación. Si el nivel de significación es mayor que 0,05, aceptaremos la hipótesis nula de independencia entre las variables (no existen efectos diferenciales entre los tratamientos). Si el nivel de significación es menor que 0,05 rechazaremos la hipótesis nula y aceptaremos la hipótesis alternativa, es decir, concluiremos que existe una relación de dependencia entre las variables, y en este caso podremos decir que los distintos niveles del factor sí influyen sobre los valores de la variable cuantitativa.



Cuando a los resultados de un experimento le pueden afectar dos factores, puede ser empleado el análisis de la varianza de dos factores para estudiar sus efectos (Vicéns, et al. 2005).

5.6.2.- Análisis de Perfiles

Esta prueba permite analizar el perfil de cambio de cada metal y observar como varían a lo largo de la transecta. El análisis de perfiles esta basado en examinar los residuales de una prueba de χ^2 . Estos residuales están estandarizados y presentan una distribución normal, por eso pueden ser analizados como una distribución Z, que para un 95% de intervalo de confianza todo lo que este entre -1,96 y 1,96 está dentro de los valores cuya diferencias entre observados y esperados no son significativa (Greenacre, et al. 1994).

5.6.3.- Análisis de Clúster

Se utiliza la información de una serie de variables para cada sujeto u objeto y, conforme a estas variables se mide la similitud entre ellos. Una vez medida la similitud se agrupan en: grupos homogéneos internamente y diferentes entre sí (Ganadesikan, 1977).

5.6.4.- Análisis de Componentes Principales (ACP)

El Análisis de Componentes Principales (ACP) es una técnica estadística de síntesis de la información, o reducción de la dimensión (número de variables). Es decir, ante un banco de datos con muchas variables, el objetivo será reducirlas a un menor número perdiendo la menor cantidad de información posible.

Un aspecto clave en ACP es la interpretación de los factores, ya que ésta no viene dada a priori, sino que será deducida tras observar la relación de los factores con las variables iniciales (Baró, J; 2000).



6.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En esta sección son presentados los resultados obtenidos en el estudio en función de los objetivos planteados en esta investigación. Los resultados corresponden a las metodologías aplicadas al material de referencia y las concentraciones de los elementos en líquenes y bromeliáceas, seguido de una comparación entre dos métodos de disolución empleados en *Tillandsia recurvata*. Las concentraciones de los elementos en líquenes y bromeliáceas fueron tratados estadísticamente empleando el Análisis de la Varianza y Análisis de Perfil para cada uno de los elementos determinados. Finalmente son presentados el Análisis de Componentes Principales (ACP) y Análisis de Cluster.

6.1.- Curvas de calibración

Las curvas de calibración para cada elemento fueron realizadas a través de cinco soluciones patrones a partir de una multielemental que contenía concentraciones en $\mu\text{g/mL}$ de Cd (0,15), Cr (0,75), Cu (1,5), Ni (0,5), Pb (20), V (0,5) y Zn (5). Estas soluciones patrones fueron 25/50, 10/50, 5/50, 3/50 y 2/50 respectivamente. Por otra parte, en vista de las diferentes matrices ácidas utilizadas para líquenes y bromeliáceas durante el tratamiento químico de las muestras, fueron preparadas las soluciones patrones a partir de una matriz ácida. Para líquenes fue empleada una matriz al 5% de ácido nítrico, mientras que para las bromeliáceas una matriz al 5% de HCl: HNO_3 con relación 3:1 (ver apéndice 7).

6.2.- Material certificado de referencia (MCR) ñhojas de tomateö

El método instrumental utilizado en esta investigación fue ICP-OES; este instrumental pudo haber influido en la no detección de algunos de los elementos estudiados; debido a que el reporte del material certificado de referencia (MCR) establece la detección de la mayoría de



los elementos (Cd, Cr, Cu, Ni, V y Zn) por técnicas instrumentales más sensibles como Análisis de Activación Radioquímica de Neutrones. Por lo tanto, la concentración que es comparada a continuación corresponde al zinc, que fue elemento que pudo determinarse. Las tres metodologías aplicadas al MCR corresponden a:

1. Metodología del líquen *Pyxine sp* (ML1) aplicada al MRC. Uso de HNO₃ concentrado a 110°C por 8 horas. Esta metodología arrojó una concentración de $35,51 \pm 3,15 \mu\text{g/g}$.
2. Metodología del líquen aplicada al MRC según Díaz, 2008 (ML2). Muestra de líquenes homogénea secada en estufa a 60 °C por 48 h. Posteriormente disolución con HNO₃ concentrado a 120 °C por 8 horas. Esta metodología arrojó una concentración de $38,84 \pm 3,65 \mu\text{g/g}$.
3. Metodología del material de referencia expresada en el reporte del MRC. Esta metodología consistió en una disolución del material con ácido nítrico y perclórico (Según el reporte de material certificado de referencia). Esta metodología arrojó una concentración de $30,9 \pm 0,7 \mu\text{g/g}$.

Al comparar cada uno de las metodologías a partir de las concentraciones obtenidas con las indicadas en el reporte del MRC (metodología 3), a fin de conocer cual de las metodologías estaría validada, es apreciable que la metodología ML1 es la que está más aproximada ($35,51 \mu\text{g/g}$) al valor reportado por la tercera metodología ($30,9 \mu\text{g/g}$).

Por otra parte, es importante destacar que hasta los momentos la validación de la metodología con *Tillandsia recurvata* no es posible debido a la falta de un material certificado en Venezuela que lo permita.



6.3.- Determinación de la concentración de metales en líquenes y bromeliáceas

Los diez puntos tomados a lo largo de la transecta entre El Ávila y Plaza Altamira en la ciudad de Caracas (ver apéndice 5) estuvieron definidos por la presencia de líquenes y bromeliáceas en la zona de estudio. La determinación de la concentración de los metales fue realizada empleando el instrumental ICP-OES, esta técnica permitió determinar su distribución en los distintos puntos a lo largo de la transecta. Los metales Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, V y Zn, fueron los considerados para realizar las interpretaciones correspondientes; a excepción del elemento Cd que estuvo por debajo del límite de detección del equipo. Los resultados son reportados en las tablas 3 y 4.

A continuación son representadas las concentraciones promedios, máximas y mínimas expresadas en $\mu\text{g/g}$ de cada elemento determinado por ICP-OES. Las concentraciones en $\mu\text{g/g}$ de cada una de las réplicas y las concentraciones en $\mu\text{g/mL}$ pueden observarse en el apéndice 6.

Para determinar la precisión del método fue analizada una misma muestra por triplicado; en algunas muestras de líquenes fueron realizadas dos réplicas y en otros casos no hubo réplicas. Esto debido a la poca disponibilidad de muestra para la realización de los tratamientos químicos.

Los resultados que son mostrados seguidamente corresponden al método de disolución HNO_3 para líquenes y HCL (18%): HNO_3 (65%) para bromeliáceas empleando bloque digestor.



Tabla 3. Concentración de los elementos en líquenes *Pyxine sp.* en ($\mu\text{g/g}$)

nd = no detectado; Conc. máx. = concentración máxima; Conc. mín. = Concentración mínima

Estación	Cd	Cr	Cu	Ni	Pb	V	Zn
E1	nd	40,33	23,91	7,05	116,8	9,790	287,6
E2	nd	11,93 \pm 0,07	19,95 \pm 5,97	45,26 \pm 49,09	117,4 \pm 4,67	9,270 \pm 0,61	83,53 \pm 0,86
E3	nd	10,93 \pm 0,87	24,19 \pm 1,59	4,960 \pm 0,55	760,7 \pm 9,88	5,490 \pm 2,11	81,89 \pm 4,83
E4	nd	32,25	50,11	19,86	667,3	13,97	249,5
E5	nd	19,60	55,22	14,24	610,9	12,57	150,7
E6	nd	14,53 \pm 0,55	42,69 \pm 1,26	22,16 \pm 24,38	432,0 \pm 15,14	7,110 \pm 0,66	109,6 \pm 0,06
E7	nd	12,22	23,51	4,700	329,9	4,480	94,64
E8	nd	18,88	50,93	8,190	473,2	11,35	148,9
E9	nd	17,49	70,77	10,90	523,4	15,46	137,5
E10	nd	11,41 \pm 1,29	36,66 \pm 5,30	37,39 \pm 45,98	112,4 \pm 8,60	4,200 \pm 0,75	86,15 \pm 7,75
PROMEDIO	nd	18,96	39,79	17,47	414,42	9,37	143,00
Conc. máx.	nd	40,33	70,77	45,26	760,71	15,46	287,60
Conc. mín.	nd	10,93	19,95	4,70	112,44	4,20	81,89

Tabla 4. Concentración de los elementos en *Tillandsias recurvata* en ($\mu\text{g/g}$)

nd = no detectado; Conc. máx. = concentración máxima; Conc. mín. = Concentración mínima

Elemento	Cd	Cr	Cu	Ni	Pb	V	Zn
E1	nd	24,50 \pm 9,96	10,46 \pm 3,80	18,18 \pm 31,78	21,07 \pm 1,13	1,660 \pm 0,58	170,2 \pm 52,11
E2	nd	17,73 \pm 0,53	11,72 \pm 0,23	3,580 \pm 3,94	21,00 \pm 7,92	2,630 \pm 0,09	121,9 \pm 3,23
E3	nd	38,85 \pm 1,62	52,10 \pm 20,67	2,440 \pm 1,89	122,8 \pm 63,42	3,340 \pm 0,94	264,5 \pm 16,71
E4	nd	36,84 \pm 1,61	43,24 \pm 25,83	1,170 \pm 2,14	73,95 \pm 49,41	3,900 \pm 1,07	257,3 \pm 18,79
E5	nd	56,16 \pm 1,58	65,45 \pm 1,32	13,36 \pm 1,28	87,96 \pm 5,80	6,680 \pm 0,60	387,2 \pm 10,23
E6	nd	43,99 \pm 0,86	30,11 \pm 1,08	0,7700 \pm 1,29	31,30 \pm 6,02	2,000 \pm 0,59	298,3 \pm 6,35
E7	nd	32,11 \pm 2,35	28,43 \pm 1,48	5,420 \pm 5,43	90,40 \pm 9,98	4,760 \pm 0,84	221,2 \pm 9,51
E8	nd	49,07 \pm 2,21	67,89 \pm 3,08	3,130 \pm 1,24	63,37 \pm 0,82	6,510 \pm 0,11	338,1 \pm 3,23
E9	nd	50,19 \pm 3,11	45,61 \pm 0,94	12,80 \pm 2,81	88,68 \pm 14,03	6,870 \pm 0,69	344,8 \pm 15,63
E10	nd	32,55 \pm 0,55	26,94 \pm 0,41	1,460 \pm 1,04	34,48 \pm 5,35	3,960 \pm 0,42	223,9 \pm 5,99
PROMEDIO	nd	38,20	38,20	6,23	63,50	4,23	262,75
Conc. máx	nd	56,16	67,89	18,18	122,84	6,68	387,21
Conc. mín	nd	17,73	10,46	0,77	21,07	1,66	121,97



Tabla 5. Concentración en ($\mu\text{g/g}$) de los metales pesados en muestras controles (Quijada, 2006).

	Cr	Cu	Ni	Pb	V	Zn
Control 1	7,96	9,76	10,77	147,23	4,74	52,35
Control 2	7,69	9,63	9,90	145,94	4,90	53,01
Control 3	6,58	8,37	9,40	128,90	4,30	48,27

Estas muestras controles corresponden al género *Pyxine sp.* tomadas por Quijada (2006) en la urbanización El Placer, cercana a la Universidad Simón Bolívar (municipio Baruta-Caracas).

Al comparar las concentraciones de los elementos determinados en líquenes *Pyxine sp.* (tabla 3) respecto a las muestras controles (tabla 5) es apreciable como ocurre un incremento en las concentraciones a más del 50 % para cada uno de los elementos (Cr, Cu, Ni, Pb, V y Zn) estudiados en la presente investigación.

6.4.- Comparaciones de dos métodos de digestión y de procedimientos analíticos diferentes aplicados en *Tillandsias recurvata*.

Tabla 6. Método de digestión con microondas empleando ácido nítrico concentrado

MD = Microondas digestor

Elemento	Cr ($\mu\text{g/g}$)	Cu ($\mu\text{g/g}$)	Ni ($\mu\text{g/g}$)	Pb ($\mu\text{g/g}$)	V ($\mu\text{g/g}$)	Zn ($\mu\text{g/g}$)
MD1	37,98	31,95	2,61	51,36	4,48	265,77
MD2	46,70	32,96	2,92	45,85	3,29	331,05
MD3	34,90	31,26	2,91	27,90	4,55	243,97
Promedio	39,86 \pm 6,12	32,06 \pm 0,86	2,81 \pm 0,17	41,70 \pm 12,27	4,11 \pm 0,71	280,3 \pm 45,31



Tabla 7. Método de digestión con bloque digestor empleando ácido clorhídrico (18%) y ácido nítrico concentrado en relación 3:1

BD = bloque digestor

Elemento	Cr (µg/g)	Cu (µg/g)	Ni (µg/g)	Pb (µg/g)	V (µg/g)	Zn (µg/g)
BD1	36,84	43,24	1,170	73,95	3,900	257,3
BD2	43,99	30,11	0,770	31,30	2,000	298,3
BD3	32,55	26,94	1,460	34,48	3,960	223,9
Promedio	39,79 ± 5,78	33,43 ± 8,65	1,130 ± 0,34	46,57 ± 23,76	3,280 ± 1,12	259,9 ± 37,25

Para el análisis de los datos mostrados en tabla 6 y 7 fue aplicada una prueba t-student para evaluar poblaciones más pequeñas respecto al análisis de varianza que estudia poblaciones más grandes.

Tabla 8. Comparaciones de dos métodos de digestión (MD = Microondas digestor. BD = Bloque digestor).

Variable	Σ rango MD	Σ rango BD	Distribución U	Distribución Z	Probabilidad
Cr	12,00	9,00	3,00	0,65	0,51
Cu	12,00	9,00	3,00	0,65	0,51
Ni	15,00	6,00	0,00	1,96	0,05
Pb	10,00	11,00	4,00	-0,22	0,83
V	13,00	8,00	2,00	1,09	0,28
Zn	12,00	9,00	3,00	0,65	0,51



A continuación son presentadas las figuras correspondientes a cada elemento.

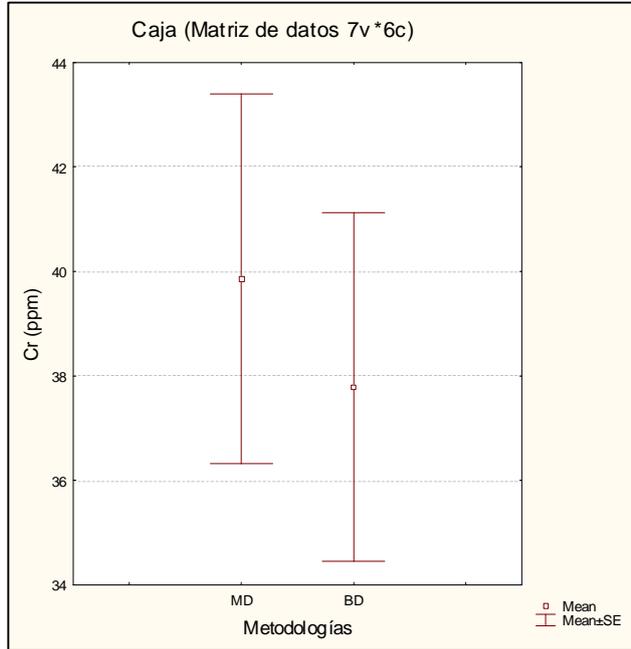


Fig. 16. Prueba t-student para cromo

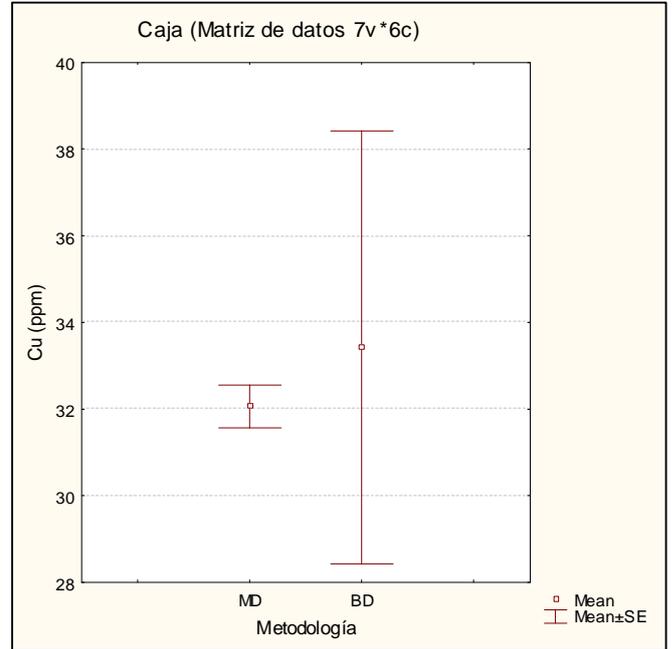


Fig. 17. Prueba t-student para cobre

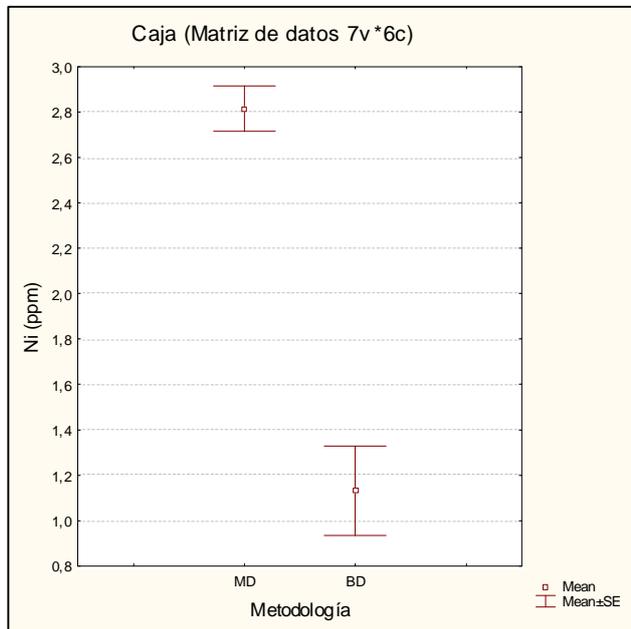


Fig. 18. Prueba t-student para níquel

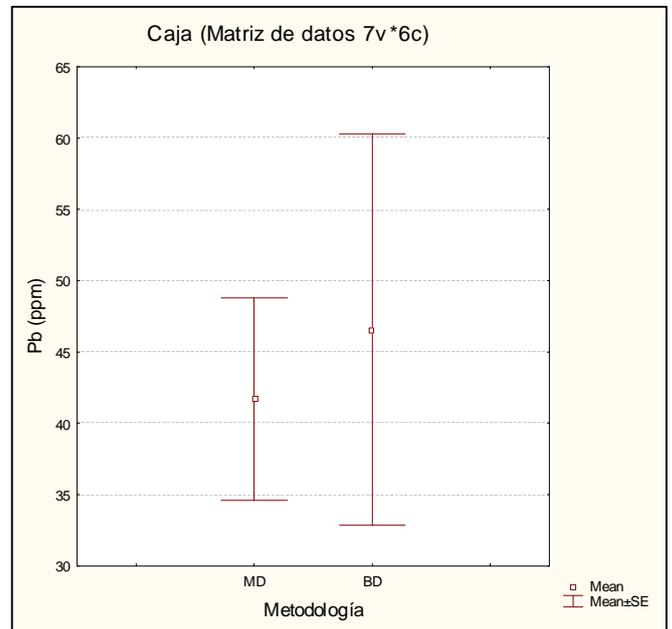


Fig. 19. Prueba t-student para plomo

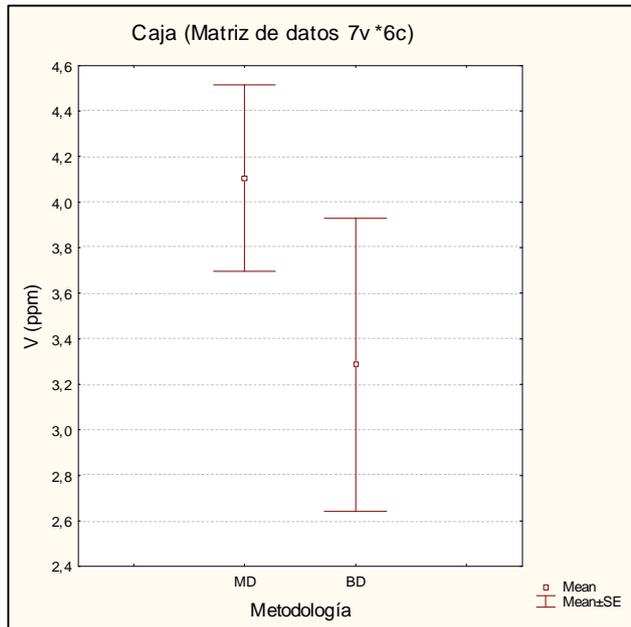


Fig. 20. Prueba t-student para vanadio

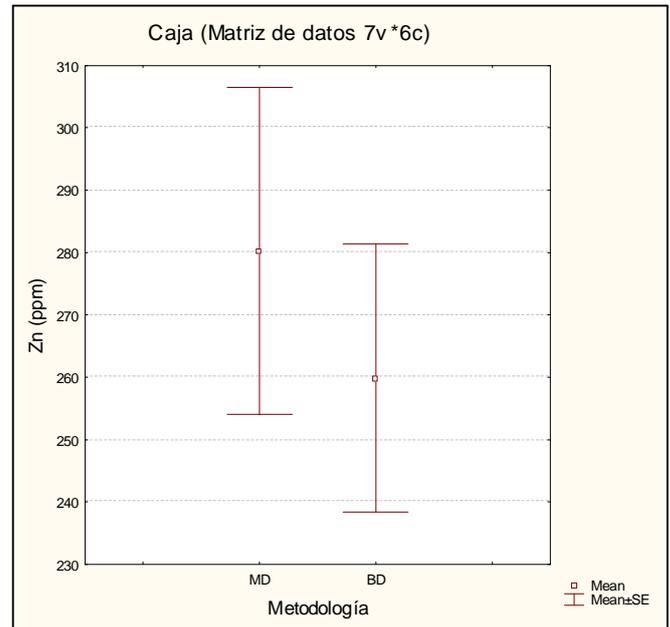


Fig. 21. Prueba t-student para zinc

En las figuras 16 y 21 correspondientes al cromo y zinc puede notarse que no existen diferencias estadísticamente significativas ($p > 0.05$) entre los dos métodos de digestión (microondas y bloque digestor), interpretándose que es posible emplear cualquiera de los dos métodos para posterior determinación de las concentraciones de Cr y Zn. Por otra parte, no sigue existiendo diferencias significativas ($P > 0.05$) entre los métodos en los elementos Cu, Pb y V; sin embargo en las fig. 17, 19 y 20, es apreciable como la metodología por bloque digestor presenta una mayor amplitud en los bigotes (errores estándar) alrededor de la media en comparación con la de microondas donde esta amplitud es menor. Esto puede indicar que el método por bloque digestor arroja mayores errores durante el tratamiento químico de las muestras. Adicionalmente fue observado en la fig. 18 como el elemento Ni presenta diferencias estadísticamente significativas con un $P = 0.05$, esto puede deberse a la baja disponibilidad de este elemento en la *Tillandsias recurvata*, acarreado mayores errores durante el tratamiento de la muestra (ver apéndice 6).



6.5.- Análisis de la varianza por elemento

La prueba estadística fue realizada a través de un análisis de varianza (ANOVA) de dos factores, en el cual fueron relacionadas las concentraciones en las muestras de los diferentes metales a lo largo de la transecta. Para ello, fueron relacionadas entre sí las variables independiente localidad y material biológico y la variable dependiente concentración del metal. Adicionalmente en el apéndice 10 y 11 son mostrados los gráficos de errores estándar por elemento correspondientes a las diferencias entre materiales biológicos y los gráficos de errores estándar por elemento de las diferencias existentes en cada localidad.

Los gráficos de errores estándar por elemento a lo largo de una transecta con diez estaciones identificadas como E1, E2, E3, E4, E5, E6, E7, E8, E9 y E10, son presentados a continuación. Estos gráficos corresponden de la interacción de material biológico por estación. Las primeras dos estaciones corresponden a cercanías de quebrada Quintero (El Ávila), la tercera a cercanías a la cota mil y el resto a calles y avenidas (ver apéndice 5).

Para una probabilidad de $P < 0,05$ indica que existen diferencias estadísticamente significativas entre las variable de estudio. $P > 0,05$ indica que no existen diferencias estadísticamente significativas entre las variable de estudio.



CROMO

Tabla 9. Resultados de Análisis de la Varianza para cromo

Cr	Sumatoria de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	P
Efecto					
Material biológico	3.270,52	1,00	3.270,52	302,70	0,00
Estación	1.847,87	9,00	205,32	19,00	0,00
Material biológico*Estación	1.966,35	9,00	218,48	20,22	0,00
Error	259,31	24,00	10,80		

Material biológico*Estación = interacción entre material biológico y estación.

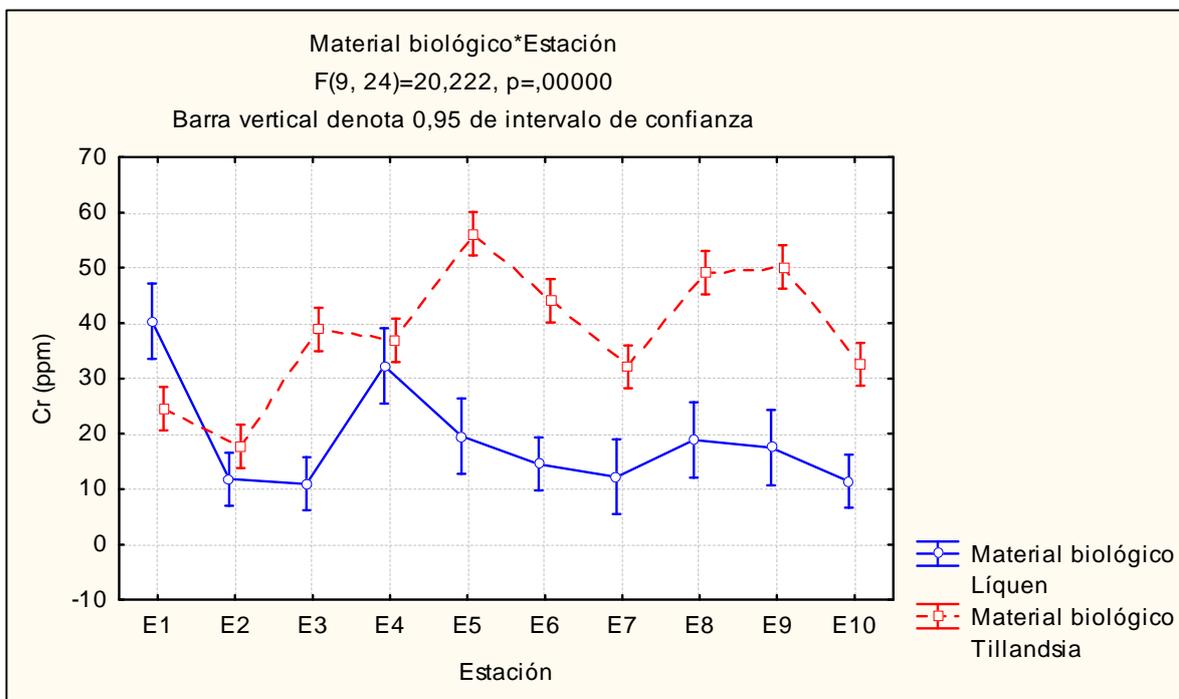


Fig. 22. Gráfico de Errores Estándar para cromo

En la tabla 9 el cromo reporta un $P < 0,05$; que significa que al menos una de las localidades presenta una concentración estadísticamente diferente a las demás. En la fig. 22, puede observarse el Gráfico de Errores Estándar correspondientes a los materiales biológicos y a las localidades, presentando diferencias estadísticamente significativas. Adicionalmente, es apreciable que el cromo está más enriquecido en la *Tillandsia recurvata* respecto al *Pyxine*



sp. a excepción en la E1. Por otra parte, las mayores concentraciones de cromo en los líquenes están presentes en E1 y E4 con aproximadamente 40 µg/g y 30 µg/g, mientras que en las tillandsias con 55 µg/g en E5 (ver tabla 3 y 4).

COBRE

Tabla 10. Resultados de Análisis de la Varianza para cobre

Cu	Sumatoria de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	P
Efecto					
Material biológico	22,00	1,00	22,00	0,23	0,64
Estación	8.614,69	9,00	957,19	9,92	0,00
Material biológico*Estación	2.255,94	9,00	250,66	2,60	0,03
Error	2.316,86	24,00	96,54		

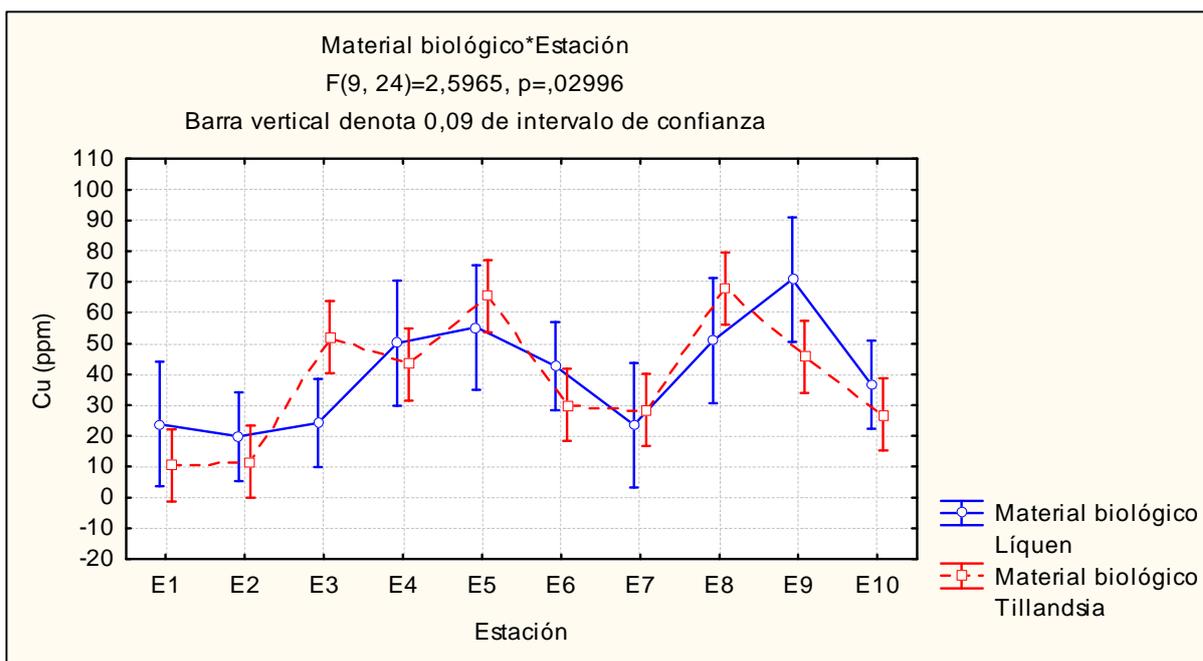


Fig. 23. Gráfico de Errores Estándar para cobre

En la figura 23 los líquenes presentan alta concentración de cobre en la mayoría de las estaciones E1 a E10 a excepción para E3, E5 y E8. En la tabla 10 los materiales biológicos (líquenes del género *Pyxine sp.* y bromeliáceas del género *Tillandsias recurvata*) no presentan diferencias estadísticamente significativas entre sí (las medias son iguales); sin embargo, las



localidades (E1-E10) sí presentan diferencias estadísticamente significativas con un $P < 0,05$. Por otro lado, las altas concentraciones de cobre en *Pyxine sp.* (90 $\mu\text{g/g}$) están ubicadas en E9, mientras que para las *Tillandsias recurvata* están alrededor de las estaciones 5 y 8, con aproximadamente 80 $\mu\text{g/g}$ (ver tabla 3 y 4).

NIQUEL

Tabla 11. Resultados del Análisis de la Varianza de dos vías para níquel

Ni	Sumatoria de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	P
Efecto					
Material biológico	1.089,38	1,00	1.089,38	3,45	0,08
Estación	1.600,87	9,00	177,87	0,56	0,81
Material biológico*Estación	2.739,66	9,00	304,41	0,96	0,49
Error	7.588,15	24,00	316,17		

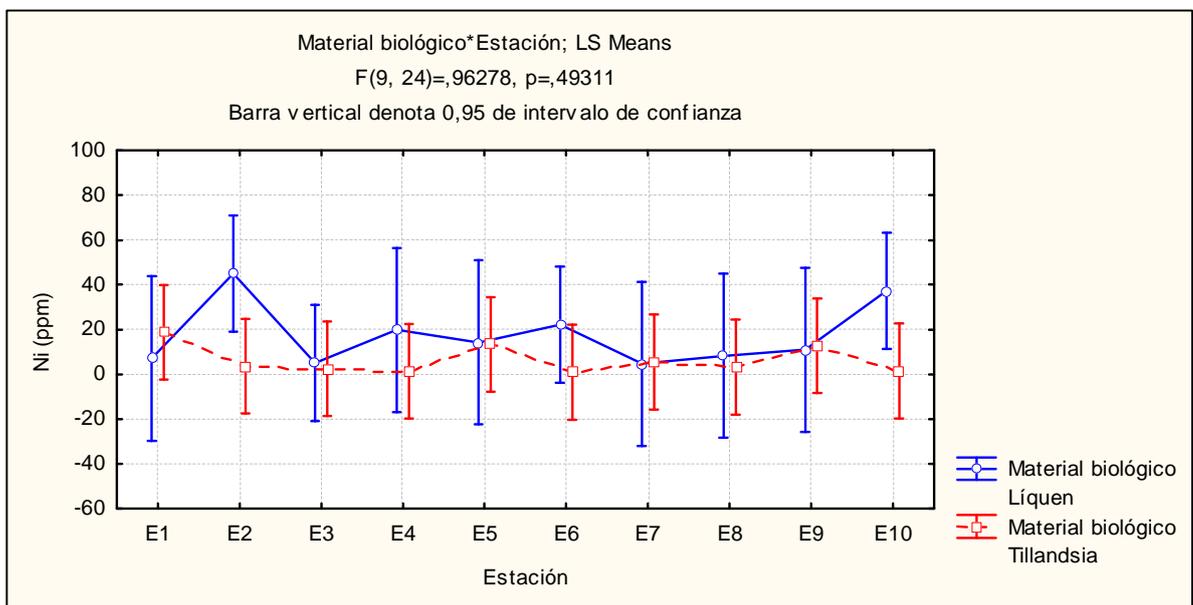


Fig. 24. Gráfico de Errores Estándar para níquel

En esta figura 24 puede apreciarse claramente una distribución homogénea de los materiales biológicos en toda la transecta (E1-E10), el cual indica que no existen diferencias



estadísticamente significativas entre los materiales biológicos y las localidades con un $P = 0.49$ (ver valores de la tabla 11).

PLOMO

Tabla 12. Resultados de Análisis de la Varianza de dos vías para plomo

Pb	Sumatoria de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	P
Efecto					
Material biológico	1.085.106,85	1,00	1.085.106,85	1.825,03	0,00
Estación	661.579,81	9,00	73.508,87	123,63	0,00
Material biológico*Estación	401.828,85	9,00	44.647,65	75,09	0,00
Error	14.269,69	24,00	594,57		

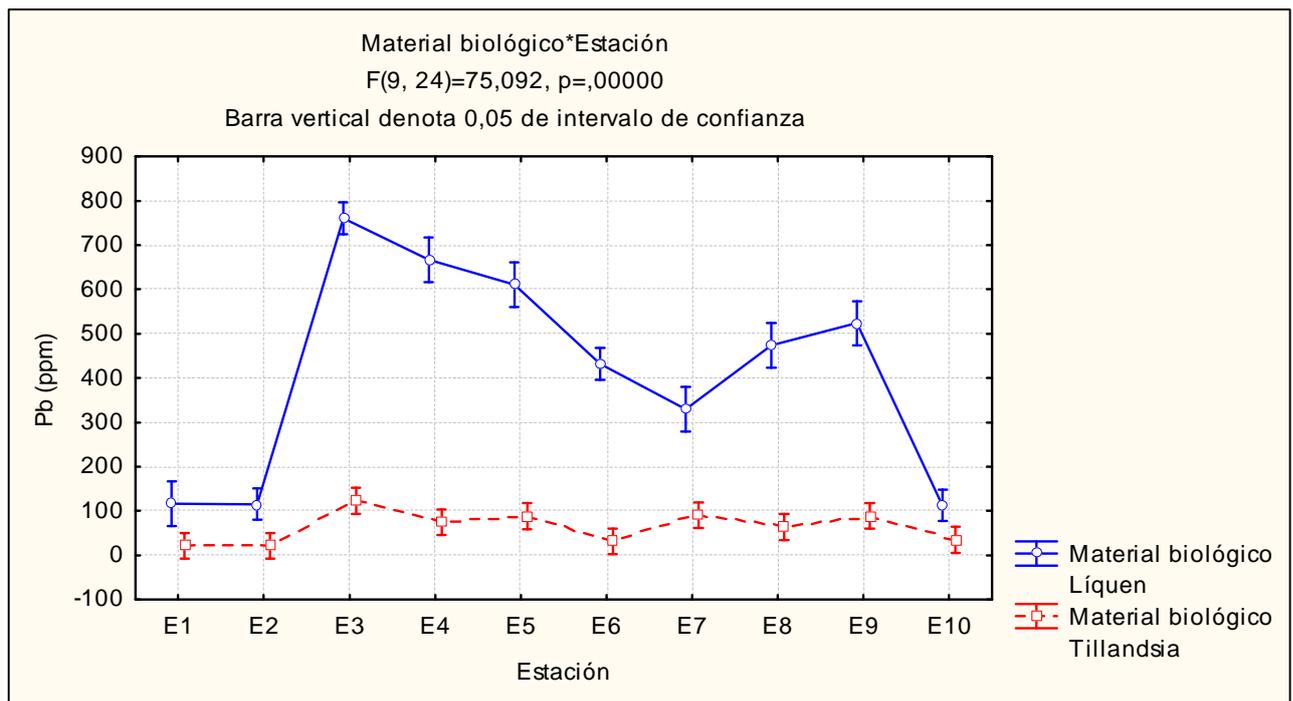


Fig. 25. Gráfico de Errores Estándar para plomo

En la figura 25 para el Plomo es apreciable que existen diferencias estadísticamente significativas con un $P < 0,05$ entre las localidades y materiales biológicos (ver tabla 12). El *Pyxine sp.* tiende a ser muy sensible antes los efectos del Pb respecto a *Tillandsia recurvata*.



Por ejemplo, en la estación E3 (Cota mil) el Pb alcanza concentraciones de aproximadamente 750 µg/g, mientras que para las tillandsias la mayor concentración esta cercana a 100 µg/g.

VANADIO

Tabla 13. Resultados de Análisis de la Varianza de dos vías para vanadio

V	Sumatoria de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	P
Efecto					
Material biológico	233,07	1,00	233,07	380,37	0,00
Estación	210,81	9,00	23,42	38,23	0,00
Material biológico x Estación	97,76	9,00	10,86	17,73	0,00
Error	14,71	24,00	0,61		

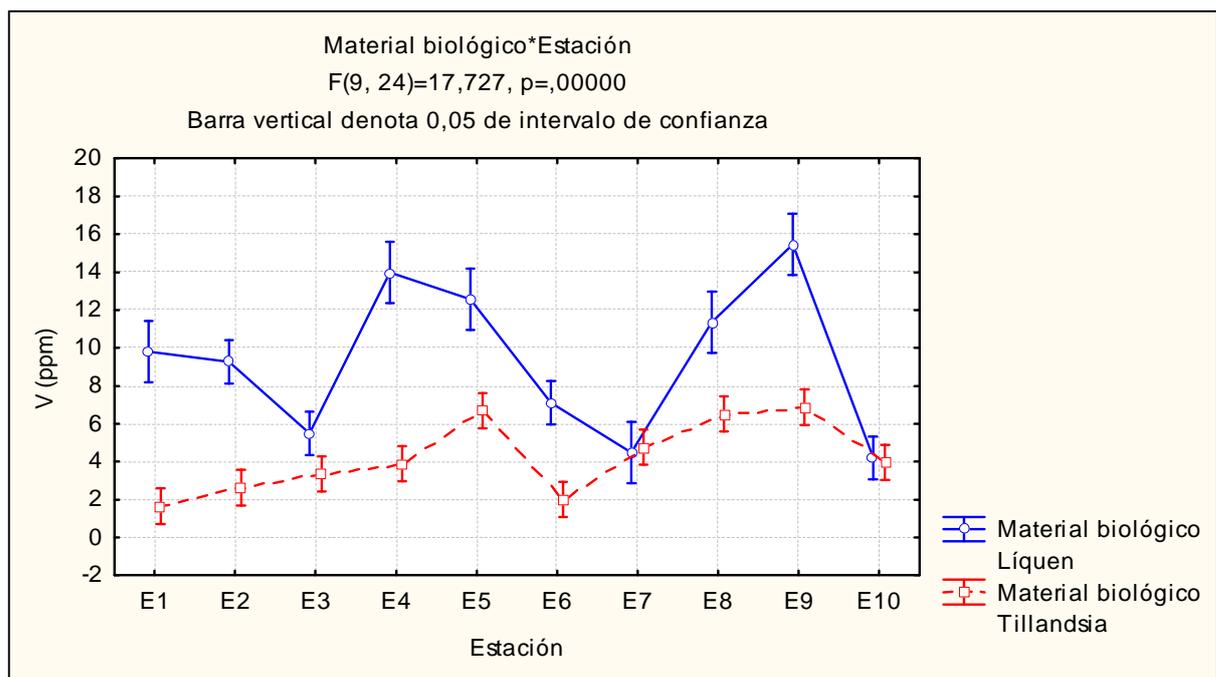


Fig. 26. Gráfico de Errores Estándar para vanadio

En la figura 26 la mayor concentración de vanadio puede apreciarse en *Pyxine sp.* respecto a las *Tillandsias recurvata*, por lo que este líquen es más eficiente en la acumulación de este metal. Existen diferencias estadísticas con un $P < 0,05$ (ver tabla 13). Puede observarse que el V sigue una tendencia irregular en toda la transecta. Con mínimas concentraciones en



E3, E7 y E10 (6 a 5 $\mu\text{g/g}$) y mayores en E9 (15 $\mu\text{g/g}$) para líquenes. Para las tillandsias las menores concentraciones se consiguen en E1 y E6 (2 $\mu\text{g/g}$) y mayores en E6, E8 y E9 (7 $\mu\text{g/g}$). Estos valores anómalos no esperados pueden deber su origen a una mayor vejez en el material biológico en algunos puntos de la transecta, el cual pudo acumular por mas tiempo vanadio. Por otra parte, este caso puede ser comparable con el análisis de cobre al observar una tendencia similar a la del vanadio.

ZINC

Tabla 14. Resultados de Análisis de la Varianza de dos vías para zinc

Zn	Sumatoria de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	P
Efecto					
Material biológico	126741,52	1,00	126741,52	367,15	0,00
Estación	99222,59	9,00	11024,73	31,94	0,00
Material biológico*Estación	89695,42	9,00	9966,16	28,87	0,00
Error	8284,85	24,00	345,20		

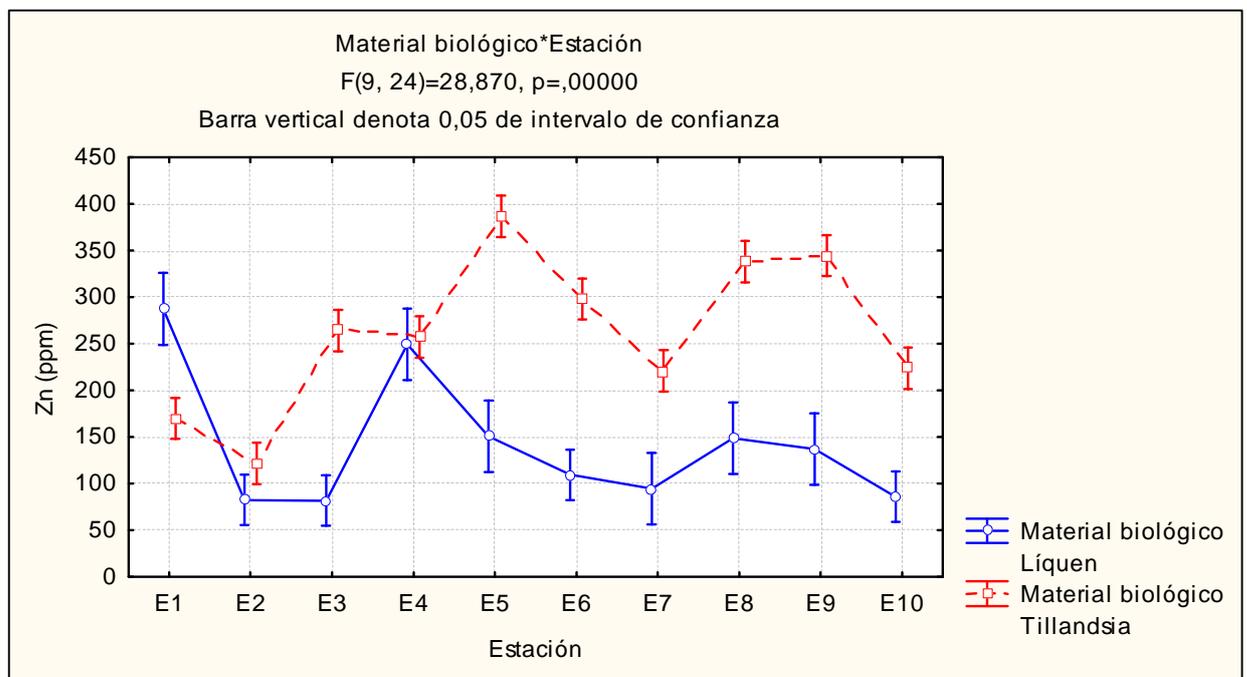


Fig. 27. Gráfico de Errores Estándar para zinc



En esta figura 27 es apreciable que el zinc es acumulado eficientemente por la *Tillandsia recurvata* en comparación con *Pyxine sp.* Sin embargo, en E1 puede apreciarse que el *Pyxine sp.* presenta una concentración de zinc mayor que en *Tillandsia recurvata*. En la tabla 14 puede observarse las diferencias estadísticamente significativas con un $P < 0,05$. Por otra parte, las mayores concentraciones están ubicadas en E1 con aproximadamente $280 \mu\text{g/g}$, mientras que para las tillandsias oscilan alrededor de $400 \mu\text{g/g}$ en E5.

6.6.- Análisis de perfiles por elemento

Para un 95% de intervalo de confianza los residuales que estén entre -1,96 y 1,96 están dentro de los valores cuyas diferencias entre observados y esperados no son significativas. Esto puede apreciarse con los gráficos que se muestran a continuación.

6.6.1.- Análisis de perfiles para líquenes *Pyxine sp.*

CROMO

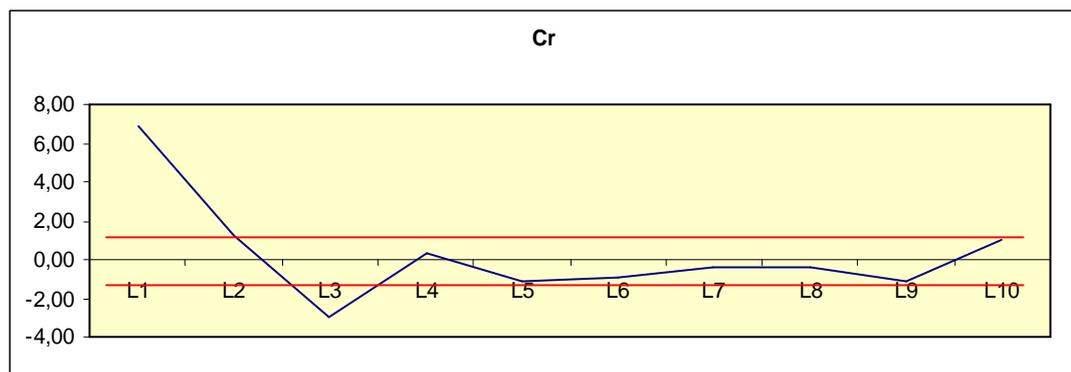


Fig.28. Gráfico de Análisis de Perfil para cromo

La figura 28 presenta la heterogeneidad del Cr a lo largo de la transecta, especialmente en las L1, L2, L3, L4, L9 y L10. Para L1 y L3, los residuales están fuera del rango de valores esperados, lo que permite inferir que para E1 existe una concentración alta de Cr y para E3 la



concentración es baja (ver residuales en apéndice 8). Esto significa que es posible que los mecanismos de adsorción del cromo en los tejidos del líquen para esas localidades fueron más eficientes para la E1 respecto a la E3.

COBRE

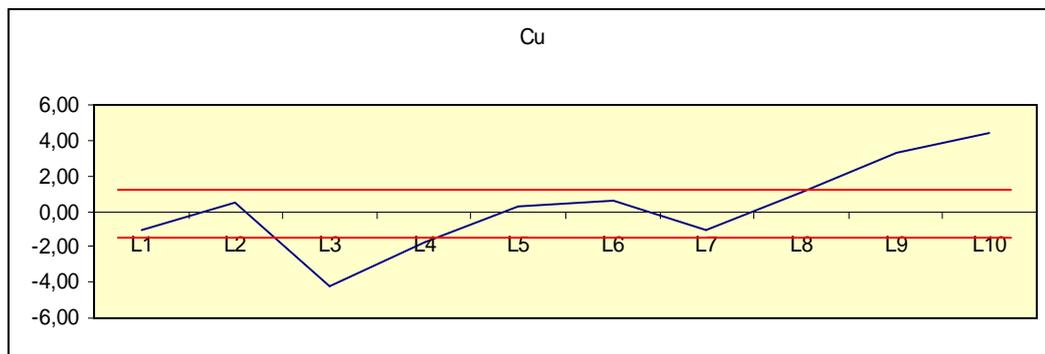


Fig. 29. Gráfico de Análisis de Perfil para cobre

En la figura 29 puede apreciarse que existe una variación significativa de cobre a lo largo de la transecta. Los residuales de L3, L9 y L10 están fuera del rango de valores esperados, lo que permite interpretar que los procesos de adsorción en *Pyxine sp.* en L3 dieron origen a una concentración de Cu baja mientras que para L9 y L10 las concentraciones fueron altas (ver tabla 3 y 4).

NIQUEL

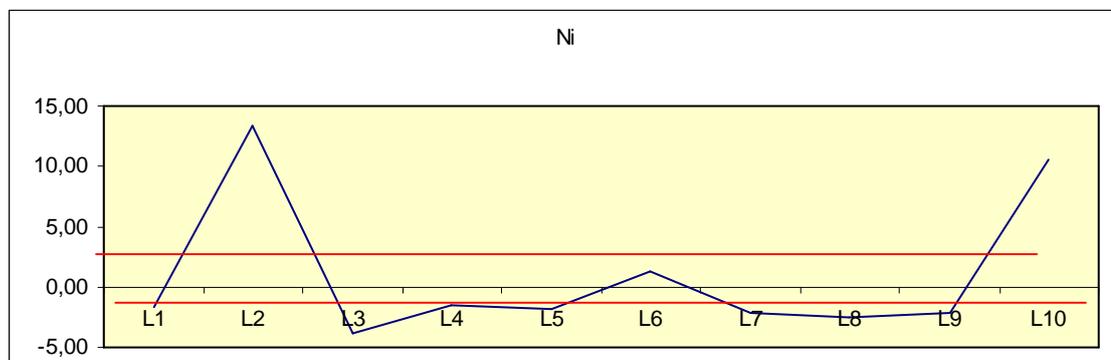


Fig. 30. Gráfico de Análisis de Perfil para níquel



Según el análisis de perfil de la figura 30 puede observarse una variación significativa de níquel a lo largo de la transecta. Para L2 y L10 las concentraciones de Ni son mas altas de los valores esperados, mientras que L3, L7, L8 y L9 presentan bajas concentraciones de Ni (ver tabla 3 y 4). Adicionalmente existe una alta concentración de vanadio en L2, el cual corresponde a la segunda zona de mayor altura (ver Fig. 26), y este elementos junto con el Ni vienen a ser constituyentes importantes en los combustibles de petróleo. Por otra parte, justamente en esta zona la concentración de plomo es baja según la Fig. 25, lo que puede indicar que ocurre un empobrecimiento relativo de este elemento durante los procesos de absorción de V y Ni en *Pyxine sp.* favorecidos a mayores alturas.

PLOMO

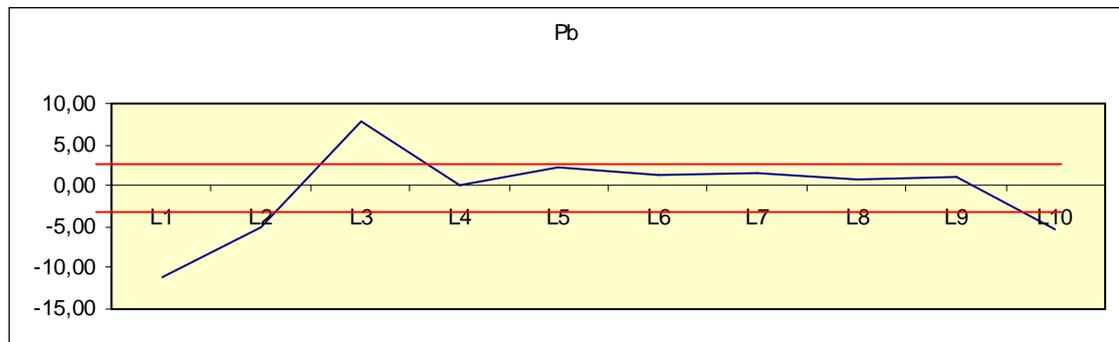


Fig. 31. Gráfico de Análisis de Perfil para plomo

El plomo representado en la figura 31 muestra una variación significativa a lo largo de la transecta. Para L1, L2 y L10 existen concentraciones bajas de plomo respecto a la zona de L3 donde existe una concentración mayor de plomo (esto es apreciable con los valores de los residuales esperados entre 1,96 a -1,96). Este exceso en concentración sólo ocurre en este elemento respecto al resto para la zona (L3), indicando que este elemento fue mayormente



adsorbido al resto de los elementos durante los procesos de adsorción de los metales dentro de la estructura de *Pyxine sp.*

VANADIO

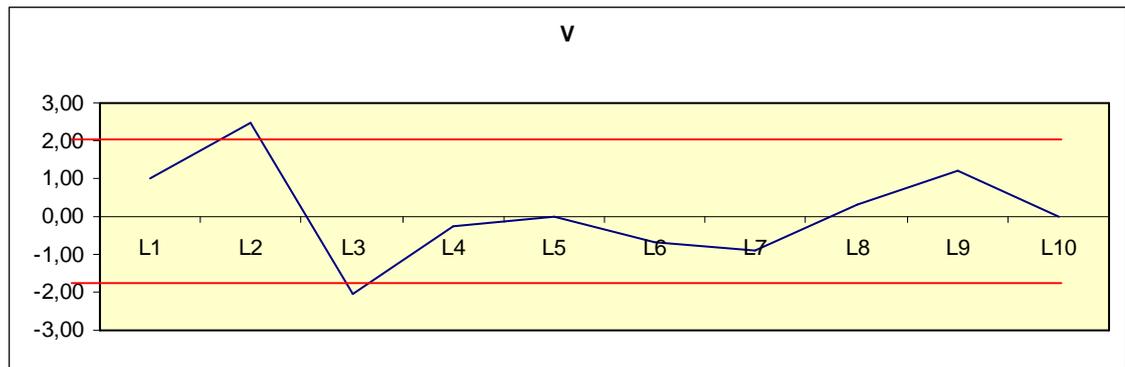


Fig. 32. Gráfico de Análisis de Perfil para vanadio

La concentración de vanadio observada en la figura 32, muestra la heterogeneidad del elemento a lo largo de la transecta, con los residuales fuera del rango de valores esperados para L2 y L3. Estos valores de L2 y L3 son indicativos de que existe una alta concentración de V en L2 y una baja concentración de V en L3.

ZINC

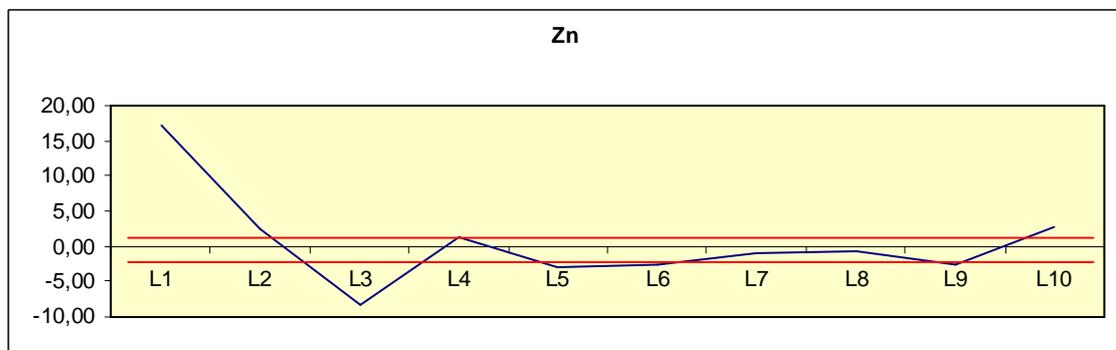


Fig. 33. Gráfico de Análisis de Perfil para zinc



En la figura 33 puede apreciarse una variación significativa de zinc en toda la transecta. Las zonas de L1, L2 y L10 presentan altas concentraciones del elemento (ver apéndice de residual). Para las zonas de L5, L6 y L9 existe bajas concentraciones del elemento. Estas variaciones en la transecta pueden deber su origen a los mecanismos de adsorción del elemento en el material biológico o al transporte de este elemento por masas de vientos.

6.6.2.- Análisis de perfiles para *Tillandsias recurvata*

CROMO

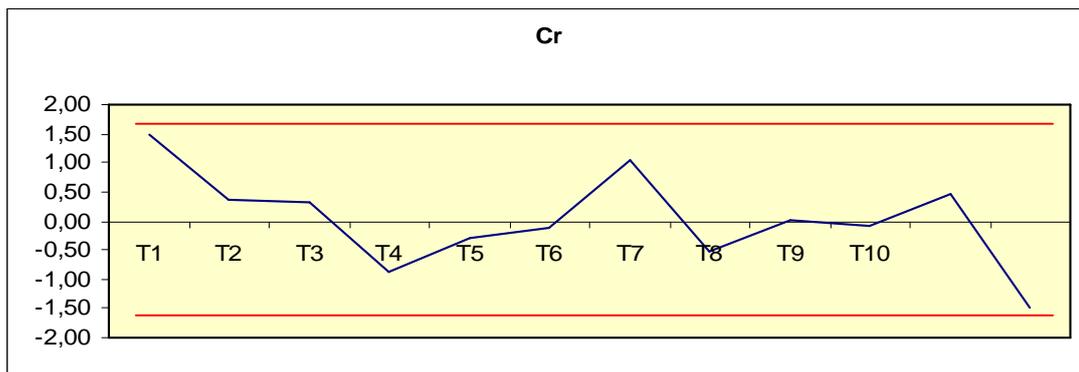


Fig. 34. Gráfico de Análisis de Perfil para cromo

En la figura 34 puede observarse una distribución del elemento con variaciones significativas a través de toda la transecta. Los valores de los residuales están comprendidos entre 1,96 a -1,96, el cual expresa que no existe exceso y deficiencia en las concentraciones de cromo en la zona de estudio.



COBRE

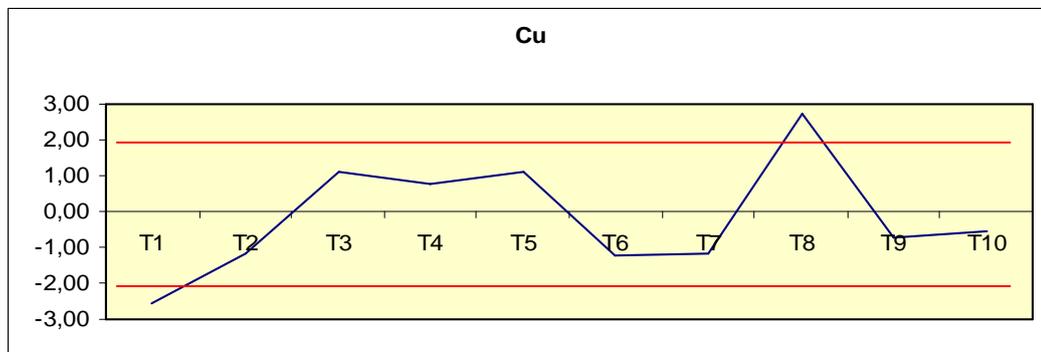


Fig. 35. Gráfico de Análisis de Perfil para cobre

La Figura 35 muestra la distribución del cobre a través de la transecta con variaciones distinguibles. Para ello, es observable una alta concentración en T8 y una baja concentración en T1, el cual es encontrado fuera del rango establecido para los residuales (1,96 a -1,96), debido a los procesos de adsorción de este metal en la estructura de la *Tillandsia recurvata*, que permitieron una mayor acumulación del metal en T8.

NIQUEL

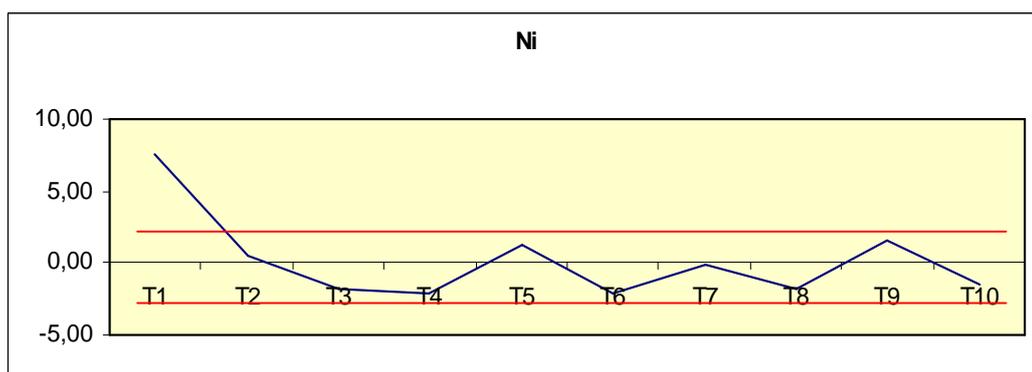


Fig. 36. Gráfico de Análisis de perfil para níquel



En la figura 36 es distinguible una alta concentración de níquel en T1. Para el resto de las localidades no se observan diferencias apreciables en cuanto a la distribución de este elemento.

PLOMO

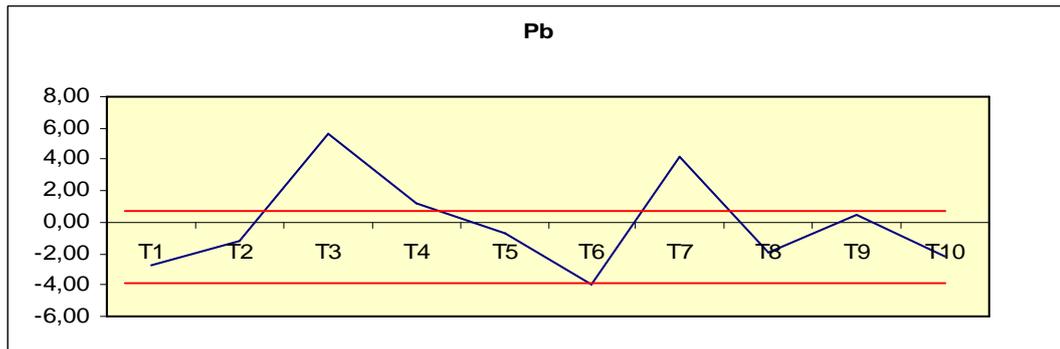


Fig. 37. Gráfico de Análisis de perfil para plomo

En la figura 37 puede observarse como el plomo varía a lo largo de toda la transecta. Las mayores concentraciones de este elemento están ubicadas en las localidades T3 y T7; mientras que las menores concentraciones están en T1, T6 y T10. Por otra parte, al comparar T3 y T6 del plomo con respecto al Zinc, es apreciable que en T3 existe un exceso de plomo mientras que para T6 hay una baja concentración de plomo, y caso contrario ocurre en zinc (en T3 y T6). Esto puede interpretarse a un posible enriquecimiento relativo de Zn en T6 y una disminución relativa en T3, debida a la mayor o menor participación de este elemento en estas localidades por los mecanismos de intercambio catiónico en la estructura de las bromeliáceas.



VANADIO

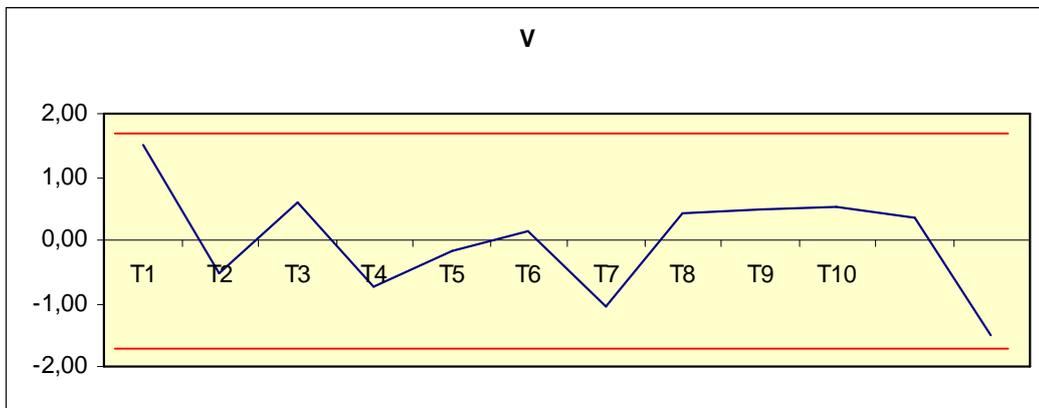


Fig. 38. Gráfico de Análisis de perfil para vanadio

Para esta figura 38 correspondiente al vanadio es apreciable como varían las concentraciones en toda la transecta, pero sin mayores y menores concentraciones significativas, tales que estén fuera del rango establecido por los residuales como se observa en la figura.

ZINC

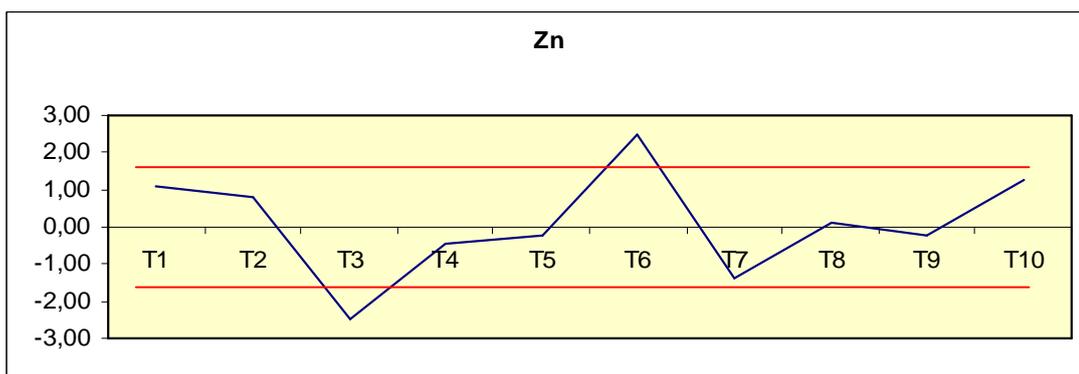


Fig. 39. Gráfico de Análisis de perfil para zinc



Para la figura 39 del Zinc, es apreciable una variación del elemento en toda la transecta, con mayores concentraciones en T6 y las menores en T3; el cual están fuera del rango establecido de los residuales.

6.7.- Concentraciones de los elementos en líquenes y bromeliáceas a lo largo de la transecta en la zona de estudio.

Las concentraciones de cada uno de los elementos determinados en líquenes y bromeliáceas (Tabla 3 y 4) siguen el siguiente orden Pb>Zn>Cu>Ni>Cr>V para líquenes *Pyxine sp.* y Zn>Pb>Cu>Cr>Ni>V para *Tillandsias recurvata*.

Las figuras correspondientes a los Gráficos de Errores Estándar y Análisis de Perfiles para líquenes anteriormente observadas muestran una distribución no uniforme de los metales pesados en toda la transecta. En general, los líquenes *Pyxine sp.* presentan una disminución en las concentraciones de los metales Cr, Cu, Pb y Zn en las estaciones E4-E7, correspondientes a las cercanías a calles y avenidas de Altamira, con un aumento en las estaciones 7 a la 9 y finaliza con un déficit en la estación 10.

Por su parte, las concentraciones de Cr, Cu, V, Zn en las *Tillandsia recurvata* aumentan de la estación 2 a la estación 5, pero disminuyen de la estación 5 a la 7, para volver a incrementar hasta la estación 9 y culminar con un déficit en la estación 10 (todas estas variaciones en las concentraciones de los elementos tanto en líquenes como en bromeliáceas aceptan la primera hipótesis propuesta en la presente investigación).

Es apreciable que a pesar de la influencia de las zonas de alto flujo vehicular, no fueron halladas las mayores concentraciones de algunos elementos en zonas como plaza Altamira (alto flujo de vehículos). Por ejemplo, las mayores concentraciones de elementos como Zn, Cr y Ni en *Pyxine sp.* están en los sitios de mayor altitud en El Ávila (alturas de



aproximadamente 1200 metros sobre nivel del mar) según los datos de altura obtenidos en campo (ver apéndice 5).

Las mayores concentraciones a 1200 m de altura de algunos elementos como Cr, Ni y Zn, pueden deber su origen según Doucet y Carignan (2001) a los vientos de convección en los valles que desempeñan un papel importante en cuanto a la distribución de metales pesados en la atmósfera en función de la altitud. Igualmente, se debería considerar el régimen de vientos para la época del año (Septiembre) en que fue efectuado el muestreo. Por ejemplo, según informe de MARN-PDVSA (2005), Caracas esta ubicada en una cuenca hidrográfica con un valle angosto, esta característica hace que el viento sea transportado hacia la dirección Este, además la mayor parte del tiempo las masas están calmadas, notando que en las tardes y temprano por las mañanas cuando el aire queda atrapado en la cuenca, es creada una inversión de capas.

Por lo tanto, el efecto de los vientos alisios de Caracas permite la circulación de los metales pesados en mayores o menores proporciones a lo largo de la transecta, es por ello que en algunas localidades no son encontradas las altas concentraciones de los metales, como es el caso de las zonas de alto flujo vehicular como calles y avenidas de Altamira.

En el trabajo de Villanueva, *et al.*; (2001) es posible esbozar algunas teorías respecto al incremento en la concentración en los sitios más altos. Una de ellas sería que probablemente por la temperatura del asfalto y de las emisiones provenientes de los vehículos, a partir de las cuales pueden expulsarse los elementos adsorbidos sobre partículas finas, produciendo en contacto con el ambiente, un fenómeno de inversión térmica que haría que el material particulado conteniendo los elementos, sea aerotransportado en altura. También influiría que las zonas estén rodeadas de edificios y construcciones en cantidad apreciable y que correspondan a sitios con árboles que por las características de su follaje, en conjunto,



conformen una especie de cúpula que podría actuar reteniendo las partículas a esa altura, tal es el caso para la zona estudiada. Así, las concentraciones perceptiblemente altas encontradas en las muestras de *Pyxine sp.* y *Tillandsias recurvata* podrían ser indicativas de la posibilidad de contaminación del metal pesado en la atmósfera como resultado de transporte a grande escala (global).

6.8.- Comparación de la bioacumulación de metales entre líquenes y bromeliáceas.

Los valores de probabilidad (P) observados en las tablas de los ANOVAS mostrados anteriormente para el Cr, Pb, V y Zn muestran diferencias estadísticamente significativas entre los materiales biológicos líquenes y bromeliáceas (estas diferencias acepta la segunda hipótesis planteada en la presente investigación) y las distintas localidades a lo largo de la transecta. Esto puede deberse a que el líquen y la bromeliácea presentan distintas respuestas antes los efectos de contaminación atmosférica, acumulando metales pesados de manera diferente, debido a la capacidad de intercambio iónico de cada especie (Bedregal, *et al*; 1994). Por su parte, la variación de las concentraciones de los metales pesados en las localidades, pueden deber su origen al cambio de altitud en el área de estudio, el cual está influenciado por las condiciones meteorológicas de la zona.

El Ni no presenta diferencias estadísticamente significativas entre las localidades y entre materiales biológicos; y el Cu no las presenta entre materiales biológicos. Esto puede deberse a la respuesta similar de ambos materiales ante la presencia de contaminantes, el cual pueden presentar igual adsorción para el Ni. Así mismo, puede establecerse que existe poca influencia directa de las variables de estudio (material biológico y localidad) sobre la concentración de estos elementos.



Según el análisis de componentes principales (Fig. 40) los líquenes tienden acumular eficientemente los metales Cu, Ni, Pb y V mientras que en *Tillandsias recurvata* los metales Cr y Zn. Esto puede deberse a la asociación preferencial de cada material biológico sobre ciertos cationes de cada metal, ocupando los sitios activos de las paredes celulares de los organismos. Sin embargo, en algunas casos como en la estación 1 de la Fig. 43 del cromo, la concentración es mayor a la esperada, esto puede deberse al efecto de los vientos alisios de Caracas que permiten la circulación de los metales pesados a mayores alturas.

El cromo puede originarse de mezcla de fuentes, este elemento es empleado como (Cr^{3+}) y (Cr^{6+}) en industrias química y metalúrgica, también puede proceder de los vehículos automotores, estando presente en la atmósfera (Dixit, *et al.*, 2002). El Cr es un elemento poco transportado en las plantas, como se ha demostrado para las plantas cultivadas (Adriano, 2001) en la que se mantuvo principalmente en la raíz y se transportaron poco a las hojas, lo que corrobora que este elemento está presente en las hojas de las bromeliáceas debido a la influencia de las partículas del aire en este material biológico (*Tillandsia recurvata*).

Las concentraciones de Ni y V son consecuencias de las emisiones provenientes de los vehículos que utilizan la gasolina, así como por la abrasión y corrosión de Ni de los motores de los vehículos. (Al-Shayeb 2001). La fuente de cobre en el polvo de la calle se atribuye a la corrosión de las partes metálicas de los automóviles y como al desgaste de los motores (Al-Khashman y Shawabkeh, 2006).

El zinc es un elemento esencial en todos los organismos y es considerado un factor importante en la biosíntesis de las enzimas y proteínas. El alto contenido de zinc en las hojas y las raíces de las bromeliáceas (Ver tabla 3 y 4) pueden deberse a las emisiones vehiculares; pudiendo ocasionar con el tiempo la pérdida de la producción de alimentos (Celik *et al.*, 2005).



En muchas especies de líquenes, ha sido observado que el Pb^{2+} es acomplejado principalmente en la pared celular de estas especies (Kramer y col., 1996). El aumento del contenido de Pb en líquenes (ver tabla 3) podría ser debido a la alteración de la membrana celular del líquen promovido por los contaminantes del aire. La alta concentración de plomo, es posible conseguirla en el tejido de *Pyxine sp.* debido a que estos organismos son capaces concentrar/acumular los elementos metálicos en períodos de varios años (Simonetti, *et al.*; 2003).

En otra investigación Carreras (2007) fue encontrado que el Cu^{2+} es uno de los iones más dañino, el cual altera la estructura de la pared celular causando una pérdida selectiva de permeabilidad. Cuando el Cu^{+2} entra en el citoplasma, genera una serie de procesos degenerativos que probablemente causen alteraciones severas en diferentes procesos metabólicos tales como la fotosíntesis o mecanismos oxidativos.

Por otra parte, Ekmekyapar, *et al.*; (2006) observaron que debido al aumento en el número de iones que compiten por la disposición de sitios activos y también a causa de la falta de sitios activos en los líquenes, a mayor concentración de metales, ciertos iones metálicos pueden ser mejores absorbidos en el tejido del líquen permitiendo altas concentraciones de ciertos cationes. Los autores sugieren que Pb^{+2} pueden formar un complejo más estable en los sitios de unión de la pared celular del líquen lo que impide que cationes como por ejemplo el Cu^{+2} sean mejores absorbidos. Este caso es típico en el presente estudio, donde el Pb esta en altas concentraciones tanto en líquenes como en bromeliáceas.

Virad, *et al.*; (2004) han establecido que en una zona cerca a una autopista en Francia, la concentración de los metales están en el orden decreciente $[Zn] > [Pb]$ en bromeliáceas, tal es el caso para esta investigación, donde Zn presenta altas concentraciones en las



bromeliáceas (ver tabla 4). Por otra parte, es posible que estos metales se enriquezcan en los suelos de zonas urbanas de manera que son emitidos a la atmósfera. Estos suelos pasan a ser receptores de grandes cantidades de metales pesados procedentes de una variedad de fuentes incluyendo las emisiones de los vehículos, la quema de residuos y otras actividades (Manta, et al. 2002).

6.9.- ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES

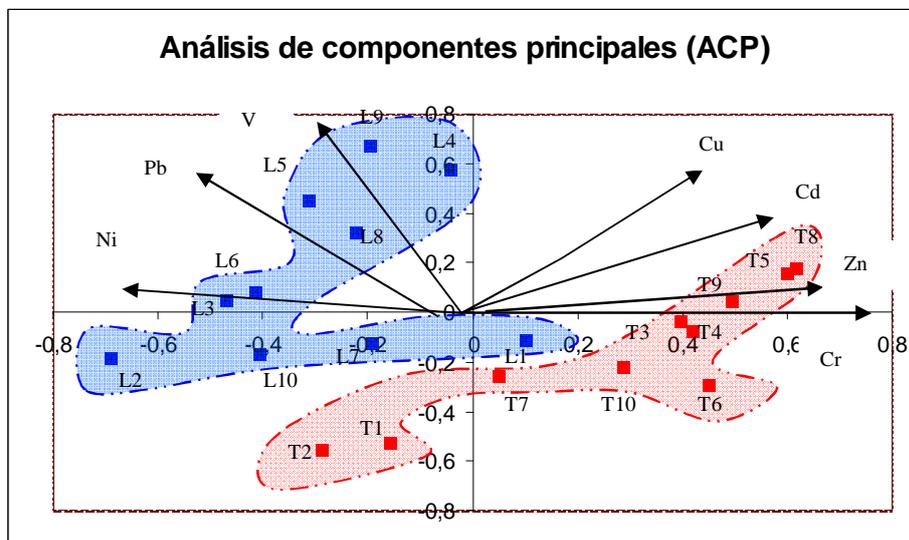


Fig. 40. Análisis de Componentes Principales

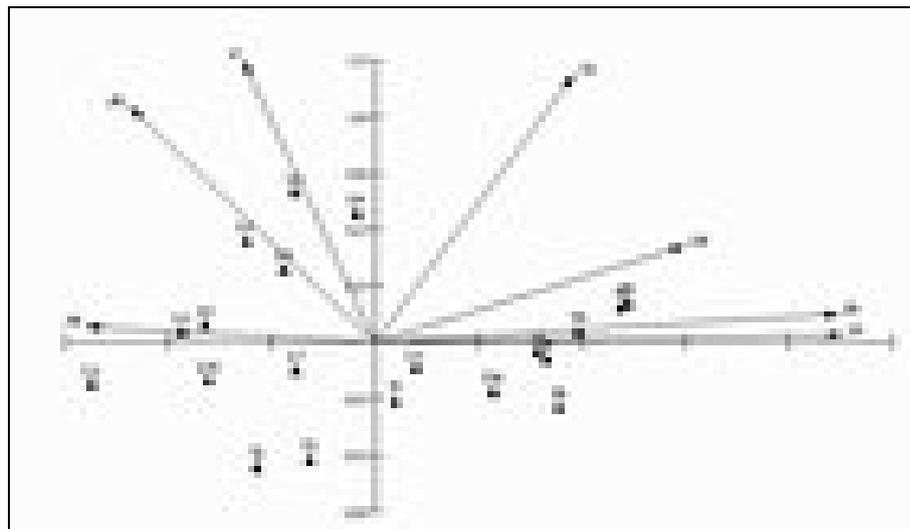


Fig. 41. Análisis de Componentes Principales



La fig. 40 o fig. 41 representa el análisis de componentes principales, el cual fue realizado para estimar el comportamiento de los elementos a lo largo de la transecta como un conjunto. Por lo observado los líquenes (distribución ubicada en la parte superior del gráfico) son mas eficientes en la acumulación de los elementos Cu, Pb, V y Ni, mientras que las *Tillandsias recurvata* (distribución ubicada en la parte inferior del gráfico) son mas eficientes para los elementos Cr, Cu y Zn.

Además, en la fig. 41 para las *Tillandsias recurvata* puede establecerse que en las localidades T3, T4, T5, T6, T8 y T9 (cercanas a las zonas de alto flujo vehicular) existe un comportamiento dominado por Cr y Zn, debido posiblemente a la baja concentración de otros elementos que hacen que estos sean enriquecidos. Por su parte, para los líquenes, específicamente en las localidades L3, L5, L6, L8 y L9 (cercanas a las zonas de mayor flujo vehicular) el comportamiento esta dominado por los elementos Pb, V y Ni.

6.10.- ANÁLISIS DE CLUSTER

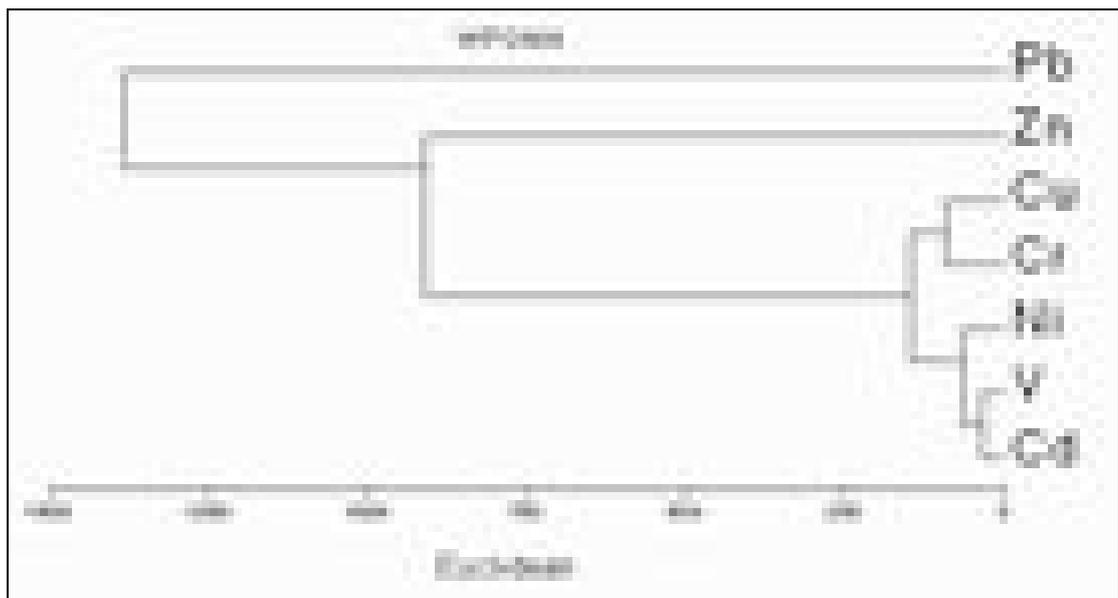


Fig. 42. Gráfico de Análisis de Clúster



Mediante este análisis puede confirmarse los resultados obtenidos por el Análisis de Componentes Principales. Este análisis separa las localidades en dos grandes grupos como se muestra en la fig. 42. Un primer grupo que corresponde a las localidades que presentan mayor concentración de metales pesados Pb y Zn, y un segundo grupo que representa las localidades con menor acumulación de los metales pesados Cu, Cr, Ni, V, Cd. En términos generales el orden decreciente de las mayores concentraciones de los metales es Pb>Zn>Cu>Cr>Ni>V>Cd.

6.11- Comparación de la concentración de los metales Cr, Cu, Ni, Pb, V y Zn líquenes *Pyxine* en un estudio para el año 2006 en la ciudad de Caracas.

A continuación son presentadas las comparaciones de líquenes *Pyxine sp.* aplicado en esta investigación respecto a otro estudio en años anteriores (estas comparaciones aceptan la tercera hipótesis planteada en el presente estudio).

Tabla 15. Comparación del líquenes *Pyxine sp.* aplicada para el año 2006 en la ciudad de Caracas (según Quijada, 2006) respecto a la de esta investigación.

Elemento	Año 2006 ($\mu\text{g/g}$)	Año 2008 ($\mu\text{g/g}$)	% incremento o disminución
Cr	15,44	18,96	22,80
Cu	31,30	39,79	27,12
Ni	13,36	17,47	30,76
Pb	378,1	414,4	9,604
V	11,59	9,370	-19,15
Zn	105,7	143,0	35,28

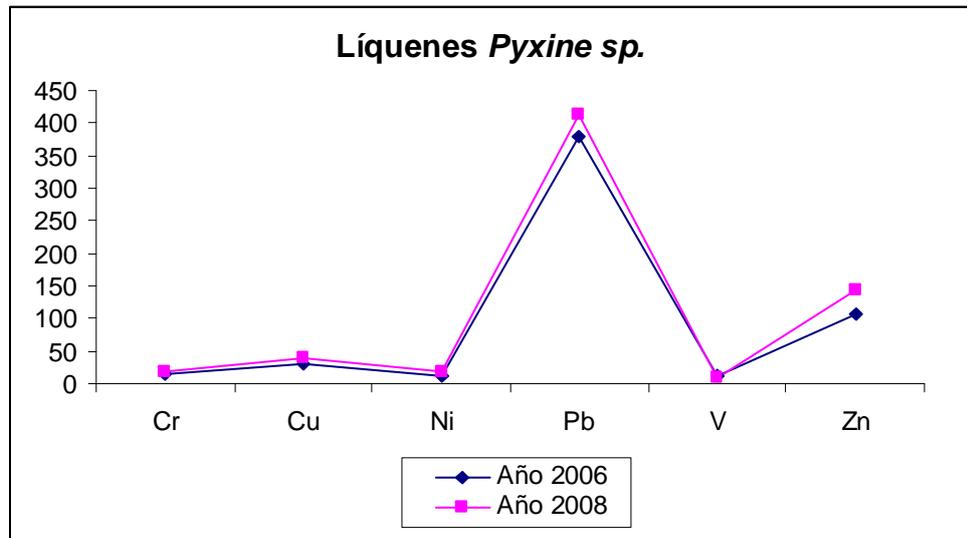


Fig. 43. Gráfico de comparación de líquenes *Pyxine sp.* para el año 2006 y 2008

En la Fig. 42 y tabla 15 es apreciable como ocurre un incremento no mayor al 40% en las concentraciones de los metales Cr, Cu, Ni, Pb y Zn en *L. Pyxine* para el año 2008 respecto al año 2006. Esto pudiera expresar hipotéticamente que en el tiempo ha ocurrido una mayor emisión de metales en la ciudad de Caracas; posiblemente por el incremento del parque automotor. Por otra parte, la concentración menor de V para el año 2006 respecto al presente estudio, puede deber su origen a los procesos de absorción de los cationes, el cual es menos eficiente en la fijación del V en el tejido del líquen. También puede deberse a un enriquecimiento relativo de otros cationes, que provocan una disminución relativa en la concentración de vanadio.



6.12.- Comparación de la concentración de Pb en *Tillandsia recurvata* con un estudio para el año 1976 en la ciudad de Caracas.

Tabla 16. Concentración de Pb según Tugues (1976)

Nº de réplica	Pb $\mu\text{g/g}$ (Tugues)	Pb $\mu\text{g/g}$ (presente estudio)
Réplica 1	480,50	155,59
Réplica 2	556,00	163,19
Réplica 3	510,40	----
Promedio	515,63 \pm 38,02	159,39 \pm 63,42

Según la tabla 16 la concentración máxima de plomo en *Tillandsias recurvata* en el presente estudio fue de $159,39 \pm 63,42 \mu\text{g/g}$, respecto a lo observado en el trabajo de Tugues, donde la concentración fue de $515,63 \pm 38,02$. Esto puede deberse a los combustibles sin plomo que actualmente son usados por los vehículos en la ciudad de Caracas.



CONCLUSIONES

1. Las concentraciones máximas y mínimas en $\mu\text{g/g}$ para líquenes *Pyxine sp.* a lo largo de la transecta para cada elemento fueron Cr (40,33-10,93), Cu (70,77-19,95), Ni (45,26-4,70), Pb (760,71- 112,44), V (15,46- 4,20) y Zn (287,60- 81,89).
2. Las concentraciones máximas y mínimas en $\mu\text{g/g}$ para *Tillandsias recurvata* a lo largo de la transecta para cada elemento fueron Cr (56,16-17,73), Cu (67,89-10,46), Ni (18,18-0,77), Pb (122,84-21,07), V (6,68-1,66) y Zn (387,21-121,97).
3. Las altas concentraciones a grandes altitudes de algunos elementos determinados como Cr (40,33 $\mu\text{g/g}$), Ni (45,26 $\mu\text{g/g}$) y Zn (287,60 $\mu\text{g/g}$), pueden deberse a los vientos predominantes en Caracas que desempeñan un papel importante en cuanto a la distribución de metales pesados en la atmósfera en función de la altura.
4. El Análisis de Varianza indicó diferencias estadísticamente significativas con un $P < 0,05$ en la acumulación de metales pesados entre líquenes *Pyxine sp.* y *Tillandsias recurvata sp.*
5. Los resultados sugieren que líquenes *Pyxine sp.* son más eficientes para acumular Pb, V y Ni, mientras que Cr, y Zn son acumulados preferencialmente en *Tillandsias recurvata*
6. Los elementos Cr, Cu, Ni, Pb, V y Zn, excepto vanadio determinados en el presente estudio empleando líquenes del género *Pyxine* incrementaron su concentración respecto al año 2006.
7. El uso del microondas digestor en el tratamiento químico de las muestras puede ser una alternativa viable para disolver las muestras debido al poco tiempo que este requiere para su tratamiento.



RECOMENDACIONES

1. Emplear otros materiales biológicos o especies diferentes a líquenes *Pyxine sp.* y *Tillandsia recurvata*, que permitan optimizar el organismos más idóneo en estudios de la evaluación de la calidad del aire no solo para metales pesados sino de otros contaminantes tales como ozono , óxidos de nitrógeno, monóxido de carbono , entre otros.
2. Emplear equipos digestores basados en microondas en el tratamiento químico de este tipo de muestras ambientales puede ser una alternativa viable para las muestras en términos de eficiencia.
3. Por otra parte, es importante destacar que hasta los momentos la validación de la metodología con *Tillandsia recurvata* no es posible debido a la falta de un material certificado en Venezuela que lo permita.



8.- REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Adamo, P; Bargagli, R; Giordano, S; Modenesi, P; Monaci, F, Pittao, E; Spagnuolo, V; Tretiach, M; 2008. Natural and pre-treatments induced variability in the chemical composition and morphology of lichens and mosses selected for active monitoring of airborne elements. *Environmental Pollution* 152: 11-19.
2. Adriano, D.C., 2001. Trace Elements in Terrestrial Environments: Biogeochemistry, Bioavailability, and Risks of Metals, second ed. Springer-Verlag, Berlin.
3. Al-Khashman, O., Shawabkeh, R., 2006. Metal distribution in soils around the cement factory in southern Jordan. *Environmental Pollution* 140: 3876394.
4. Al-Shayeb, S.M., Seaward, M.R.D., 2001. Heavy metal content of roadside soils along ring road in Riyadh (Saudi Arabia). *Asian Journal of Chemistry* 13: 4076423.
5. Aznar, J; Richer- Lafléche, M; Cluis, D; 2008. Metal contamination in the lichen *Alectoria sarmentosa* near the copper smelter of Murdochville, Quebec. *Environmental Pollution* XX:1-6.
6. Baró, J. y Alemany, R. (2000): *Estadística II*. Ed. Fundació per a la Universitat Oberta de Catalunya. Barcelona.
7. Bedregal, P; Torres, B; Mendoza, P; Ubillús, M; Hurtado, J; Maza, I; Espinoza, R; 1994. El uso de *Usnea sp.* y *Tillandsia capillaris*, como Bioindicadores de la Contaminación Ambiental en la Ciudad de Lima, Perú. *Analysis in the Social Sciences* 37: 378-385.
8. Bettinelli, M; Perotti, M; Spezia, S; Baffi, C; Beone, M; Alberici, F; Bergonzi, S; Bettinelli, C, Cantarini, P; Mascetti, L; 2002. The role of analytical methods for the determination of trace elements in environmental biomonitors. *Microchemical Journal* 73: 1316152.
9. Branquinho, C. 2001. Lichens In: Metals in the environment: analysis by biodiversity. New York: Marcel Dekker pp. 117-158, 2001.
10. Brighigna, L; Papini, A; Mosti, S; Cornia, A; Bocchini, P; Galletti, G; 2002. The use of tropical bromeliads (*Tillandsia spp.*) for monitoring atmospheric pollution in the town of Florence, Italy. *Rev. Biol. Trop.* 50(2): 577-584.
11. Brighigna, L; Ravanelli, M; Minelli, A; Ercoli, L; 2002. The use of an epiphyte (*Tillandsia caput-medusae morren*) as bioindicator of air pollution in Costa Rica. *The Science of the Total Environment* 198: 175-180.
12. Carignan, J., Simonetti, A; Gariépy, C; 2002. Dispersal of atmospheric lead in northeastern North America as recorded by epiphytic lichens. *Atmospheric Environment* 36: 3759-3766.



13. Carreras, H.A., Pignata, M.L., 2002. Biomonitoring of heavy metals and air quality in Córdoba City, Argentina, using transplanted lichens. *Environmental Pollution* 117: 77-87.
14. Carreras, H; Wannaz, E; Pérez, C; Pignata, M ; 2005. The role of urban air pollutants on the performance of heavy metal accumulation in *Usnea amblyoclada*. *Environmental Research* 97: 50657.
15. Carreras, H, Pignata, M; 2008. Effects of the heavy metals Cu²⁺, Ni²⁺, Pb²⁺, and Zn²⁺ on some physiological parameters of the lichen *Usnea amblyoclada* Hebe. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 67: 59666.
16. Chaparro de V, M.L; Aguirre, J; 2002. Hongos liquenizados. Universidad Nacional de Colombia. Editorial El Malpensante S.A. Bogotá.
17. Díaz, J; 2008. Determinación de metales pesados (Cd, Cr, Cu, Ni, Ni, Pb, Zn y V) en líquenes y partículas atmosféricas (PM10), en la ciudad de Caracas. Universidad Central de Venezuela-Facultad de ciencias.
18. Dixit, V., Pandey, V., Shyam, R., 2002. Chromium ions inactivate electron transport and enhance superoxide generation in vivo in pea (*Pisum sativum* L. cv. Azad) root mitochondria. *Plant, Cell Environ.* 25, 6876693.
19. Doucet, F.J., Carignan, J., 2001. Atmospheric Pb isotopic composition and trace metal concentration as revealed by epiphytic lichens: an investigation related to two altitudinal sections in Eastern France. *Atmospheric Environment* 35. 3681-3690.
20. Ekmekyapar, F., Aslan, A., Kemal Bayhan, Y., Cakici, A., 2006. Biosorption of copper(II) by nonliving lichen biomass of *Cladonia rangiformis* hoffm. *J. Hazard. Mater.* (in press).
21. Figueiredo, A; Alcalá, A; Ticianulli, R; Domingos, M; Saiki, M; 2004. The use of *Tillandsia usneoides* L. as bioindicator of air pollution in São Paulo, Brazil. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* 259 No. 1: 59-63.
22. Fuga, A; Saiki, M; Marcelli, M; Saldiva, P; 2008 .Atmospheric pollutants monitoring by analysis of epiphytic lichens. *Environmental Pollution* 151: 334-340.
23. Ganadesikan, R.1977. Methods for Statistical Data Analysis of Multivariate Observations John Wiley & Sons, Inc., New York.
24. Garty, J., 2001. Biomonitoring atmospheric heavy metals with lichens: theory and application. *Critical Reviews in Plant Sciences* 20: 309-371.
25. Garty, J; Tomer, S; Levin, T; Lehr, H; 2003. Lichens as biomonitors around a coal-fired power station in Israel. *Environmental Research* 91: 1866198.



26. Godinho, R; Wolterbeek, H; Verburg, T; Freitas, M; 2008. Bioaccumulation behaviour of transplants of the lichen *Flavoparmelia caperata* in relation to total deposition at a polluted location in Portugal. *Environmental Pollution* 151: 218-325.
27. González, C. y Schmidt, E. (1971). Fundación para el desarrollo de la comunidad y fomento municipal (Foro sobre contaminación ambiental). Caracas.
28. Greenacre, M & Blasius J, 1994. Correspondence Analysis in the Social Sciences. Academic Press, London.
29. Hale, M. E. 1967. Lichen Handbook. A guide to the Lichen of Eastern North America. Smithsonian Institution Press, Washington, D.C., 1-178.
30. Hawksworth, DL; Iturriaga, T; Crespo, A; 2005. Líquenes como bioindicadores inmediatos de contaminación y cambios medio-ambientales en los trópicos. *Rev Iberoam Micol.* 71-82.
31. Jordi Riu, Ricard Boqué, Alicia Maroto, F. Xavier Rius, Técnicas de Laboratorio 254 (2000) 591-594.
32. Kramer, U., Cotter-Howells, J.D., Charnock, J.M., Baker, A.J.M., Andrew, C., Smith, J., 1996. Free histidine as a metal chelator in plants that accumulate nickel. *Nature* 379, 635-638.
33. Manta, D. S., Angelone, M., Bellanca, A., Neri, R., Sprovieri, M., 2002: Heavy metals in urban soils: a case study from the city of Palermo (Sicily), Italy, *Sci. Total Environ.* **300**, 229-243.
34. MARN-PDVSA., (2005). Informe de la calidad del aire en las principales ciudades de Venezuela (periodo enero- agosto). Dirección general de calidad ambiental. 47 pag.
35. Moreno, E.; Sánchez, A.; Hernández, J. (2007). Guía ilustrada de hongos liquenizados en Venezuela. Caracas: Fundación Instituto Botánico de Venezuela.
36. Nash, Thomas. *Lichen Biology*. Tercera Edición Cambridge University Press 1996. Pag 140.
37. Orozco, C.; Pérez, A.; González, N. y et al (2004). Contaminación Ambiental. (2a ed.). Madrid: Thomson.
38. Pignata, M; Gudin, G; Wannaz, E; Plá, R; González, C; Carreras, H; Orellana, L; 2002. Atmospheric quality and distribution of heavy metals in Argentina employing *Tillandsia capillaris* as a biomonitor. *Environmental Pollution* 120: 59-68.
39. Pignata, M. L., C. Albarrán, E. Els, R. R. Plá, R. C. Jasan, G. L. Gudiño & L. Orellana. 2003. Atmospheric quality in Argentina employing *Tillandsia capillaris* as biomonitor. In: International Atomic Energy Agency (IAEA) (Eds.) *Biomonitoring of atmospheric pollution*



(with emphasis on trace elements). BioMAP II. IAEA-TECDOC-1338. Viena, Austria. pp: 278-290.

40. Pyatt, F; Grattan, J; Lacy, D; Pyatt, A; Seaward, M; 1999. Comparative effectiveness of *tillandsia usneoides* l. and *parmotrema praesorediosum* (nyl.) hale as bio-indicators of atmospheric pollution in louisiana. (u.s.a.). *Environmental Pollution* 98: 317-326.

41. Poli_cnik , H; Simonci, P; Batic, F; 2008. Monitoring air quality with lichens: A comparison between mapping in forest sites and in open áreas. *Environmental Pollution* 151: 395-400.

42. Purvis, O.W., Chimonides, P; Jones, G; Mikhailova, I; Spiro, B; Weiss, D; Williamson, B; 2004. Lichen biomonitoring near Karabash Smelter Town, Ural Mountains, Russia, one of the most polluted areas in the world. *Proceedings of the Royal Society of London* 271: 221-226.

43. Quevauviller, Ph; Herzig, R; Muntau, H; 1996. Certified referent material of lichen (CRM 482) for the quality control of trace element biomonitoring. *The Science of the Total Environment* 187: 143-152.

44. Quijada, M; 2006. Líquenes como biomonitores de contaminación por metales pesados (Pb, Cu, Zn, Cd, Ni, V y Cr) en la ciudad de Caracas-Venezuela. Universidad Central de Venezuela-Facultad de ciencias.

45. Réquíz, M; 2006. Determinación de Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos utilizando líquenes como bioacumuladores en estudios de contaminación atmosférica en el área de la Ciudad de Caracas. Universidad Central de Venezuela-Facultad de ciencias.

46. Richardson, D.H.S. Pollution Monitoring with Lichens. Slough, England: Richmond Publishing. 1992.

47. Riddell, J; Nash, T; Padgett, P; 2008. The effect of HNO₃ gas on the lichen *Ramalina menziesii*. *Flora* 203: 47654.

48. Schrimpff Ernst, 1984. Air pollution patterns in two cities of Colombia, S. A. According to trace substances content of an epiphyte (*Tillandsia recurvata* L.). *Water, Air, & Soil Pollution* 26: 279-315.

49. Simonetti, A; Gariépy, C; Cargnan, J; 2003. Tracing sources of atmospheric pollution in western Canada using de Pb isotopic composition and heavy metal abundances of epiphytic lichens. *Atmospheric Environment* 37. 2853-2865.

50. Szaeapaniak K., Biziuk M. 2003. Aspects of the biomonitoring studies using mosses and lichens as indicators of metal pollution. *Environmental Research* 93. 221-230.

51. Tugues, J; 1976. Las plantas como indicadoras de plomo en la atmósfera. *Acta Botánica de Venezuela*. 107-173.

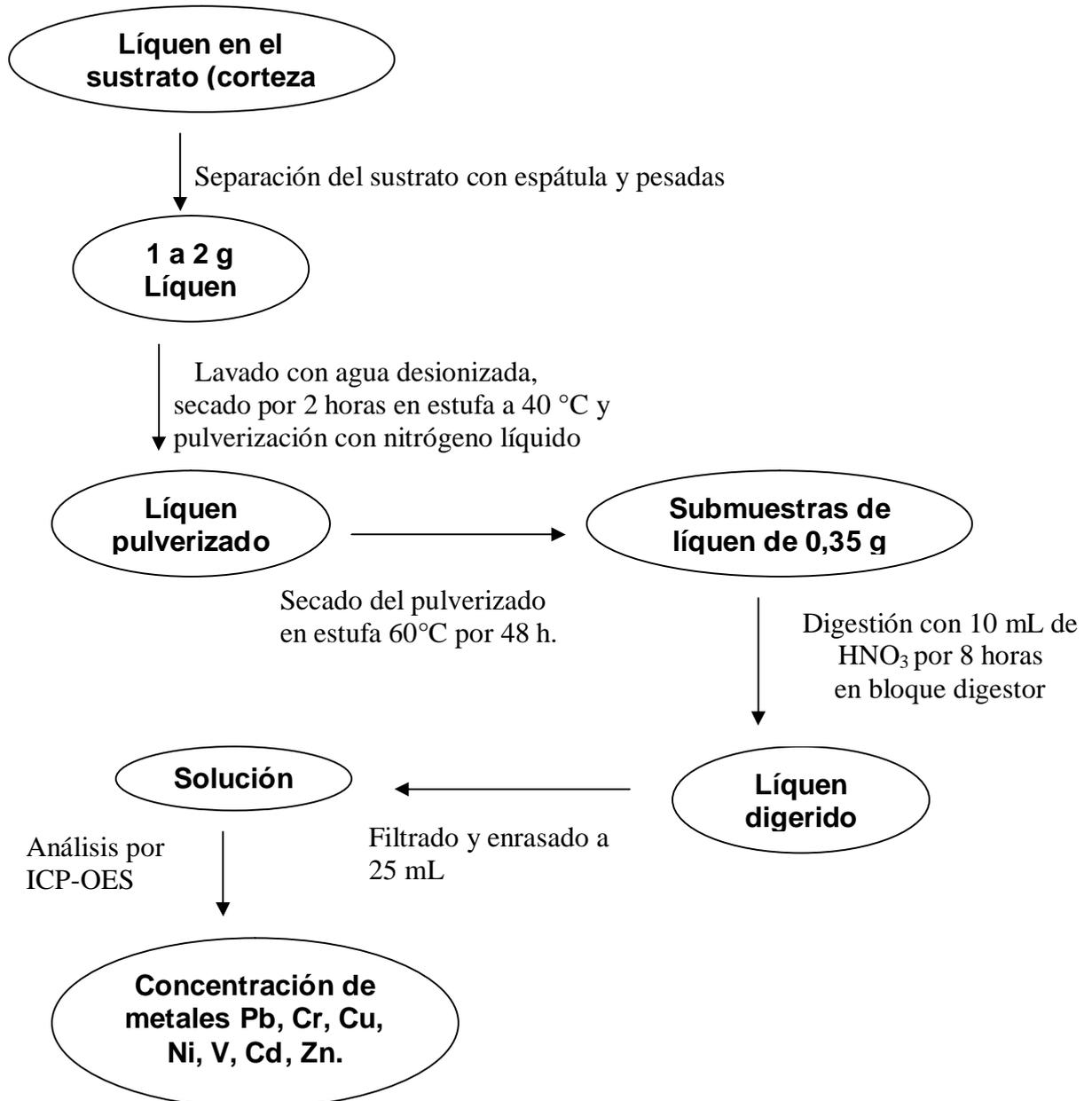


52. Vanloon, G.; y Duffy, S. (2000). *Environmental Chemistry a Global Perspective*. (1ª ed.). EE.UU.
53. Vareschi, V; Moreno, M; 1973. La contaminación en Caracas en los años 1953 y 1973. *Sociedad Venezolana de Ciencias Naturales*.
54. Vázquez, M; Gracias, J; Vaswani, J; Santana, J; Santana, F.; González, J; 2005. Líquenes del género *xanthoria* como indicadores biológicos en la bioacumulación de azufre en el sureste de Gran Canaria-España. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria.
55. Vareschi, V. 1953. Superficies de asimilación de sociedades vegetales de cordilleras tropicales y extratropicales. *Boletín de la Sociedad Venezolana de Ciencias Naturales*, 79:121-173.
56. Viard, B., Pihan, F., Promeprat, S. and Pihan, J. C., 2004: Integrated assessment of heavy metal (Pb, Zn, Cd) highway pollution: bioaccumulation in soil, Graminaceae and land snails, *Chemosphere*. 55, 134961359.
57. Vicéns, J; Herrarte, A; Medina, E. Análisis de la Varianza (ANOVA); 2005. Universidad Autónoma de Madrid. ISSN 1697-5731, Vol. 26, Nº 1. 285-286
58. Villanueva, Z; et al, 2001. Caracterización espacial de la concentración de plomo en asunción. Biomonitorio.
59. Villanueva, Z, et al; 2008. Calidad de aire en Asunción. Proyecto de cooperación técnica. 2008.
60. Vivas, Y; Holst, B; 2007. Simposio monocotiledóneas en Venezuela-Aspectos taxonómicos y de biodiversidad de la familia Bromeliaceae en Venezuela. Fundación Instituto Botánico de Venezuela, Jardín Botánico de Caracas, Apdo. 2156 Caracas-Venezuela.
61. Wannaz, E; Carreras, H; Pérez, C; Pignata, M; 2006. Assessment of heavy metal accumulation in two species of *Tillandsia* in relation to atmospheric emission sources in Argentina. *Science of the Total Environment* 361: 2676278.
62. Williamson, B.J, Mikhailova, I. & Purvis, O.W., (2004) .SEM-EDX analysis in the source apportionment of particulate matter on *Hypogymnia physodes* lichen transplants around the Cu smelter and former mining town of Karabash, South Urals, Russia. *The science of the total environment* (322), 1396154.



APENDICE N° 1

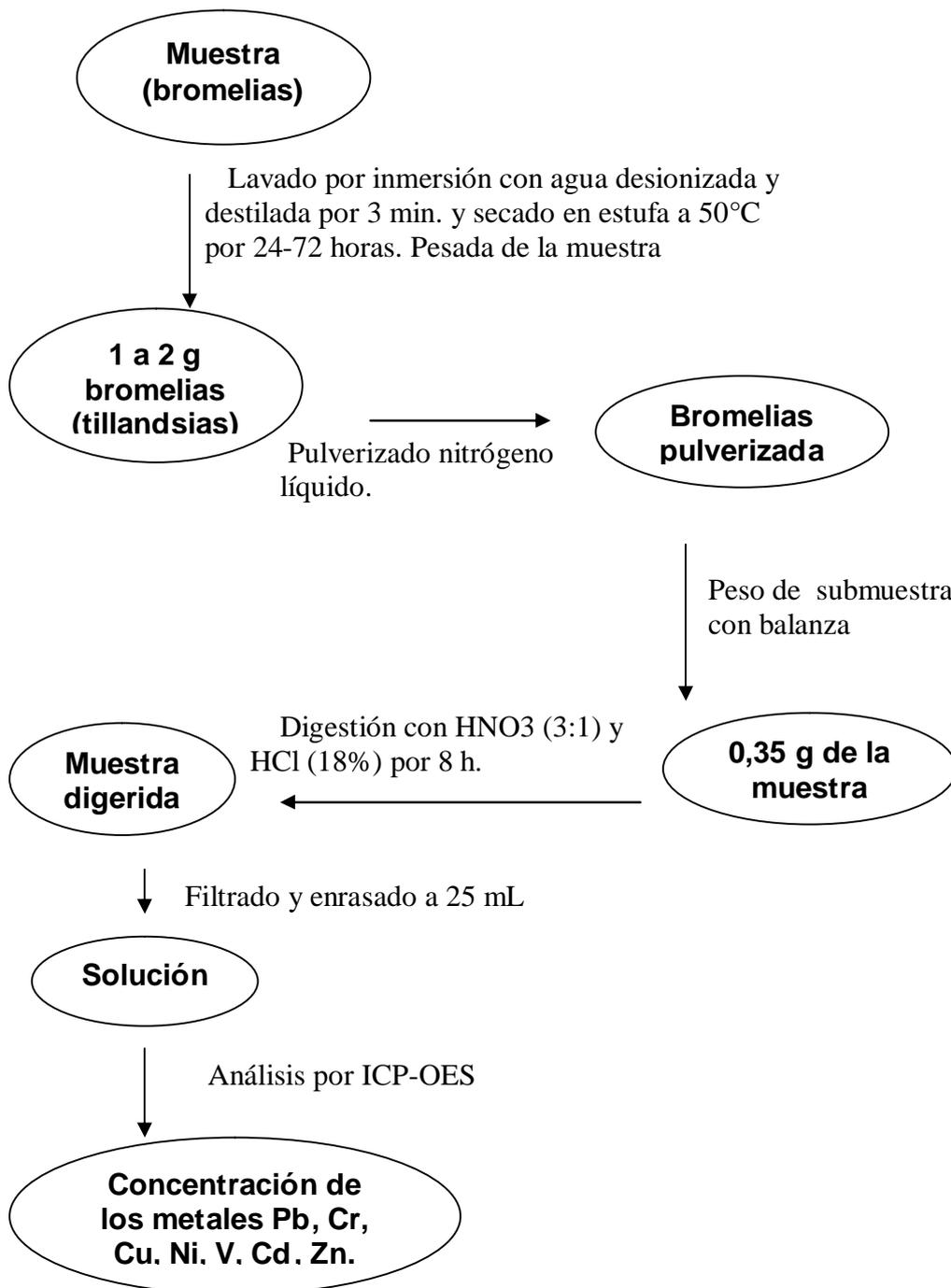
Tratamiento de los líquenes (*Pyxine*)





APENDICE N° 2

Tratamiento de las bromeliáceas (*Tillandsia recurvata*)





APENDICE N° 3

ESPECTROSCOPIA DE EMISION OPTICA CON PLAMAS ACOPLADO INDUCTIVAMENTE (ICP OES)

La espectroscopia de emisión óptica de plasma acoplado inductivamente (ICP-OES) se basa en la vaporización, disociación, ionización y excitación de los diferentes elementos químicos de una muestra en el interior de un plasma. Un plasma es un gas ionizado, eléctricamente neutro y confinado en un tubo de descarga. Es un estado de equilibrio entre partículas cargadas y neutras de un gas ionizado.

Durante el proceso de desexcitación de los átomos neutros e iones en el interior de un plasma, se producen las emisiones de radiación electromagnética en la zona del UV-visible. Estas radiaciones, características de cada elemento, se separan en función de su longitud de onda y finalmente se mide su intensidad. La selección de la longitud de onda nos permite determinar el metal cualitativamente, mientras que la intensidad de la radiación emitida nos proporcionará la información para poder cuantificarlo.

Un sistema de análisis elemental por espectroscopia con un plasma con fuente de excitación y atomización está constituido por:

- El plasma, que deberá reunir ciertas condiciones de temperatura, confinamiento, etc.
- El generador eléctrico, que aportará la energía externa al plasma que la disipará en forma térmica y radiante.
- El sistema de introducción de la muestra, que deberá permitir un eficaz aporte de la muestra al conjunto.



- El sistema de alimentación de gas, que asegure el funcionamiento del plasma, el transporte de la muestra, la formación del aerosol con la muestra y la refrigeración de la antorcha.
- El sistema óptico, que permitirá analizar el espectro emitido por el plasma.
- El sistema de tratamiento de la señal, que permitirá análisis cualitativo y cuantitativo a partir de las radiaciones emitidas.



Fig. 44. Espectrofotómetro ICP-OES (ICT)

VENTAJAS DE LA TÉCNICA ICP-OES

- Determinaciones cuantitativas y cualitativas.
- Muy rápido (1-2 minutos) para análisis multielementales simultáneos.
- Bajos límites de detección (0,2 ó 25 ng/mL) para la mayoría de los elementos.
- Curvas de calibración entre 4 ó 6 ordenes de magnitud.
- Disponible para la determinación simultánea de elementos mayoritario y trazas en una misma solución.
- Buena precisión (0,5 ó 1 %) y exactitud.
- Capaz de determinar sobre los 70 elementos.



- No presenta serios problemas analíticos cuando muestras inusuales son corridas en un programa analítico.
- Buena eficiencia para elementos difíciles de determinar por muchas otras técnicas (por ejemplo B, Be, S, p, Ti, V, REEs).
- Capaz de determinar pequeños tamaños de muestras y pequeño volúmenes de solución (0,01 g en 1 ó 2 mL).
- Libres de interferencias químicas y relativamente libres de otros efectos matrices.
- Fácil uso, buena calidad e inherente seguridad de instrumentación moderna.

DESVENTAJAS DE LA TÉCNICA ICP-OES

- La técnica es destructiva.
- Algunos elementos (Cs, y Rb) tienen muy pobre sensibilidad lo cual lo pre excluye de una determinación de rutina.
- Las interferencias espectrales limitan el intervalo de elementos trazas en muchos tipos de muestras.
- Los analitos son mejor determinados en solución (esto puede ser una ventaja en algunos casos).
- La preparación de la muestra puede tener un tiempo de consumo.
- Costo relativamente alto por cada corrida y alto costo de capital para sistema largamente simultáneo.

**Espectrómetro de Emisión Óptica con Plasma Inductivamente Acoplado del Instituto de
Ciencias de la Tierra-Facultad de Ciencias-UCV**



Las longitudes de ondas seleccionadas a través del programa IMAGE, en relación a las menores interferencias se anexan en la tabla 28.

Tabla 17. Longitudes de ondas del ICP-OES

Elemento	Cd	Cr	Cu	Ni	Pb	V	Zn
Longitud de onda (nm)	228.802	206.149	324.750	231.604	220.353	311.838	213.856

Especificaciones del instrumental utilizado

Fue empleado el espectrómetro de emisión óptica con plasma inductivamente acoplado del instituto de Ciencias de la Tierra (ICT), equipo de la casa HORIBA Jovin Yvon, de modelo ULTIMA 2. Las características del equipo son:

- Onda focal: 0,64 m
- Gas del plasma: argón
- Montaje óptico: Czerny Turner
- Potencia: 1000 W
- Flujo del gas: 13 L/min
- Nebulizador: 0,8 L/min
- Tipo de nebulizador: vidrio concéntrico
- Altura de lectura de visualización: 3 mm.



APENDICE N° 4. Tabla 18. Características de las muestras colectadas

Fecha	Muestra	Estación	Coordenadas	Característica del material biológico
16/09/2008	L-E1 T-E1	Cercanía a Quebrada Pajarito	N10°31'00"ö W66°50'55"ö	Líquenes de color verde y de textura irregular. Tillandsias de color gris claro. Recolección a una altura de aproximadamente 1200 metros sobre nivel del mar.
16/09/2008	L-E2 T-E2	Cercanía a Quebrada Quintero	N10°31'09"ö W66°50'51"ö	Líquenes color verde claro y de textura irregular. Tillandsias de color gris claro. Recolección a una altura aproximada de 1099 m sobre nivel del mar.
16/09/2008	L-E3 T-E3	Cercanía a Cota mil	N10°31'00"ö W66°51'07"ö	Líquenes de color verde claro y crustáceos. Tillandsias de color gris. Recolección a una altura de aproximadamente 1012 m sobre nivel del mar.
16/09/2008	L-E4 T-E4	Transversal 9 de segunda Av. Altamira	N10°30'45"ö W66°51'07"ö	Líquenes de color verde a blanco y crustáceos. Tillandsias color gris. Recolección a una altura de aproximadamente 998 m.
16/09/2008	L-E5 T-E5	Transversal 8 de Altamira	N10°30'38"ö W66°50'62"ö	Líquenes de color verde a blanco y crustáceos. Tillandsias grises oscuras. Recolección a una altura de aproximadamente 945 m.
16/09/2008	L-E6 T-E6	Transversal 7 de Altamira	N10°30'37"ö W66°50'60"ö	Líquenes de color verde a blanco y crustáceos. Tillandsias grises oscuras. Recolección a una altura de aproximadamente 938 m.
16/09/2008	L-E7 T-E7	Transversal 6 de Av. San Bosco de Altamira	N10°30'27"ö W66°50'58"ö	Líquenes de color verde a blanco y crustáceos. Tillandsias grises oscuras. Recolección a una altura de aproximadamente 915 m.
16/09/2008	L-E8 T-E8	Transversal 3 de Av. San Bosco de Altamira	N10°30'21"ö W66°50'54"ö	Líquenes de color verde a blanco y crustáceos. Tillandsias grises oscuras. Recolección a una altura de aproximadamente 900 m.
16/09/2008	L-E9 T-E9	Transversal 2 cercano a plaza Altamira	N10°30'07"ö W66°50'52"ö	Líquenes de color verde a blanco y crustáceos. Tillandsias grises oscuras. Recolección a una altura de aproximadamente 898 m.
16/09/2008	L-E10 T-E10	Plaza Altamira	N10°30'00"ö W66°50'50"ö	Líquenes de color verde a blanco y crustáceos. Tillandsias grises oscuras. Recolección a una altura de aproximadamente 890 m.



APENDICE N° 5. Ubicación de las estaciones en la zona de estudio

E = estación

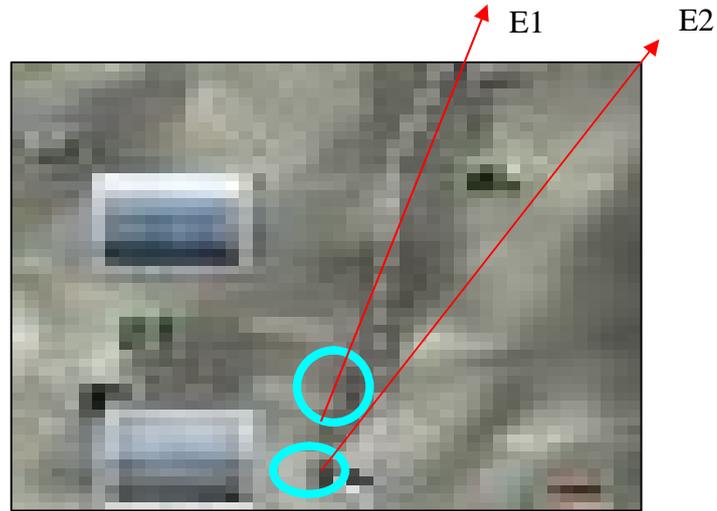


Imagen Google Earth

Fig. 45. Estación 1 y 2 (Cercanía a quebrada Quintero del Ávila-Caracas)

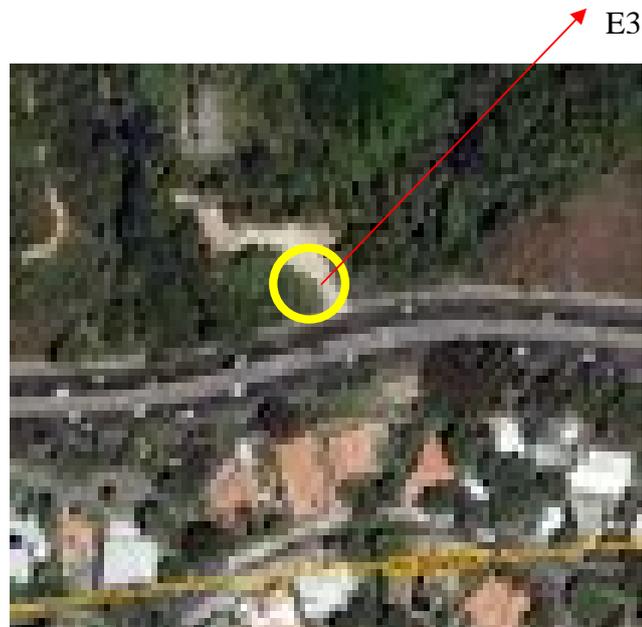


Imagen Google Earth

Fig. 46. Estación 3 (cercanía a Cota mil)



Imagen Google Earth

Fig. 47. Estación 4 (transversal 9 de segunda Av. de Altamira)



Imagen Google Earth

Fig. 48. Estación 5 y 6 (transversal 8 y 7 de Altamira)



Imagen Google Earth

Fig. 49. Estación 7 (transversal 6 de Altamira)

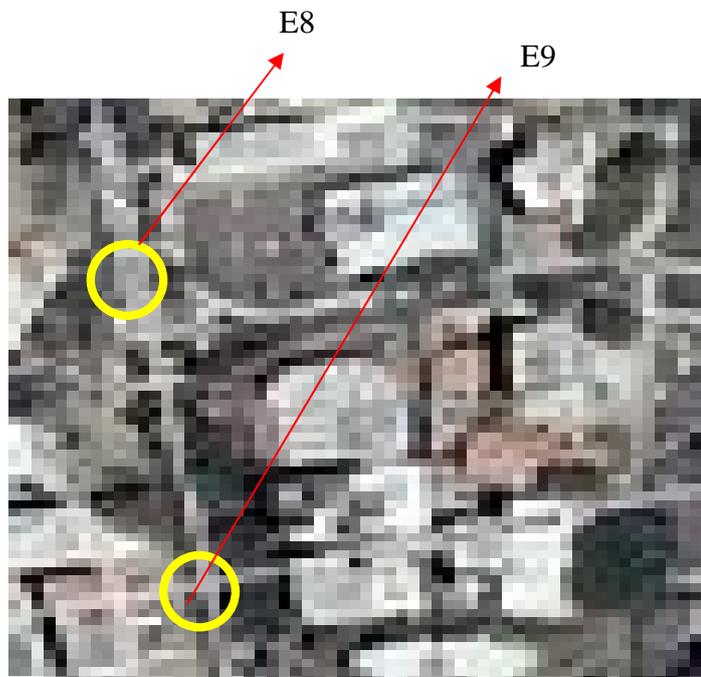


Imagen Google Earth

Fig. 50. Estación 8 y 9 (transversal 3 de Av. San Bosco de Altamira)

E10

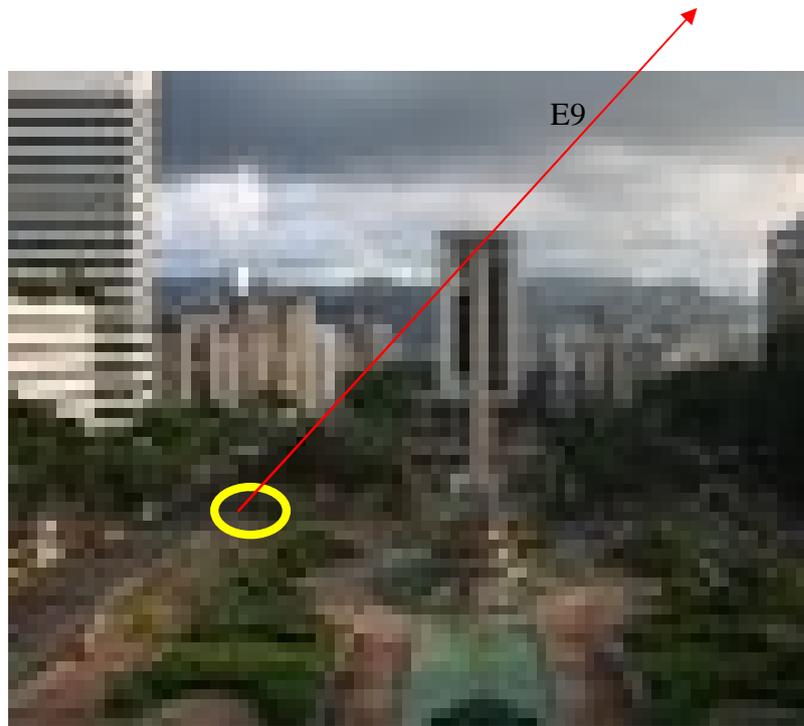


Imagen Google Earth

Fig. 51. Estación 10 (Plaza Altamira)

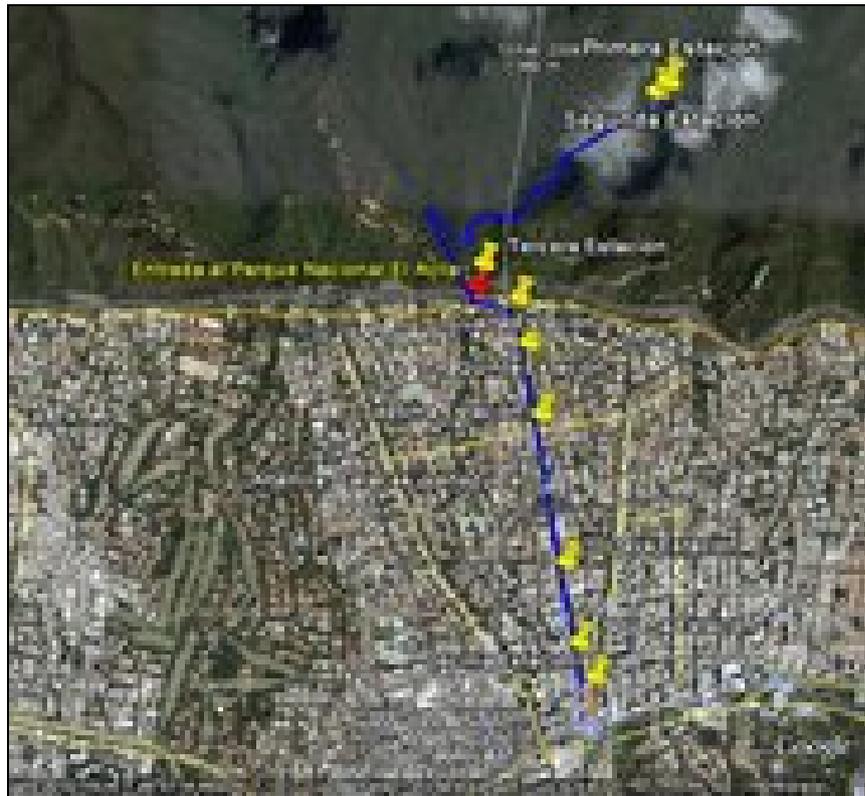


Fig. 52. Transecta de la zona de estudio vista desde frente (Imagen Google Earth)



Fig. 53. Transecta de la zona de estudio
(vista diagonal 1)
(Imagen Google Earth)

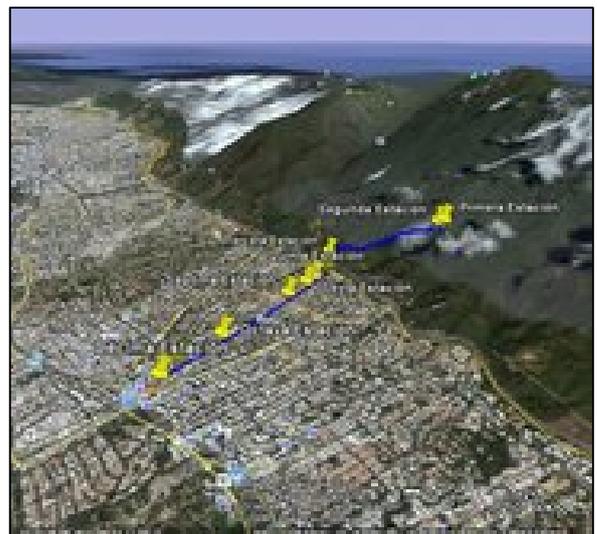


Fig. 54. Transecta de la zona de estudio
(vista diagonal 2)
(Imagen Google Earth)



APENDICE N° 6. CONCENTRACIONES DE METALES PESADOS EN LIQUENES Y BROMELIACEAS

CONCENTRACIONES EN LIQUENES

Tabla 19. Concentración de los elementos en líquenes en ($\mu\text{g/g}$)

nd = no detectado; Conc = concentración

Estación	Peso (g) \pm 0,0001g	Cd ($\mu\text{g/g}$)	Cr ($\mu\text{g/g}$)	Cu ($\mu\text{g/g}$)	Ni ($\mu\text{g/g}$)	Pb ($\mu\text{g/g}$)	V ($\mu\text{g/g}$)	Zn ($\mu\text{g/g}$)
E1	0,3157	nd	40,33	23,91	7,05	116,77	9,79	287,60
E2	0,5105	nd	11,77	15,54	10,21	118,37	8,85	81,98
E2	0,5115	nd	11,87	23,98	79,64	111,77	9,71	83,19
E3	0,5107	nd	10,31	23,07	4,57	753,73	4,00	78,47
E3	0,5109	nd	11,55	25,31	5,34	767,69	6,98	85,31
E4	0,383	nd	32,25	50,11	19,86	667,33	13,97	249,49
E5	0,3508	nd	19,60	55,22	14,24	610,91	12,57	150,65
E6	0,3518	nd	14,14	43,58	39,41	421,34	6,64	109,65
E6	0,3517	nd	14,92	41,80	4,92	442,74	7,58	109,56
E7	0,3514	nd	12,22	23,51	4,70	329,98	4,48	94,64
E8	0,3516	nd	18,88	50,93	8,19	473,20	11,35	148,90
E9	0,2405	nd	17,49	70,77	10,90	523,43	15,46	137,51
E10	0,3519	nd	12,32	40,40	69,90	118,52	4,74	91,63
E10	0,3518	nd	10,50	32,91	4,87	106,36	3,67	80,67

CONCENTRACION PROMEDIO POR ESTACION EN LIQUENES CON SUS RESPECTIVAS DESVIACIONES ESTANDARES

Tabla 20. Concentración promedio de los elementos en líquenes en ($\mu\text{g/mL}$)

nd = no detectado; Conc = concentración

Estación	Cd ($\mu\text{g/mL}$)	Cr ($\mu\text{g/mL}$)	Cu ($\mu\text{g/mL}$)	Ni ($\mu\text{g/mL}$)	Pb ($\mu\text{g/mL}$)	V ($\mu\text{g/mL}$)	Zn ($\mu\text{g/mL}$)
E1	nd	0,55	0,33	0,10	1,77	0,13	3,92
E2	nd	0,13 \pm 0,00	0,21 \pm 0,06	0,47 \pm 0,51	1,40 \pm 0,01	0,10 \pm 0,01	0,89 \pm 0,02
E3	nd	0,12 \pm 0,01	0,25 \pm 0,02	0,06 \pm 0,01	7,97 \pm 0,10	0,06 \pm 0,02	0,88 \pm 0,05
E4	nd	0,44	0,68	0,28	9,20	0,19	3,41
E5	nd	0,27	0,75	0,20	8,44	0,17	2,07
E6	nd	0,20 \pm 0,01	0,58 \pm 0,02	0,31 \pm 0,33	6,02 \pm 0,20	0,10 \pm 0,01	1,52 \pm 0,00
E7	nd	0,17	0,32	0,07	4,65	0,06	1,32
E8	nd	0,26	0,69	0,12	6,58	0,15	2,05
E9	nd	0,24	0,96	0,16	7,26	0,21	1,90
E10	nd	0,16 \pm 0,02	0,50 \pm 0,07	0,51 \pm 0,62	1,71 \pm 0,12	0,06 \pm 0,01	1,20 \pm 0,10



CONCENTRACIONES EN BROMELIACEAS

Tabla 21. Concentración de los elementos en bromeliáceas en (µg/g)

nd = no detectado; Conc = concentración

Estación	Peso (g) ± 0,0001g	Cd (µg/g)	Cr (µg/g)	Cu (µg/g)	Ni (µg/g)	Pb (µg/g)	V (µg/g)	Zn (µg/g)
E1	0,3571	nd	33,05	11,77	1,46	21,17	2,25	212,50
E1	0,357	nd	26,89	13,43	54,83	22,15	1,62	186,02
E1	0,357	nd	13,56	6,17	-1,74	19,89	1,09	111,96
E2	0,3572	nd	18,14	11,67	-0,39	11,90	2,52	120,79
E2	0,3573	nd	17,92	11,97	7,49	26,34	2,69	119,51
E2	0,3573	nd	17,13	11,51	3,64	24,75	2,67	125,63
E3	0,3574	nd	37,75	59,73	2,06	155,59	2,58	252,32
E3	0,3572	nd	40,70	67,86	4,50	163,19	3,06	283,57
E3	0,3576	nd	38,09	28,70	0,77	49,74	4,39	257,67
E4	0,3572	nd	35,97	27,95	0,14	45,51	4,91	239,36
E4	0,3571	nd	35,86	28,72	-0,27	45,33	4,02	255,79
E4	0,3574	nd	38,69	73,07	3,63	131,00	2,78	276,84
E5	0,357	nd	55,39	66,80	4,40	85,45	6,51	389,58
E5	0,3572	nd	55,10	65,38	29,48	94,59	6,19	375,11
E5	0,3572	nd	57,98	64,17	6,21	83,83	7,35	396,93
E6	0,357	nd	44,99	31,08	-0,48	36,15	2,37	304,38
E6	0,3571	nd	43,48	30,29	2,10	33,19	1,32	291,71
E6	0,3569	nd	43,49	28,95	0,70	24,56	2,30	298,86
E7	0,357	nd	33,93	28,00	2,42	79,59	4,02	226,16
E7	0,357	nd	32,93	30,08	11,68	99,25	5,67	227,20
E7	0,357	nd	29,45	27,22	2,15	92,37	4,59	210,24
E8	0,357	nd	51,49	71,37	4,27	63,29	6,63	348,61
E8	0,3572	nd	47,14	66,84	3,33	62,60	6,42	321,68
E8	0,3575	nd	48,59	65,48	1,80	64,23	6,48	344,04
E9	0,3575	nd	52,34	46,24	10,62	101,62	7,66	355,36
E9	0,3572	nd	51,61	46,06	15,97	90,65	6,58	352,12
E9	0,3575	nd	46,63	44,53	11,80	73,77	6,39	326,82
E10	0,3575	nd	32,00	26,71	1,34	29,41	3,52	218,37
E10	0,3575	nd	33,09	26,69	2,55	33,95	3,98	223,17
E10	0,3575	nd	32,56	27,41	0,48	40,08	4,37	230,28



Tabla 22. Concentración de los elementos en bromeliáceas en ($\mu\text{g/mL}$)

nd = no detectado; Conc = concentración

Estación	Cd ($\mu\text{g/mL}$)	Cr ($\mu\text{g/mL}$)	Cu ($\mu\text{g/mL}$)	Ni ($\mu\text{g/mL}$)	Pb ($\mu\text{g/mL}$)	V ($\mu\text{g/mL}$)	Zn ($\mu\text{g/mL}$)
E1	nd	$0,36 \pm 0,14$	$0,16 \pm 0,05$	$0,34 \pm 0,45$	$0,54 \pm 0,02$	$0,03 \pm 0,01$	$2,47 \pm 0,74$
E2	nd	$0,26 \pm 0,01$	$0,18 \pm 0,00$	$0,13 \pm 0,06$	$0,54 \pm 0,11$	$0,04 \pm 0,00$	$1,78 \pm 0,05$
E3	nd	$0,56 \pm 0,02$	$0,75 \pm 0,30$	$0,11 \pm 0,03$	$1,99 \pm 0,91$	$0,06 \pm 0,01$	$3,82 \pm 0,24$
E4	nd	$0,53 \pm 0,02$	$0,63 \pm 0,37$	$0,09 \pm 0,03$	$1,29 \pm 0,71$	$0,06 \pm 0,02$	$3,71 \pm 0,27$
E5	nd	$0,81 \pm 0,02$	$0,94 \pm 0,02$	$0,27 \pm 0,20$	$1,49 \pm 0,08$	$0,10 \pm 0,01$	$5,57 \pm 0,16$
E6	nd	$0,64 \pm 0,01$	$0,44 \pm 0,02$	$0,09 \pm 0,02$	$0,68 \pm 0,09$	$0,04 \pm 0,01$	$4,30 \pm 0,09$
E7	nd	$0,47 \pm 0,03$	$0,42 \pm 0,02$	$0,15 \pm 0,08$	$1,53 \pm 0,14$	$0,08 \pm 0,01$	$3,20 \pm 0,14$
E8	nd	$0,71 \pm 0,03$	$0,98 \pm 0,04$	$0,12 \pm 0,02$	$1,14 \pm 0,01$	$0,10 \pm 0,00$	$4,87 \pm 0,21$
E9	nd	$0,72 \pm 0,04$	$0,66 \pm 0,01$	$0,26 \pm 0,04$	$1,50 \pm 0,20$	$0,11 \pm 0,01$	$4,96 \pm 0,22$
E10	nd	$0,47 \pm 0,01$	$0,39 \pm 0,01$	$0,10 \pm 0,01$	$0,73 \pm 0,08$	$0,06 \pm 0,01$	$3,24 \pm 0,09$



APENDICE Nº 7. Curvas de calibración por elemento

Gráficos de curvas de calibración para líquenes

CROMO

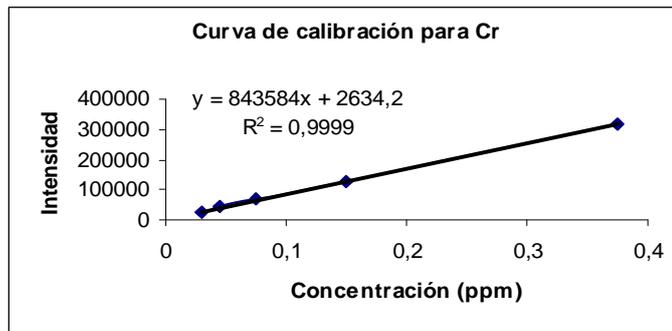


Fig. 55. Curva de calibración del cromo

COBRE

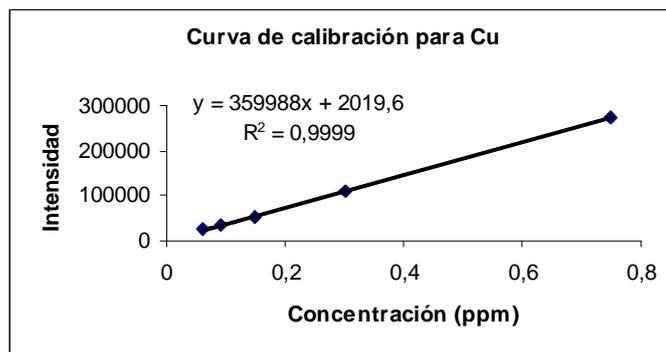


Fig. 56. Curva de calibración del cobre

NIQUEL

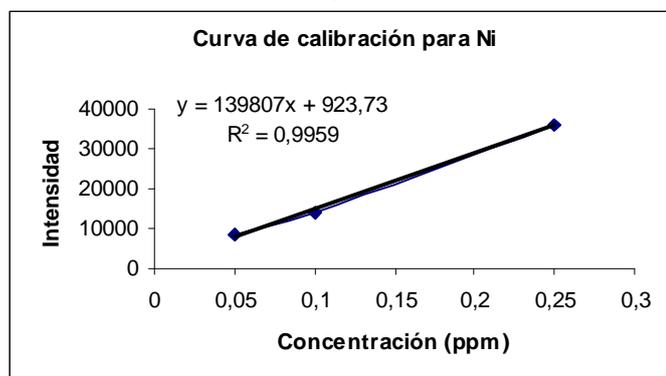


Fig. 57. Curva de calibración del níquel



PLOMO

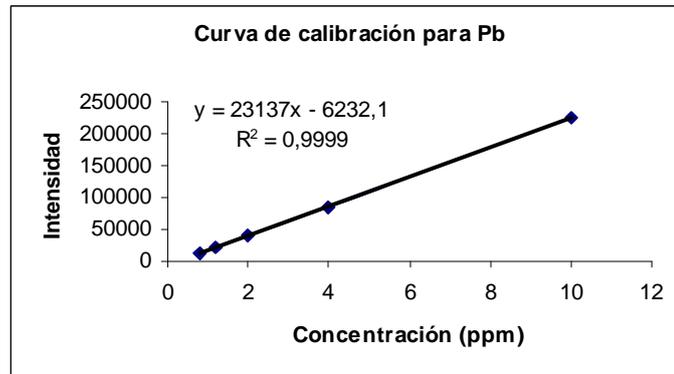


Fig. 58. Curva de calibración del plomo

VANADIO

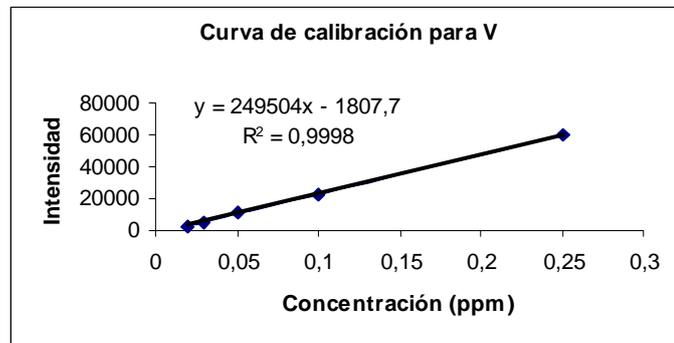


Fig. 59. Curva de calibración del vanadio

ZINC

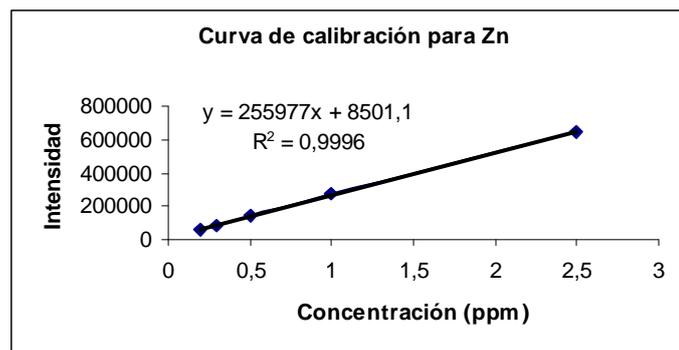


Fig. 60. Curva de calibración del zinc



Gráficos de curvas de calibración para bromeliáceas

CROMO

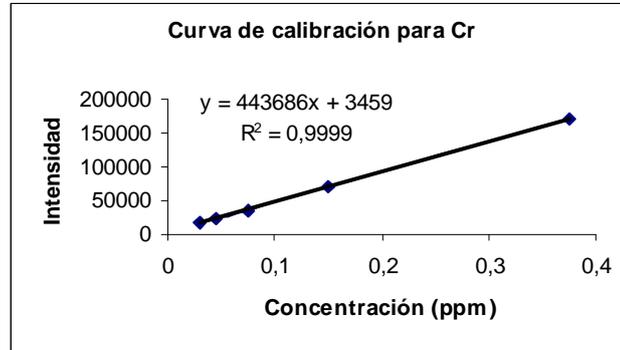


Fig. 61. Curva de calibración del cromo

COBRE

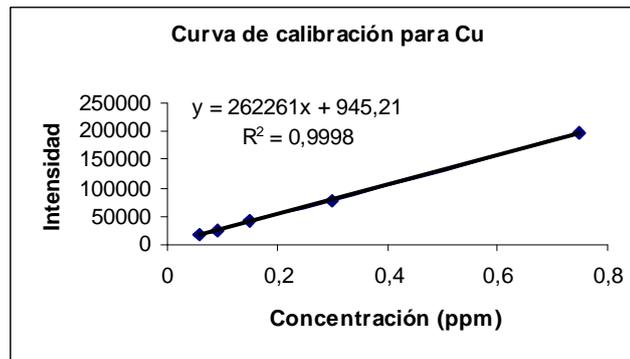


Fig. 62. Curva de calibración del cobre

NIQUEL

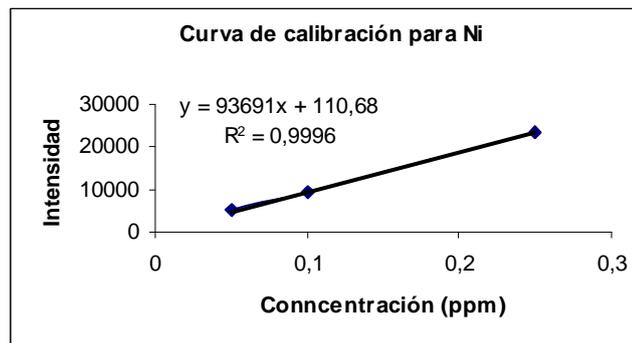


Fig. 63. Curva de calibración del níquel



PLOMO

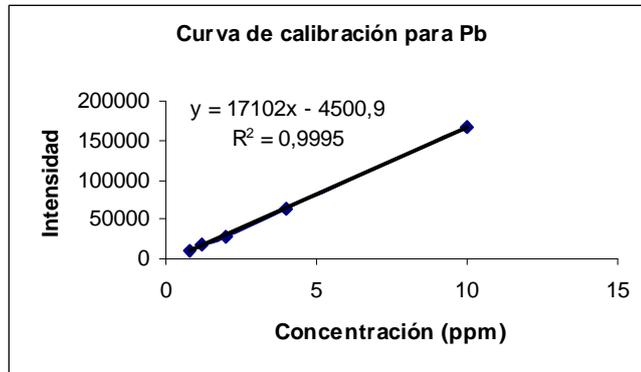


Fig. 64. Curva de calibración del plomo

VANADIO

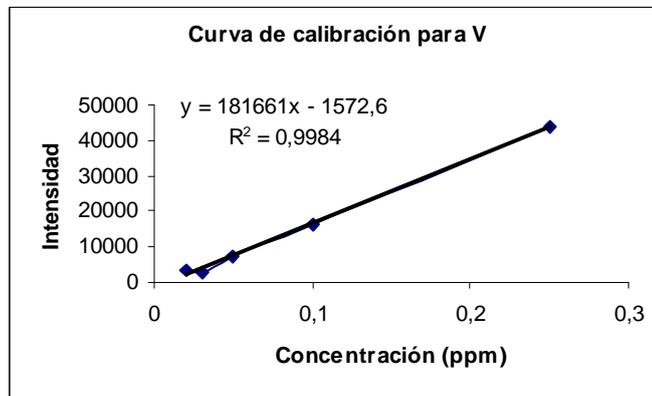


Fig. 65. Curva de calibración del vanadio

ZINC

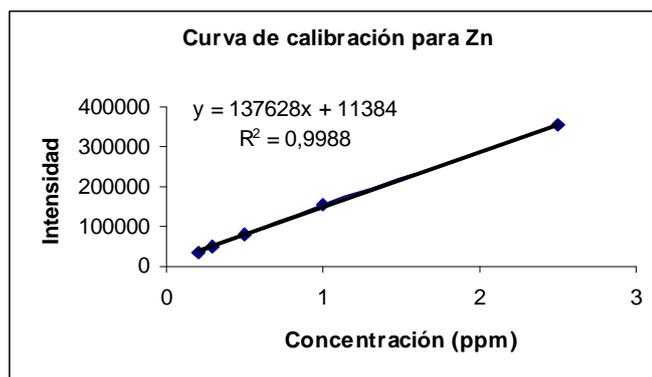


Fig. 66. Curva de calibración del zinc



APENDICE N° 8. ANÁLISIS DE PERFILES PARA LIQUENES

Tabla 23. VALORES OBSERVADOS. (L = líquen)

	Cd	Cr	Cu	Ni	Pb	V	Zn	SUMA
L1	-0,22	40,33	23,91	7,05	116,77	9,79	287,60	485,22
L2	-0,34	11,93	19,95	45,26	117,39	9,27	83,53	286,98
L3	0,08	10,93	24,19	4,96	760,71	5,49	81,89	888,24
L4	0,48	32,25	50,11	19,86	667,33	13,97	249,49	1033,51
L5	0,01	19,60	55,22	14,24	610,91	12,57	150,65	863,20
L6	-0,04	14,53	42,69	22,16	432,04	7,11	109,61	628,09
L7	0,61	12,22	23,51	4,70	329,98	4,48	94,64	470,13
L8	0,12	18,88	50,93	8,19	473,20	11,35	148,90	711,56
L9	0,38	17,49	70,77	10,90	523,43	15,46	137,51	775,94
L10	0,25	11,41	36,66	37,39	112,44	4,20	86,15	288,50
SUMA	1,32	189,58	397,93	174,71	4144,20	93,69	1429,97	6431,39

Tabla 24. VALORES ESPERADOS. Considerando la independencia entre elementos y localidades.

	Cd	Cr	Cu	Ni	Pb	V	Zn
L1	0,02	14,30	30,02	13,18	312,66	7,07	107,89
L2	0,01	8,46	17,76	7,80	184,92	4,18	63,81
L3	0,04	26,18	54,96	24,13	572,36	12,94	197,49
L4	0,05	30,46	63,95	28,08	665,97	15,06	229,79
L5	0,04	25,44	53,41	23,45	556,22	12,57	191,93
L6	0,03	18,51	38,86	17,06	404,73	9,15	139,65
L7	0,02	13,86	29,09	12,77	302,94	6,85	104,53
L8	0,03	20,97	44,03	19,33	458,51	10,37	158,21
L9	0,04	22,87	48,01	21,08	499,99	11,30	172,52
L10	0,01	8,50	17,85	7,84	185,90	4,20	64,14

Tabla 25. RESIDUALES ESTANDARIZADOS

	Cd	Cr	Cu	Ni	Pb	V	Zn
L1	-1,62	6,88	-1,12	-1,69	-11,08	1,02	17,30
L2	-3,09	1,19	0,52	13,42	-4,97	2,49	2,47
L3	0,17	-2,98	-4,15	-3,90	7,87	-2,07	-8,23
L4	2,01	0,32	-1,73	-1,55	0,05	-0,28	1,30
L5	-0,16	-1,16	0,25	-1,90	2,32	0,00	-2,98
L6	-0,43	-0,93	0,61	1,24	1,36	-0,68	-2,54
L7	4,00	-0,44	-1,03	-2,26	1,55	-0,91	-0,97
L8	0,47	-0,46	1,04	-2,53	0,69	0,30	-0,74
L9	1,84	-1,12	3,28	-2,22	1,05	1,24	-2,67
L10	2,07	1,00	4,45	10,56	-5,39	0,00	2,75



ANÁLISIS DE PERFILES PARA BROMELIACEAS

Tabla 26. VALORES OBSERVADOS. (T = Tillandsia)

	Cd	Cr	Cu	Ni	Pb	V	Zn	SUMA
T1	-0,04	24,50	10,46	18,18	21,07	1,66	170,16	245,99
T2	-0,45	17,73	11,72	3,58	21,00	2,63	121,97	178,17
T3	0,51	38,85	52,10	2,44	122,84	3,34	264,52	484,60
T4	0,76	36,84	43,24	1,17	73,95	3,90	257,33	417,18
T5	0,28	56,16	65,45	13,36	87,96	6,68	387,21	617,10
T6	0,43	43,99	30,11	0,77	31,30	2,00	298,32	406,91
T7	-0,09	32,11	28,43	5,42	90,40	4,76	221,20	382,23
T8	0,54	49,07	67,89	3,13	63,37	6,51	338,11	528,63
T9	0,53	50,19	45,61	12,80	88,68	6,87	344,76	549,45
T10	0,71	32,55	26,94	1,46	34,48	3,96	223,94	324,03
SUMA	3,18	381,99	381,95	62,31	635,05	42,30	2.627,52	4.134,29

Tabla 27. VALORES ESPERADOS. Considerando la independencia entre elementos y localidades.

	Cd	Cr	Cu	Ni	Pb	V	Zn
T1	0,12	22,73	22,73	3,71	37,78	2,52	156,33
T2	0,09	16,46	16,46	2,69	27,37	1,82	113,24
T3	0,24	44,77	44,77	7,30	74,44	4,96	307,98
T4	0,20	38,55	38,54	6,29	64,08	4,27	265,14
T5	0,30	57,02	57,01	9,30	94,79	6,31	392,19
T6	0,20	37,60	37,59	6,13	62,50	4,16	258,61
T7	0,19	35,32	35,31	5,76	58,71	3,91	242,92
T8	0,26	48,84	48,84	7,97	81,20	5,41	335,97
T9	0,27	50,77	50,76	8,28	84,40	5,62	349,20
T10	0,16	29,94	29,94	4,88	49,77	3,32	205,93

Tabla 28. RESIDUALES ESTANDARIZADOS

	Cd	Cr	Cu	Ni	Pb	V	Zn
T1	-0,45	0,37	-2,57	7,52	-2,72	-0,54	1,11
T2	-1,83	0,31	-1,17	0,55	-1,22	0,59	0,82
T3	0,56	-0,89	1,10	-1,80	5,61	-0,73	-2,48
T4	1,23	-0,27	0,76	-2,04	1,23	-0,18	-0,48
T5	-0,04	-0,11	1,12	1,33	-0,70	0,15	-0,25
T6	0,52	1,04	-1,22	-2,16	-3,95	-1,06	2,47
T7	-0,65	-0,54	-1,16	-0,14	4,14	0,43	-1,39
T8	0,55	0,03	2,73	-1,71	-1,98	0,47	0,12
T9	0,51	-0,08	-0,72	1,57	0,47	0,53	-0,24
T10	1,39	0,48	-0,55	-1,55	-2,17	0,35	1,25



APENDICE N° 9. PRUEBAS A PRIORI (para aplicación de ANOVAS)

Es una prueba que permite observar a través de una tendencia lineal de datos la factibilidad del uso del análisis de varianza.

CROMO

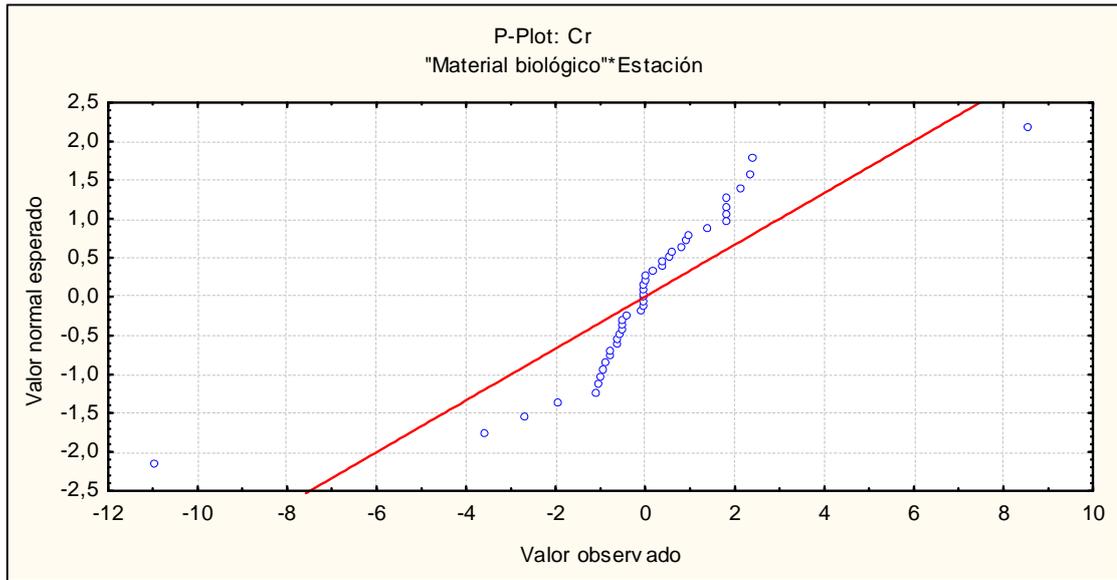


Fig. 67. Gráfico de prueba a priori para cromo

COBRE

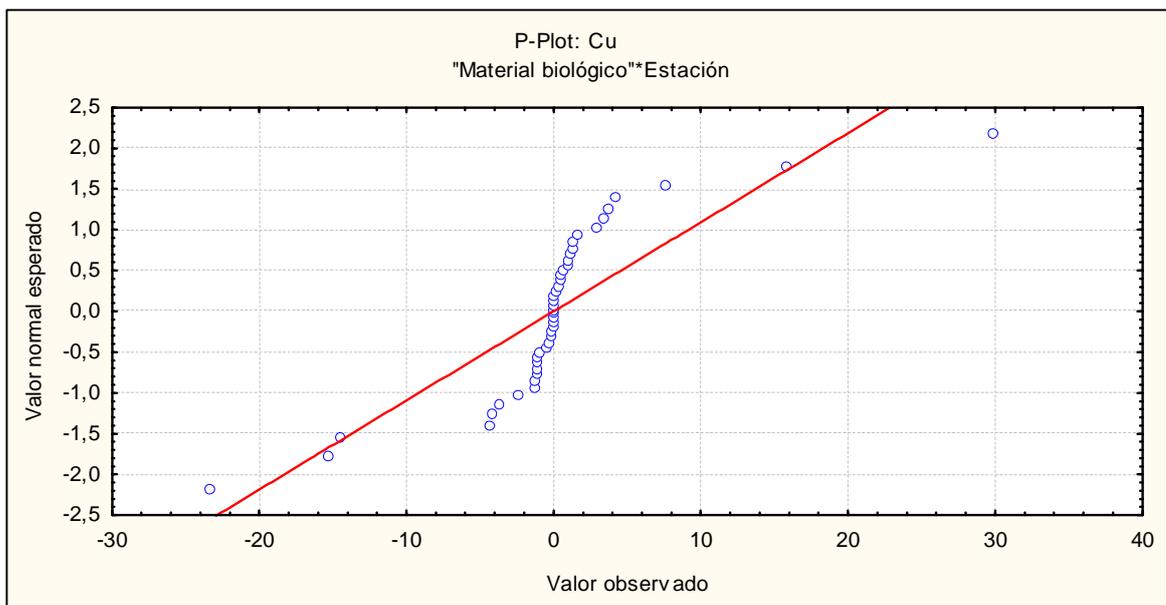


Fig. 68. Gráfico de prueba a priori para cobre



NIQUEL

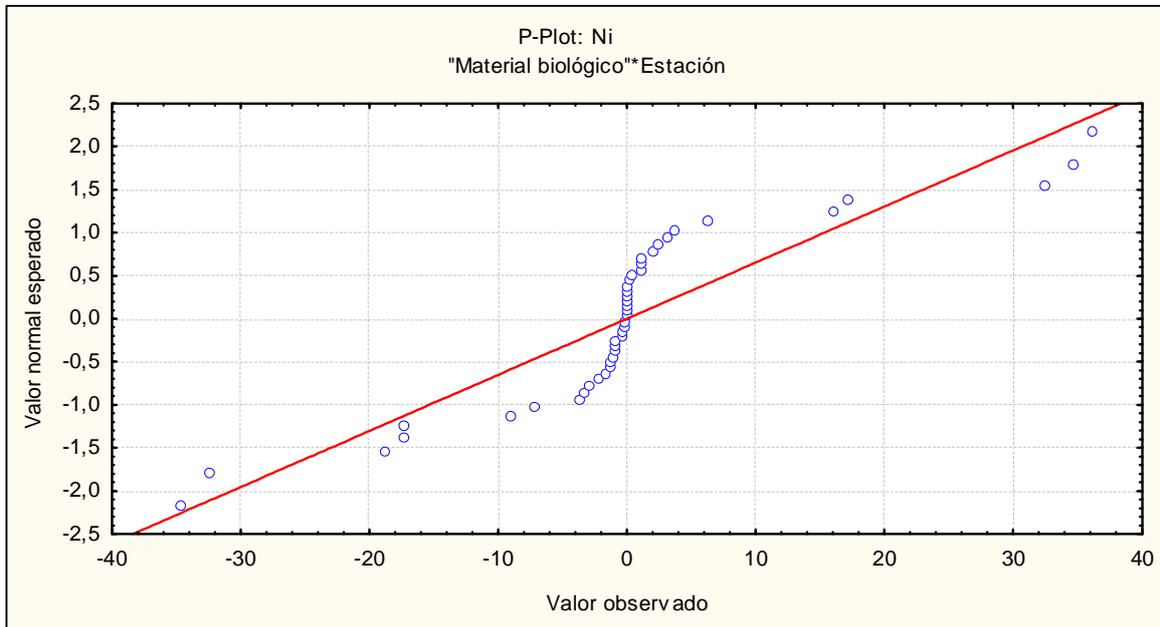


Fig. 69. Gráfico de prueba a priori para níquel

PLOMO

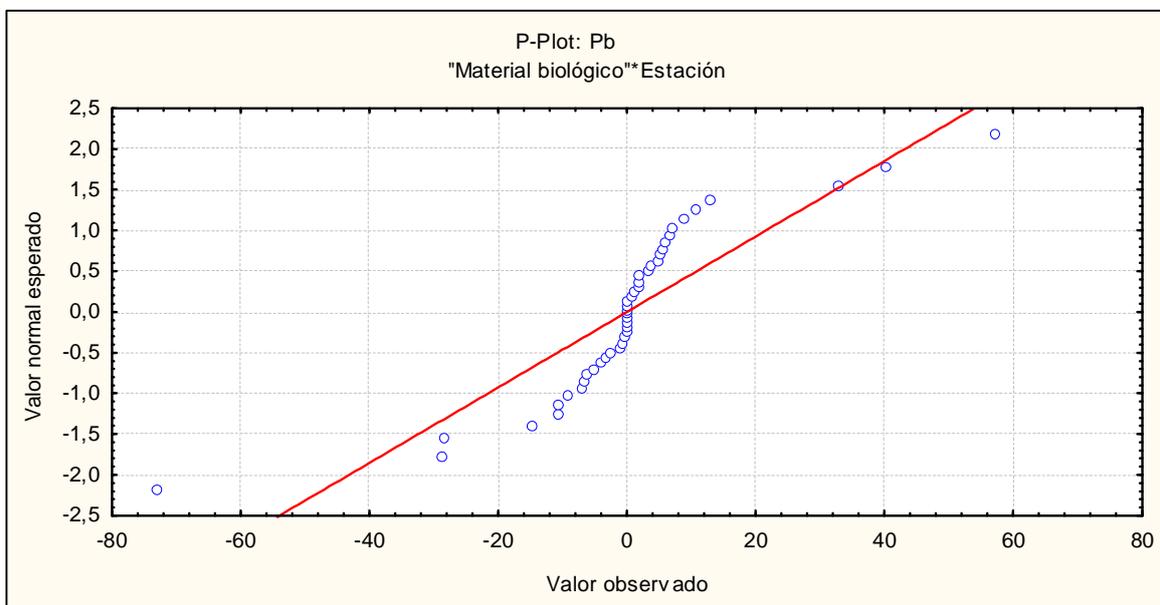


Fig. 70. Gráfico de prueba a priori para plomo



VANADIO

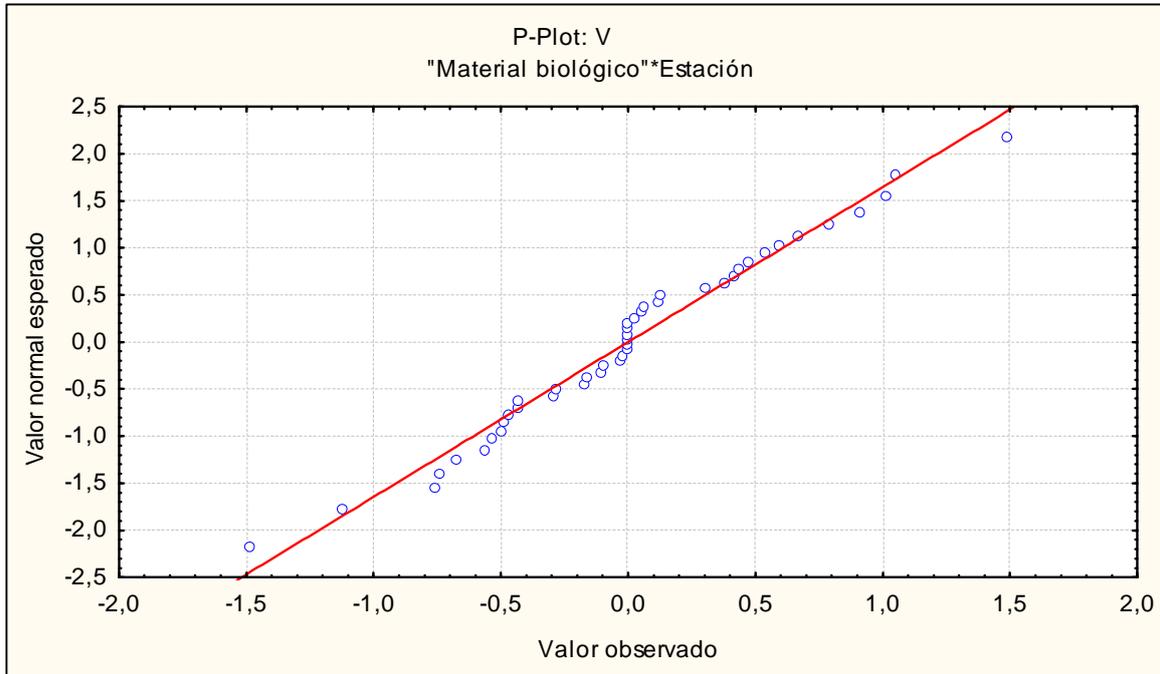


Fig. 71. Gráfico de prueba a priori para vanadio

ZINC

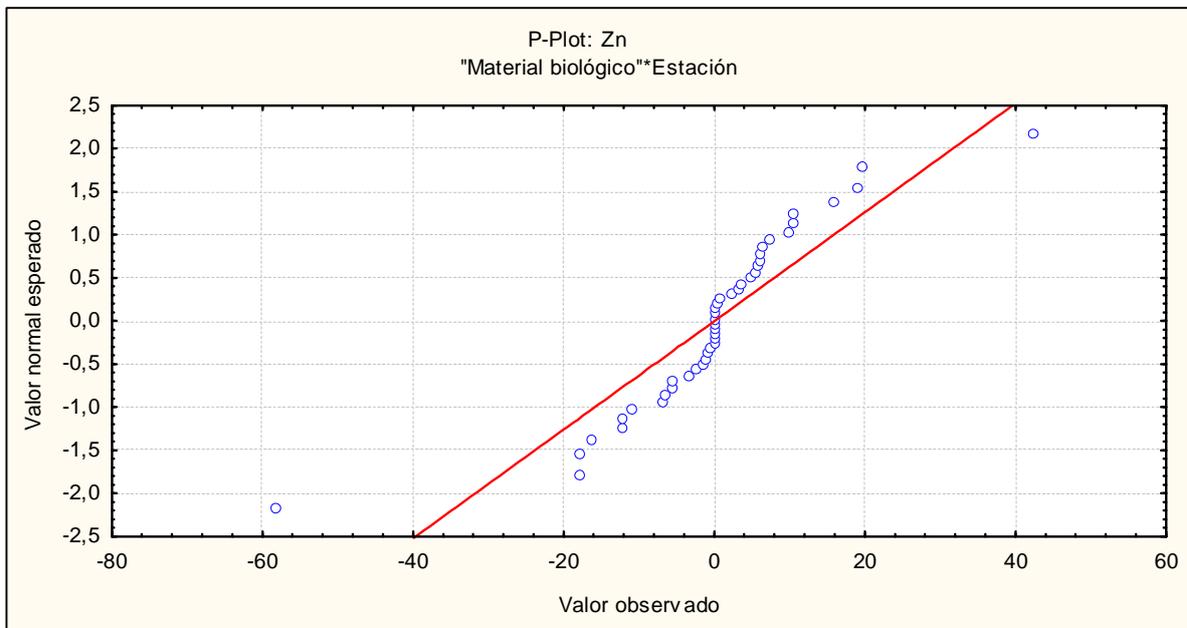


Fig. 72. Gráfico de prueba a priori para zinc



APENDICE N°10. Diferencias estadísticas entre líquenes y bromeliáceas.

CROMO

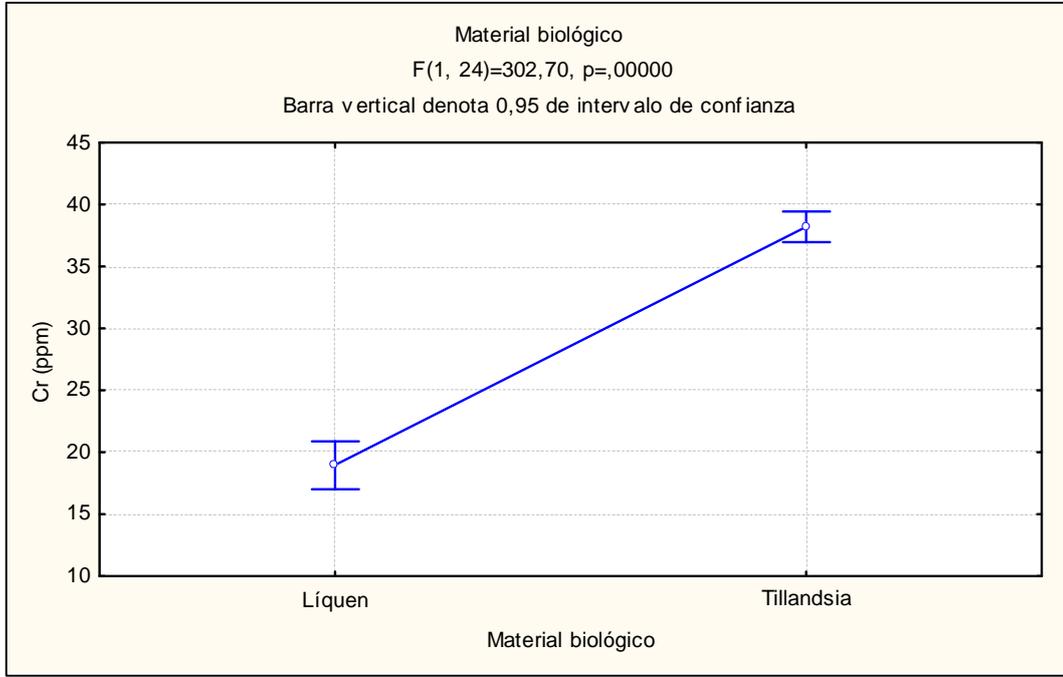


Fig. 73. Gráfico de diferencias estadísticas entre líquenes y bromeliáceas para Cr

COBRE

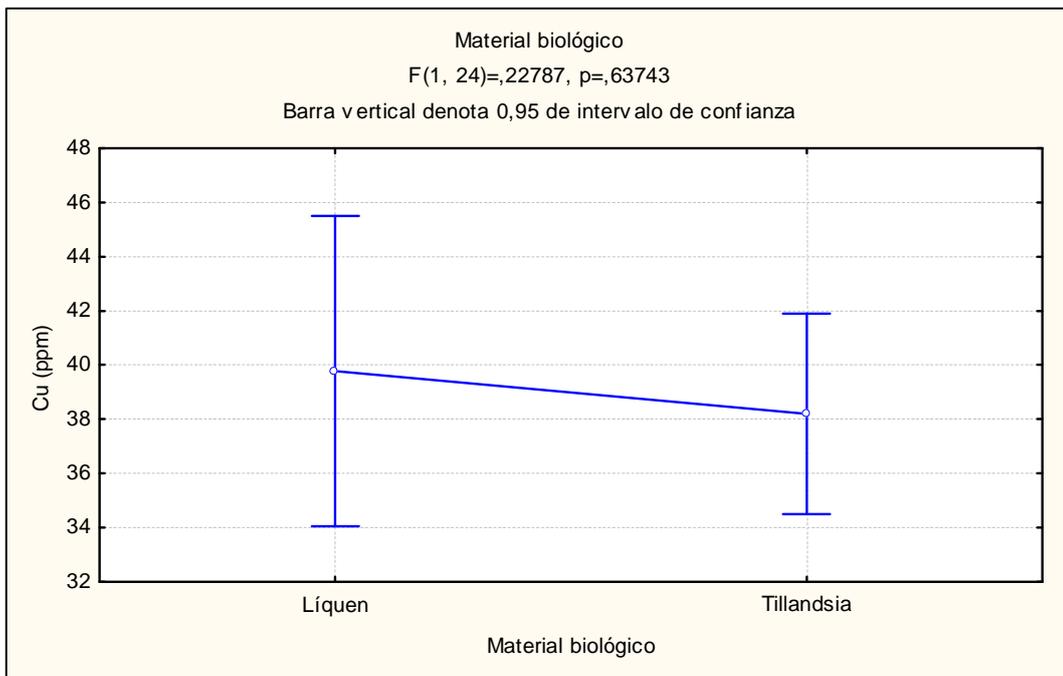


Fig. 74. Gráfico de diferencias estadísticas entre líquenes y bromeliáceas para Cr



NIQUEL

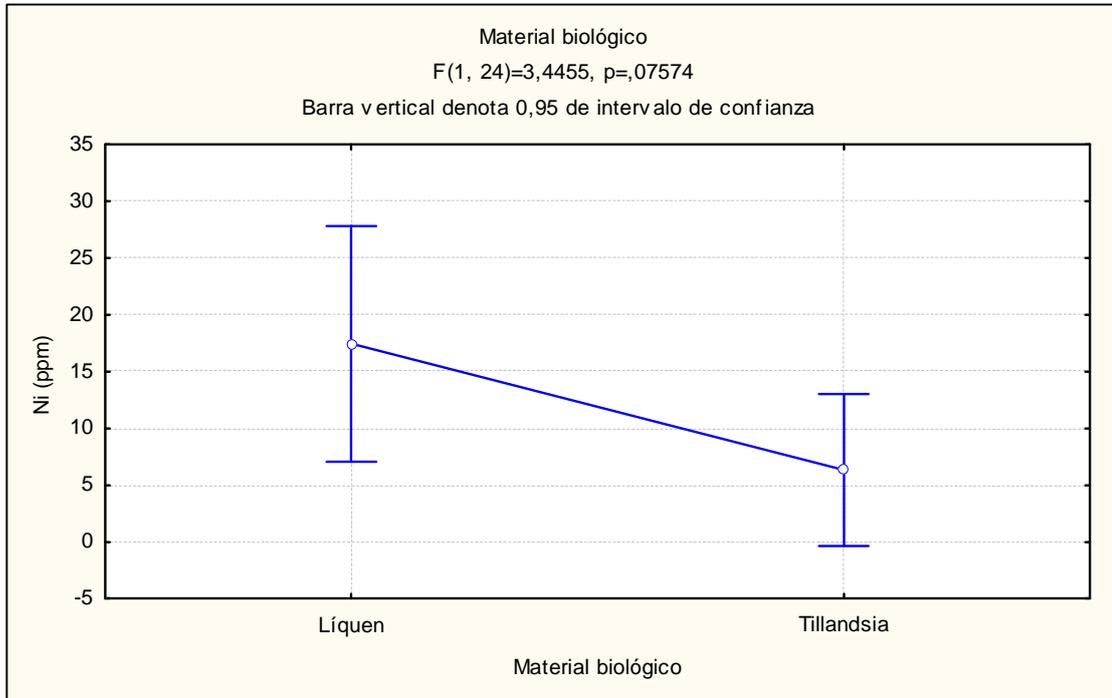


Fig. 75. Gráfico de diferencias estadísticas entre líquenes y bromeliáceas para Cr

PLOMO

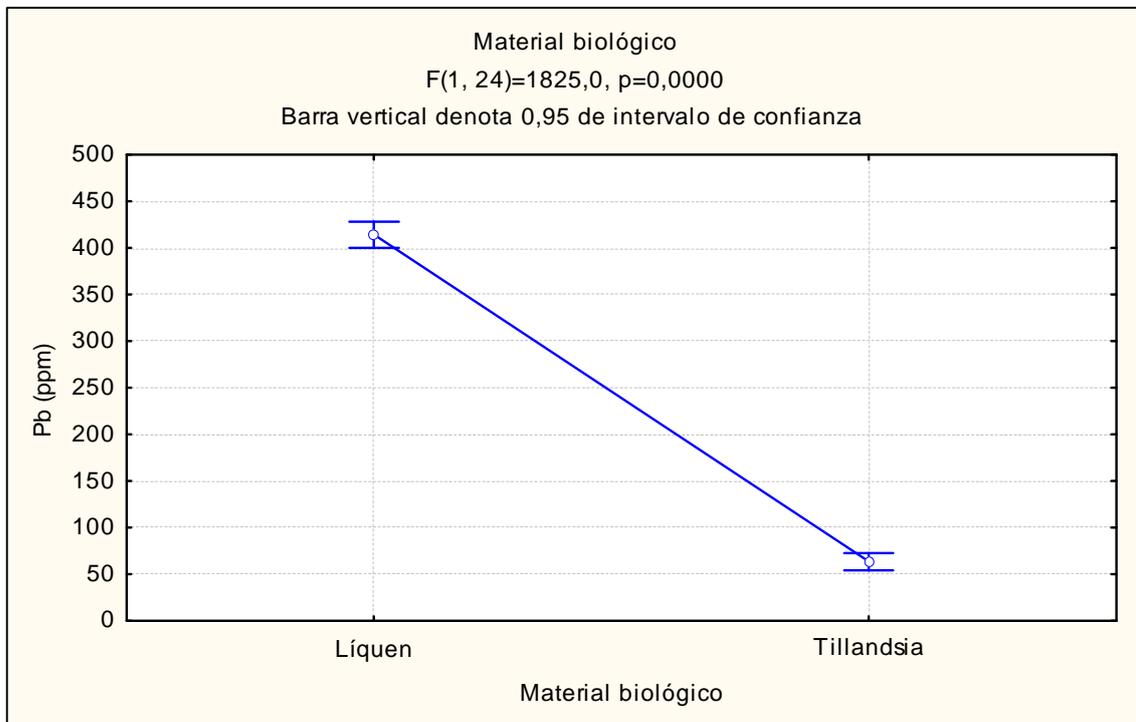


Fig. 76. Gráfico de diferencias estadísticas entre líquenes y bromeliáceas para Cr



VANADIO

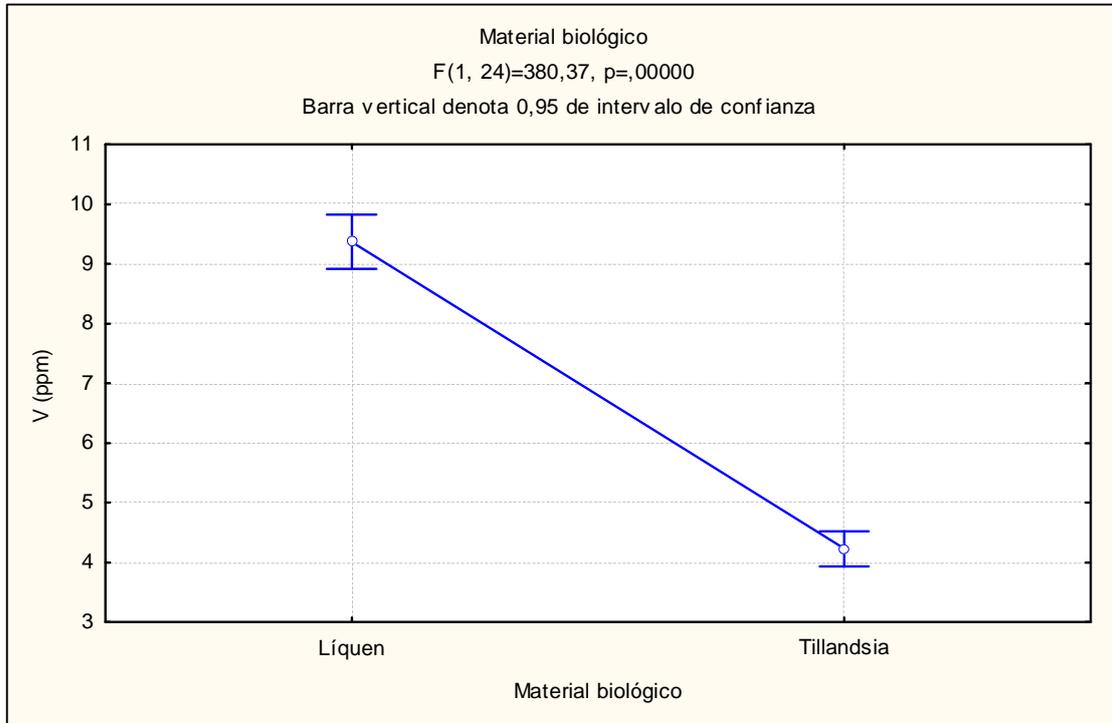


Fig. 77. Gráfico de diferencias estadísticas entre líquenes y bromeliáceas para Cr

ZINC

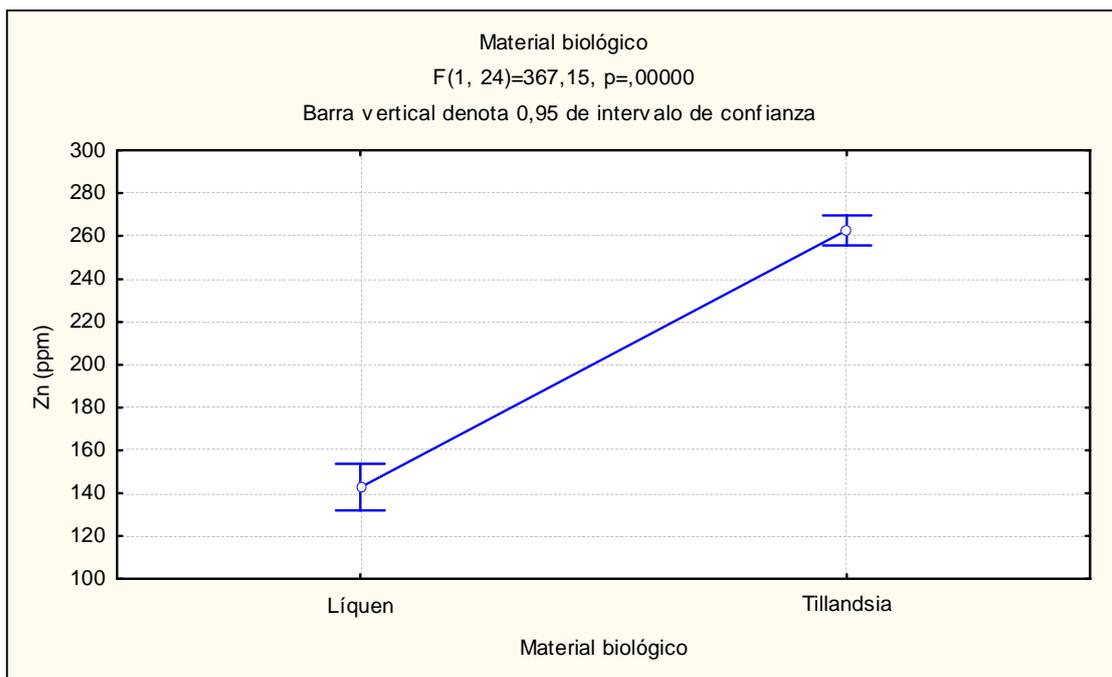


Fig. 78. Gráfico de diferencias estadísticas entre líquenes y bromeliáceas para Cr



APENDICE N° 11. Diferencias estadísticas entre las localidades (estaciones).

CROMO

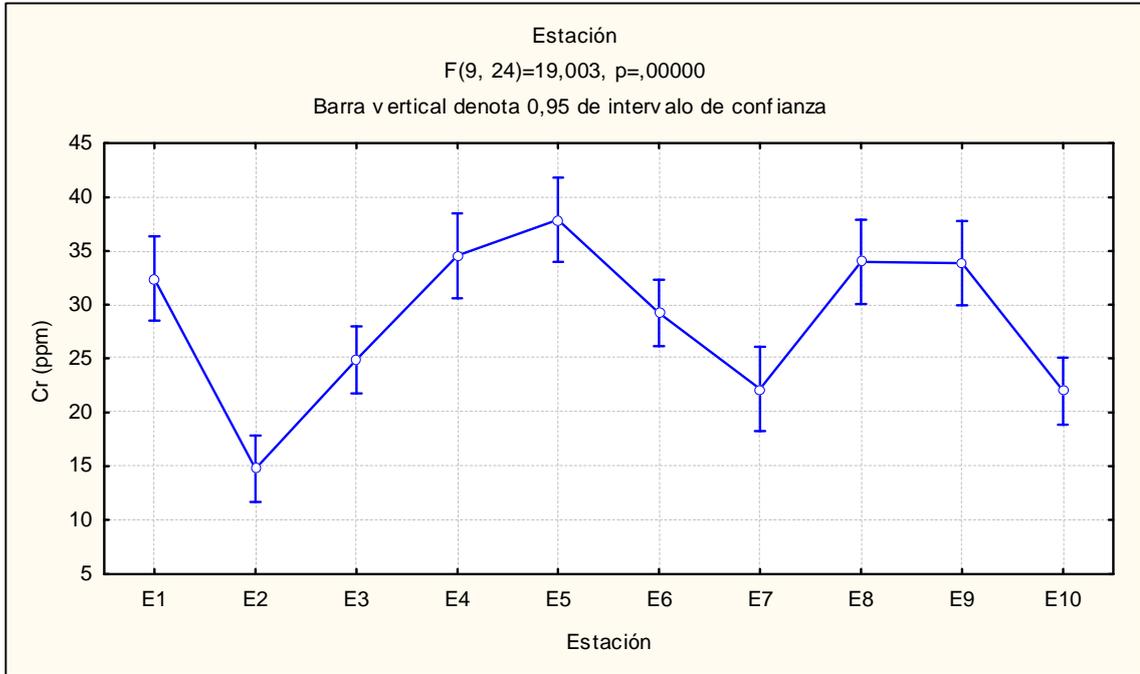


Fig. 79. Gráfico de diferencias estadísticas entre las localidades para Cr

COBRE

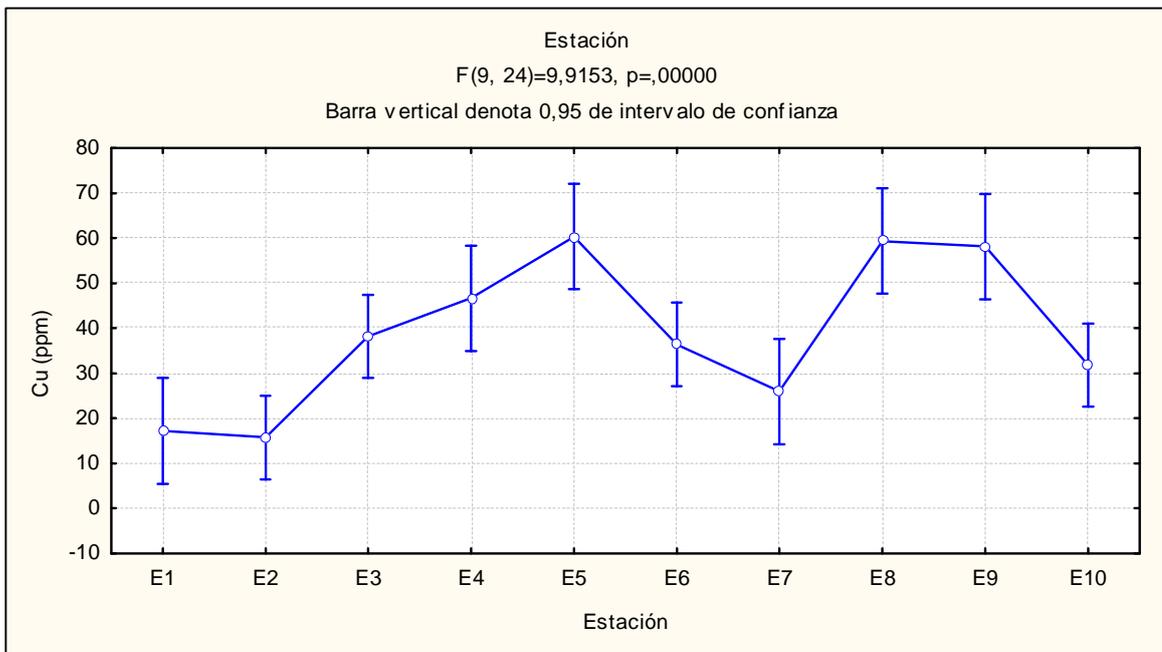


Fig. 80. Gráfico de diferencias estadísticas entre las localidades para Cu



NIQUEL

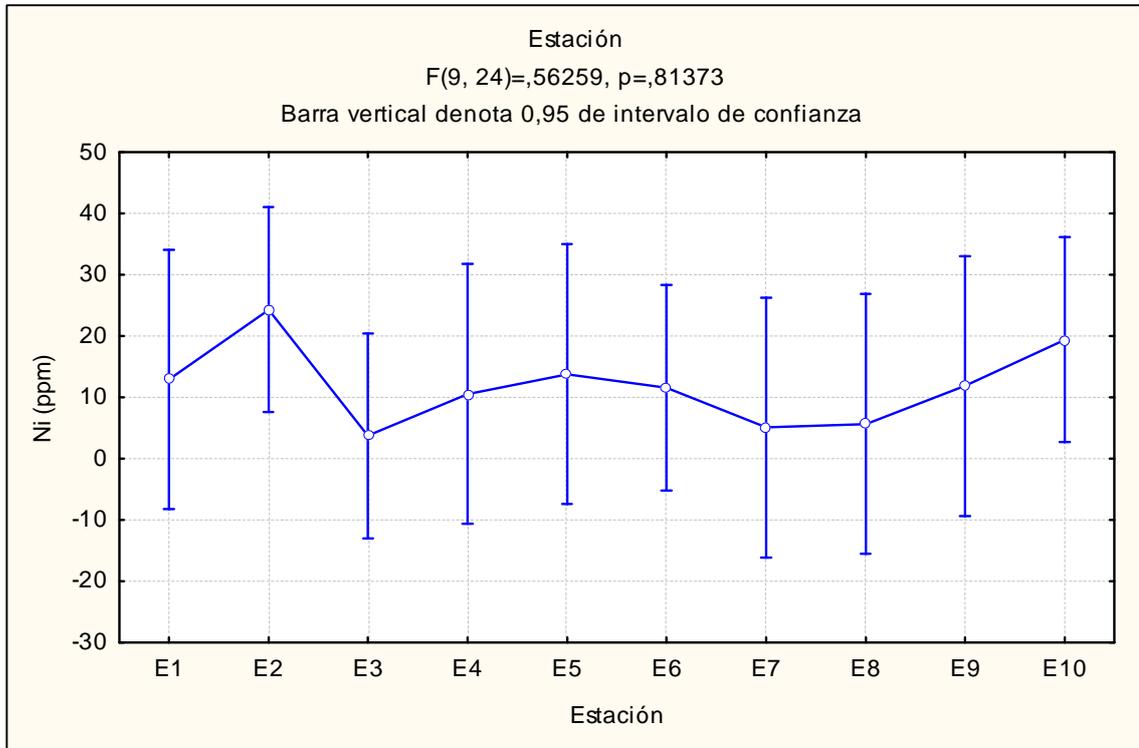


Fig. 81. Gráfico de diferencias estadísticas entre las localidades para Ni

PLOMO

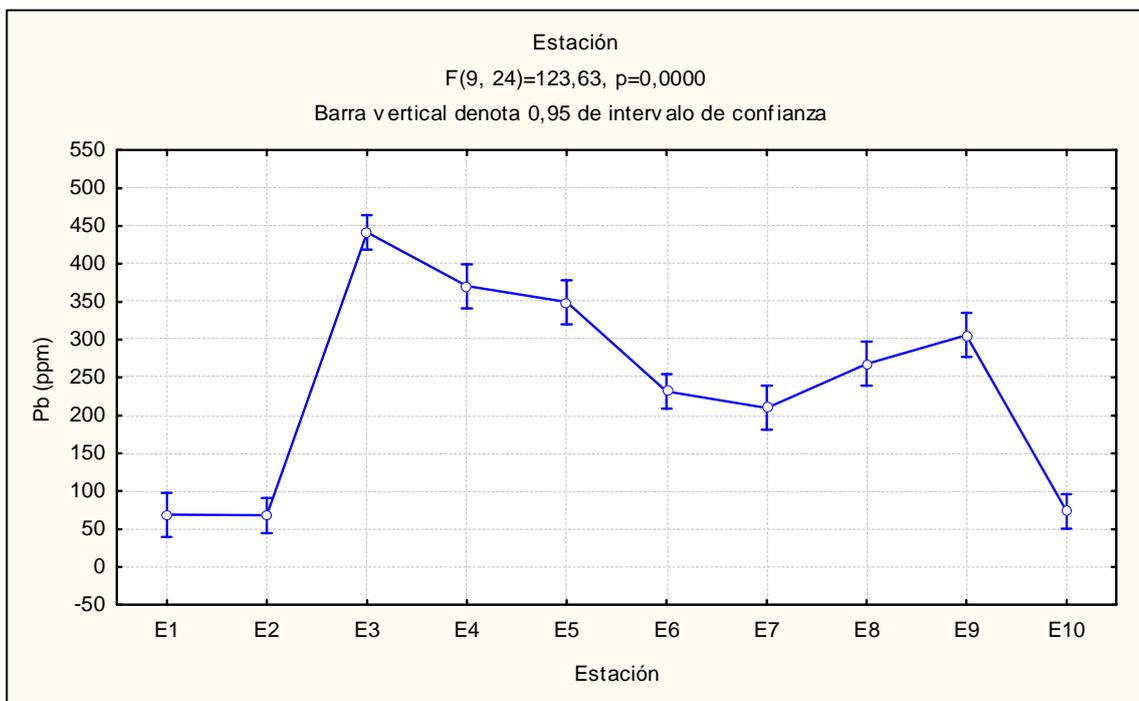


Fig. 82. Gráfico de diferencias estadísticas entre las localidades para Pb



VANADIO

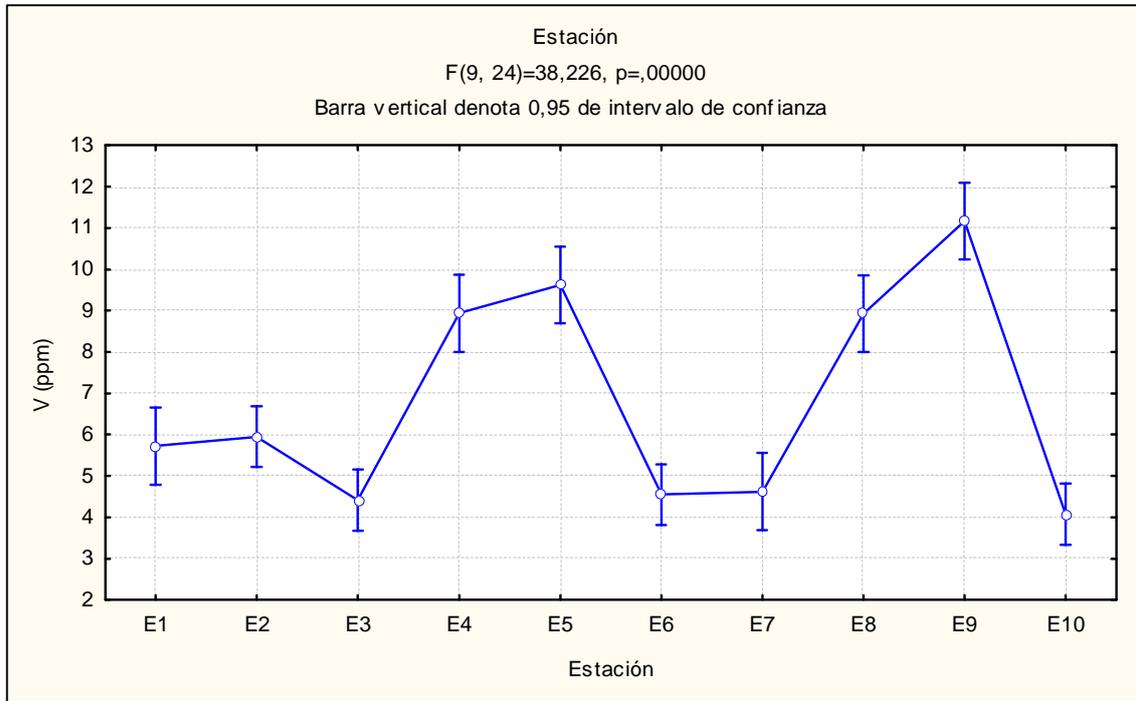


Fig. 83. Gráfico de diferencias estadísticas entre las localidades para V

ZINC

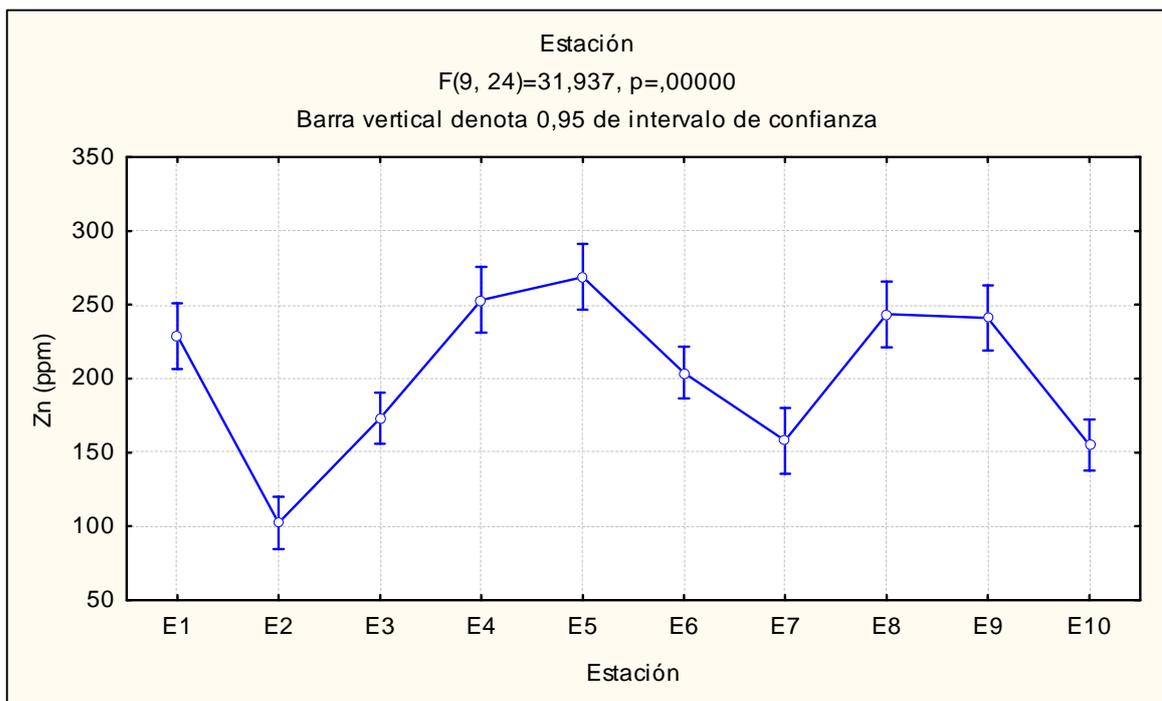


Fig. 84. Gráfico de diferencias estadísticas entre las localidades para Zn



APENDICE N° 12. PRUEBAS DUNCAN

Tabla 29. CROMO. GRUPOS HOMOGENEOS.

Alfa = 0,050.

Error: entre MS =10,804, df =24,000

Celda	Material	Cr	1	2	3	4	5	6	7	8
3	Líquén	10,93	****							
10	Líquén	11,41	****	****						
2	Líquén	11,82	****	****						
7	Líquén	12,22	****	****						
6	Líquén	14,53	****	****						
9	Líquén	17,49	****	****	****					
12	Tillandsia	17,73	****	****	****					
8	Líquén	18,88	****	****	****					
5	Líquén	19,60		****	****					
11	Tillandsia	24,50			****					
17	Tillandsia	32,11				****				
4	Líquén	32,25				****				
20	Tillandsia	32,55				****	****			
14	Tillandsia	36,84				****	****	****		
13	Tillandsia	38,85				****	****	****		
1	Líquén	40,33					****	****		
16	Tillandsia	43,99						****	****	
18	Tillandsia	49,07							****	****
19	Tillandsia	50,19							****	****
15	Tillandsia	56,16								****



Tabla 30. COBRE
GRUPOS HOMOGENEOS. Alfa = 0,050.
Error: entre MS = 96,536, df = 24,000

Celda	Material	Cu	1	2	3	4	5	6	7	8	9
11	Tillandsia	10,46	****								
12	Tillandsia	11,72	****								
2	Líquén	19,76	****	****							
7	Líquén	23,51	****	****	****						
1	Líquén	23,91	****	****	****						
3	Líquén	24,19	****	****	****						
20	Tillandsia	26,94	****	****	****	****					
17	Tillandsia	28,43	****	****	****	****	****				
16	Tillandsia	30,11	****	****	****	****	****				
10	Líquén	36,66		****	****	****	****	****			
6	Líquén	42,69		****	****	****	****	****	****		
14	Tillandsia	43,24		****	****	****	****	****	****	****	
19	Tillandsia	45,61			****	****	****	****	****	****	
4	Líquén	50,11				****	****	****	****	****	****
8	Líquén	50,93				****	****	****	****	****	****
13	Tillandsia	52,10					****	****	****	****	****
5	Líquén	55,22						****	****	****	****
15	Tillandsia	65,45							****	****	****
18	Tillandsia	67,89								****	****
9	Líquén	70,77									****



Tabla 31. PLOMO
GRUPOS HOMOGENEOS

Alfa = 0,050.

Error: entre MS = 594,57, df = 24,000

Celda	Material	Pb	1	2	3	4	5	6	7	8	9
		Mean									
12	Tillandsia	21,00	****								
11	Tillandsia	21,07	****								
16	Tillandsia	31,30	****	****							
20	Tillandsia	34,48	****	****							
18	Tillandsia	63,37	****	****	****						
14	Tillandsia	73,95	****	****	****						
15	Tillandsia	87,96		****	****						
19	Tillandsia	88,68		****	****						
17	Tillandsia	90,40		****	****						
10	Líquén	112,44			****						
2	Líquén	115,07			****						
1	Líquén	116,77			****						
13	Tillandsia	122,84			****						
7	Líquén	329,98				****					
6	Líquén	432,04					****				
8	Líquén	473,20					****	****			
9	Líquén	523,43						****			
5	Líquén	610,91							****		
4	Líquén	667,33								****	
3	Líquén	760,71									****



Tabla 32. VANADIO
GRUPOS HOMOGENEOS

Alfa = 0,050.

Error: entre MS = 0,61275, df = 24,000

Celda	Material	V	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
11	Tillandsia	1,66	****										
16	Tillandsia	2,00	****										
12	Tillandsia	2,63	****	****									
13	Tillandsia	3,34	****	****	****								
14	Tillandsia	3,90		****	****	****							
20	Tillandsia	3,96		****	****	****							
10	Líquén	4,20		****	****	****							
7	Líquén	4,48		****	****	****							
17	Tillandsia	4,76			****	****	****						
3	Líquén	5,49				****	****	****					
18	Tillandsia	6,51					****	****					
15	Tillandsia	6,68						****					
19	Tillandsia	6,87						****					
6	Líquén	7,11						****					
2	Líquén	9,28							****				
1	Líquén	9,79							****	****			
8	Líquén	11,35								****	****		
5	Líquén	12,57									****	****	
4	Líquén	13,97										****	****
9	Líquén	15,46											****



Tabla 33. ZINC
GRUPOS HOMOGENEOS

Alfa = 0.050

Error: entre MS = 345,20, df = 24,000

Celda	Material	Zn	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
3	Líquén	81,89	****									
2	Líquén	82,58	****									
10	Líquén	86,15	****									
7	Líquén	94,64	****	****								
6	Líquén	109,61	****	****	****							
12	Tillandsia	121,97	****	****	****							
9	Líquén	137,51		****	****	****						
8	Líquén	148,90			****	****						
5	Líquén	150,65			****	****						
11	Tillandsia	170,16				****						
17	Tillandsia	221,20					****					
20	Tillandsia	223,94					****					
4	Líquén	249,49					****	****				
14	Tillandsia	257,33					****	****	****			
13	Tillandsia	264,52					****	****	****			
1	Líquén	287,60						****	****			
16	Tillandsia	298,32							****	****		
18	Tillandsia	338,11								****	****	
19	Tillandsia	344,76									****	
15	Tillandsia	387,21										****



APENDICE 13. PRUEBAS DE DUNCAN

CROMO

Error: entre MS = 10,804, df = 24,000

Celda	Material	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}	{9}	{10}	{11}	{12}	{13}	{14}	{15}	{16}	{17}	{18}	{19}	{20}
1	Líquén		0,00	0,00	0,05	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,68	0,36	0,00	0,31	0,05	0,03	0,01	0,05
2	Líquén	0,00		0,81	0,00	0,06	0,47	0,91	0,09	0,15	0,91	0,00	0,14	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
3	Líquén	0,00	0,81		0,00	0,04	0,37	0,74	0,06	0,11	0,89	0,00	0,10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
4	Líquén	0,05	0,00	0,00		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,05	0,00	0,10	0,23	0,00	0,01	0,97	0,00	0,00	0,93
5	Líquén	0,00	0,06	0,04	0,00		0,21	0,07	0,84	0,59	0,05	0,17	0,62	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6	Líquén	0,00	0,47	0,37	0,00	0,21		0,52	0,27	0,41	0,42	0,02	0,40	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
7	Líquén	0,00	0,91	0,74	0,00	0,07	0,52		0,10	0,17	0,83	0,00	0,16	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
8	Líquén	0,00	0,09	0,06	0,00	0,84	0,27	0,10		0,71	0,07	0,14	0,75	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
9	Líquén	0,00	0,15	0,11	0,00	0,59	0,41	0,17	0,71		0,13	0,08	0,95	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
10	Líquén	0,00	0,91	0,89	0,00	0,05	0,42	0,83	0,07	0,13		0,00	0,12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
11	Tillandsia	0,00	0,00	0,00	0,05	0,17	0,02	0,00	0,14	0,08	0,00		0,09	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,00	0,00	0,04
12	Tillandsia	0,00	0,14	0,10	0,00	0,62	0,40	0,16	0,75	0,95	0,12	0,09		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
13	Tillandsia	0,68	0,00	0,00	0,10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		0,57	0,00	0,18	0,10	0,01	0,01	0,10
14	Tillandsia	0,36	0,00	0,00	0,23	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,57		0,00	0,07	0,23	0,00	0,00	0,23
15	Tillandsia	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		0,00	0,00	0,07	0,10	0,00
16	Tillandsia	0,31	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,18	0,07	0,00		0,01	0,16	0,11	0,01
17	Tillandsia	0,05	0,00	0,00	0,97	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,00	0,10	0,23	0,00	0,01		0,00	0,00	0,91
18	Tillandsia	0,03	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,07	0,16	0,00		0,75	0,00
19	Tillandsia	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,10	0,11	0,00	0,75		0,00
20	Tillandsia	0,05	0,00	0,00	0,93	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,00	0,10	0,23	0,00	0,01	0,91	0,00	0,00	



COBRE

Error: entre MS = 96,536, df = 24,000

Celda	Material	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}	{9}	{10}	{11}	{12}	{13}	{14}	{15}	{16}	{17}	{18}	{19}	{20}
1	Líquén		0,71	0,98	0,04	0,02	0,13	0,97	0,04	0,00	0,29	0,26	0,30	0,03	0,12	0,00	0,60	0,70	0,00	0,09	0,79
2	Líquén	0,71		0,70	0,02	0,01	0,07	0,72	0,02	0,00	0,17	0,41	0,45	0,01	0,07	0,00	0,40	0,47	0,00	0,04	0,55
3	Líquén	0,98	0,70		0,04	0,02	0,13	0,95	0,04	0,00	0,30	0,26	0,30	0,03	0,12	0,00	0,61	0,71	0,00	0,09	0,80
4	Líquén	0,04	0,02	0,04		0,66	0,52	0,04	0,94	0,10	0,26	0,00	0,00	0,86	0,54	0,20	0,10	0,08	0,15	0,67	0,07
5	Líquén	0,02	0,01	0,02	0,66		0,31	0,02	0,70	0,19	0,14	0,00	0,00	0,77	0,32	0,34	0,05	0,04	0,26	0,42	0,03
6	Líquén	0,13	0,07	0,13	0,52	0,31		0,12	0,49	0,03	0,57	0,01	0,02	0,44	0,96	0,07	0,27	0,22	0,05	0,80	0,19
7	Líquén	0,97	0,72	0,95	0,04	0,02	0,12		0,03	0,00	0,28	0,27	0,30	0,03	0,12	0,00	0,58	0,68	0,00	0,08	0,77
8	Líquén	0,04	0,02	0,04	0,94	0,70	0,49	0,03		0,11	0,24	0,00	0,00	0,91	0,51	0,22	0,09	0,07	0,16	0,64	0,06
9	Líquén	0,00	0,00	0,00	0,10	0,19	0,03	0,00	0,11		0,01	0,00	0,00	0,12	0,03	0,64	0,00	0,00	0,79	0,05	0,00
10	Líquén	0,29	0,17	0,30	0,26	0,14	0,57	0,28	0,24	0,01		0,04	0,05	0,21	0,56	0,02	0,54	0,47	0,02	0,44	0,41
11	Tillandsia	0,26	0,41	0,26	0,00	0,00	0,01	0,27	0,00	0,00	0,04		0,91	0,00	0,01	0,00	0,12	0,15	0,00	0,01	0,18
12	Tillandsia	0,30	0,45	0,30	0,00	0,00	0,02	0,30	0,00	0,00	0,05	0,91		0,00	0,02	0,00	0,14	0,18	0,00	0,01	0,21
13	Tillandsia	0,03	0,01	0,03	0,86	0,77	0,44	0,03	0,91	0,12	0,21	0,00	0,00		0,46	0,24	0,08	0,06	0,18	0,58	0,05
14	Tillandsia	0,12	0,07	0,12	0,54	0,32	0,96	0,12	0,51	0,03	0,56	0,01	0,02	0,46		0,07	0,26	0,22	0,05	0,82	0,18
15	Tillandsia	0,00	0,00	0,00	0,20	0,34	0,07	0,00	0,22	0,64	0,02	0,00	0,00	0,24	0,07		0,01	0,01	0,82	0,11	0,00
16	Tillandsia	0,60	0,40	0,61	0,10	0,05	0,27	0,58	0,09	0,00	0,54	0,12	0,14	0,08	0,26	0,01		0,87	0,00	0,20	0,78
17	Tillandsia	0,70	0,47	0,71	0,08	0,04	0,22	0,68	0,07	0,00	0,47	0,15	0,18	0,06	0,22	0,01	0,87		0,00	0,16	0,89
18	Tillandsia	0,00	0,00	0,00	0,15	0,26	0,05	0,00	0,16	0,79	0,02	0,00	0,00	0,18	0,05	0,82	0,00	0,00		0,07	0,00
19	Tillandsia	0,09	0,04	0,09	0,67	0,42	0,80	0,08	0,64	0,05	0,44	0,01	0,01	0,58	0,82	0,11	0,20	0,16	0,07		0,13
20	Tillandsia	0,79	0,55	0,80	0,07	0,03	0,19	0,77	0,06	0,00	0,41	0,18	0,21	0,05	0,18	0,00	0,78	0,89	0,00	0,13	



PLOMO

Error: entre MS = 594,57, df = 24,000

Celda	Material	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}	{9}	{10}	{11}	{12}	{13}	{14}	{15}	{16}	{17}	{18}	{19}	{20}
1	Líquén		0,95	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,88	0,00	0,00	0,82	0,16	0,34	0,01	0,36	0,09	0,34	0,01
2	Líquén	0,95		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,92	0,00	0,00	0,78	0,17	0,36	0,01	0,38	0,09	0,36	0,01
3	Líquén	0,00	0,00		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
4	Líquén	0,00	0,00	0,00		0,04	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
5	Líquén	0,00	0,00	0,00	0,04		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6	Líquén	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		0,00	0,13	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
7	Líquén	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
8	Líquén	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,13	0,00		0,06	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
9	Líquén	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,06		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
10	Líquén	0,88	0,92	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		0,00	0,01	0,72	0,20	0,40	0,01	0,40	0,11	0,40	0,01
11	Tillandsia	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		1,00	0,00	0,08	0,03	0,70	0,03	0,15	0,03	0,63
12	Tillandsia	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	1,00		0,00	0,08	0,03	0,71	0,03	0,16	0,03	0,64
13	Tillandsia	0,82	0,78	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,72	0,00	0,00		0,11	0,25	0,01	0,27	0,06	0,26	0,01
14	Tillandsia	0,16	0,17	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,20	0,08	0,08	0,11		0,59	0,14	0,57	0,69	0,60	0,16
15	Tillandsia	0,34	0,36	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,40	0,03	0,03	0,25	0,59		0,06	0,93	0,38	0,98	0,07
16	Tillandsia	0,01	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,70	0,71	0,01	0,14	0,06		0,06	0,25	0,06	0,90
17	Tillandsia	0,36	0,38	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,40	0,03	0,03	0,27	0,57	0,93	0,06		0,36	0,95	0,07
18	Tillandsia	0,09	0,09	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,11	0,15	0,16	0,06	0,69	0,38	0,25	0,36		0,38	0,28
19	Tillandsia	0,34	0,36	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,40	0,03	0,03	0,26	0,60	0,98	0,06	0,95	0,38		0,07
20	Tillandsia	0,01	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,63	0,64	0,01	0,16	0,07	0,90	0,07	0,28	0,07	



VANADIO

Error: entre MS = 0,61275, df = 24,000

Celda	Material	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}	{9}	{10}	{11}	{12}	{13}	{14}	{15}	{16}	{17}	{18}	{19}	{20}
1	Líquén		0,55	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,07	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2	Líquén	0,55		0,00	0,00	0,00	0,02	0,00	0,03	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,01	0,01	0,00
3	Líquén	0,00	0,00		0,00	0,00	0,09	0,26	0,00	0,00	0,17	0,00	0,01	0,03	0,10	0,19	0,00	0,39	0,23	0,14	0,11
4	Líquén	0,00	0,00	0,00		0,10	0,00	0,00	0,01	0,09	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
5	Líquén	0,00	0,00	0,00	0,10		0,00	0,00	0,16	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6	Líquén	0,00	0,02	0,09	0,00	0,00		0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,63	0,00	0,02	0,52	0,78	0,00
7	Líquén	0,00	0,00	0,26	0,00	0,00	0,01		0,00	0,00	0,74	0,01	0,06	0,23	0,53	0,02	0,01	0,74	0,03	0,02	0,56
8	Líquén	0,07	0,03	0,00	0,01	0,16	0,00	0,00		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
9	Líquén	0,00	0,00	0,00	0,09	0,00	0,00	0,00	0,00		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
10	Líquén	0,00	0,00	0,17	0,00	0,00	0,00	0,74	0,00	0,00		0,01	0,10	0,36	0,74	0,01	0,03	0,54	0,02	0,01	0,77
11	Tillandsia	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,01		0,28	0,07	0,02	0,00	0,69	0,00	0,00	0,00	0,02
12	Tillandsia	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,06	0,00	0,00	0,10	0,28		0,40	0,16	0,00	0,46	0,03	0,00	0,00	0,16
13	Tillandsia	0,00	0,00	0,03	0,00	0,00	0,00	0,23	0,00	0,00	0,36	0,07	0,40		0,51	0,00	0,14	0,15	0,00	0,00	0,49
14	Tillandsia	0,00	0,00	0,10	0,00	0,00	0,00	0,53	0,00	0,00	0,74	0,02	0,16	0,51		0,01	0,05	0,37	0,01	0,00	0,95
15	Tillandsia	0,00	0,01	0,19	0,00	0,00	0,63	0,02	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,01		0,00	0,04	0,84	0,82	0,01
16	Tillandsia	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,03	0,69	0,46	0,14	0,05	0,00		0,01	0,00	0,00	0,04
17	Tillandsia	0,00	0,00	0,39	0,00	0,00	0,02	0,74	0,00	0,00	0,54	0,00	0,03	0,15	0,37	0,04	0,01		0,06	0,03	0,39
18	Tillandsia	0,00	0,01	0,23	0,00	0,00	0,52	0,03	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00	0,01	0,84	0,00	0,06		0,69	0,01
19	Tillandsia	0,00	0,01	0,14	0,00	0,00	0,78	0,02	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,82	0,00	0,03	0,69		0,00
20	Tillandsia	0,00	0,00	0,11	0,00	0,00	0,00	0,56	0,00	0,00	0,77	0,02	0,16	0,49	0,95	0,01	0,04	0,39	0,01	0,00	



ZINC

Error: entre MS = 345,20, df = 24,000

Celda	Material	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}	{9}	{10}	{11}	{12}	{13}	{14}	{15}	{16}	{17}	{18}	{19}	{20}
1	Líquén		0,00	0,00	0,09	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,25	0,16	0,00	0,59	0,01	0,02	0,01	0,01
2	Líquén	0,00		0,97	0,00	0,01	0,22	0,57	0,01	0,02	0,86	0,00	0,09	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
3	Líquén	0,00	0,97		0,00	0,01	0,22	0,56	0,01	0,02	0,84	0,00	0,08	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
4	Líquén	0,09	0,00	0,00		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,48	0,70	0,00	0,03	0,19	0,00	0,00	0,21
5	Líquén	0,00	0,01	0,01	0,00		0,07	0,02	0,93	0,54	0,01	0,33	0,20	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6	Líquén	0,00	0,22	0,22	0,00	0,07		0,46	0,08	0,19	0,27	0,01	0,54	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
7	Líquén	0,00	0,57	0,56	0,00	0,02	0,46		0,02	0,06	0,67	0,00	0,20	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
8	Líquén	0,00	0,01	0,01	0,00	0,93	0,08	0,02		0,57	0,01	0,32	0,21	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
9	Líquén	0,00	0,02	0,02	0,00	0,54	0,19	0,06	0,57		0,03	0,14	0,44	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
10	Líquén	0,00	0,86	0,84	0,00	0,01	0,27	0,67	0,01	0,03		0,00	0,11	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
11	Tillandsia	0,00	0,00	0,00	0,00	0,33	0,01	0,00	0,32	0,14	0,00		0,04	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00	0,02
12	Tillandsia	0,00	0,09	0,08	0,00	0,20	0,54	0,20	0,21	0,44	0,11	0,04		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
13	Tillandsia	0,25	0,00	0,00	0,48	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		0,72	0,00	0,12	0,06	0,00	0,00	0,07
14	Tillandsia	0,16	0,00	0,00	0,70	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,72		0,00	0,07	0,11	0,00	0,00	0,12
15	Tillandsia	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		0,00	0,00	0,03	0,04	0,00
16	Tillandsia	0,59	0,00	0,00	0,03	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,12	0,07	0,00		0,00	0,06	0,03	0,00
17	Tillandsia	0,01	0,00	0,00	0,19	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00	0,06	0,11	0,00	0,00		0,00	0,00	0,89
18	Tillandsia	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,03	0,06	0,00		0,74	0,00
19	Tillandsia	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,03	0,00	0,74		0,00
20	Tillandsia	0,01	0,00	0,00	0,21	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00	0,07	0,12	0,00	0,00	0,89	0,00	0,00	