

TESIS DE DOCTORADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

**ESTUDIO ECOLÓGICO Y QUÍMICO DE LÍQUENES PARA EL
ESTABLECIMIENTO DE LÍNEAS DE REFERENCIA AMBIENTAL EN
ÁREAS MINERAS.**

por

Lic. Juan Martín Hernández

Director: Dr. Juan Manuel Rodríguez

Centro de Ecología y Recursos Naturales de la FCEyN (CERNAR)



**FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS, FÍSICAS Y NATURALES
UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA**

Córdoba, Argentina

2022

COMISIÓN ASESORA

Dr. Juan Manuel Rodríguez (Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales,
Universidad Nacional de Córdoba)

Dr. Marcos Adrián Eduardo Chaparro (Facultad de Ciencias Exactas, Universidad
Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires; CIFICEN-CONICET)

Dra. María Valeria Amé (Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de
Córdoba; CIBICI-CONICET)

DEFENSA ORAL Y PÚBLICA

Lugar y Fecha:

Calificación:

TRIBUNAL

Firma: Aclaración:

Firma: Aclaración:

Firma: Aclaración:

AGRADECIMIENTOS

A las instituciones que hicieron posible el desarrollo de este trabajo de tesis:

- A la Universidad Nacional de Córdoba y a la Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales por mi formación de posgrado.
- Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) por la beca para realizar las tareas de investigación.
- Al Centro de Investigación y Transferencia de Catamarca (CITCa, CONICET-UNCA) por brindarme las instalaciones y equipamiento empleado durante la tesis.
- Al Centro de Ecología y Recursos Naturales Renovables (CERNAR) por brindarme las instalaciones y equipamiento empleado durante la tesis.
- A la Universidad Nacional de Catamarca y a la Facultad de Tecnología y Ciencias Aplicadas por brindarme las instalaciones, equipamiento y apoyo económico e institucional para el desarrollo de las tareas de campo y laboratorio en el transcurso de la tesis.
- Al Laboratorio de Entrenamiento Multidisciplinario para la Investigación Tecnológica (LEMIT) por recibirme durante mis pasantías y brindarme el espacio para el desarrollo de las mismas.
- Al Ministerio de Minería de Catamarca por la predisposición para la elaboración de un convenio para realizar las tareas de investigación dentro del área minera y la colaboración en las tareas realizadas dentro mina.
- A la Comisión Nacional de energía Atómica y al Laboratorio de Técnicas Analíticas Nucleares por los análisis del Contenido multielemental por INAA.

A las personas que brindaron su tiempo acompañándome y ayudándome en mi crecimiento profesional, compartiendo sus conocimientos conmigo:

- A mis directores, la Dra. Martha Susana Cañas y el Dr. Juan Manuel Rodríguez por darme la oportunidad de trabajar con ellos y por su dedicación y apoyo en mi formación profesional.

- A los miembros del tribunal evaluador, Dra. Valeria Amé, Dra. Andrea Michlig y Dr. Marcos Chaparro por el seguimiento durante el desarrollo de la tesis y por los aportes valiosos realizados para la versión final del manuscrito.
- A las Dras. Edith Raquel Filippini y Cecilia Estrabou y por acompañarme a las salidas de campo y brindarme su colaboración y conocimiento para el desarrollo de mi tesis.
- A la Dra. Vilma Gabriela Rosato y al Dr. Renato Andrés García por permitirme trabajar con ellos, recibirme en su lugar de trabajo y brindarme su dedicación y conocimiento durante mi estadía en el LEMIT.
- Al Ing. Carlos Humberto Savio, Decano de la Facultad de Tecnología y Ciencias Aplicadas que puso a disposición instalaciones, equipamiento y vehículos para llevar a cabo mis tareas de investigación.
- Al Ing. Rodolfo Micone y a su equipo del Ministerio de minería Ing. Franco Francile, Ing. Antonella Velasco, Lic. Patricio Saseta y Tec. Rodolfo Moya por el apoyo y predisposición para la firma del convenio y por la colaboración en las tareas de campo desarrolladas en Bajo la Alumbreira.
- Al Lic. Gabriel Oscar López Vázquez y a la Lic. Romina Nieto de Mina Alumbreira que colaboraron en la logística y medidas de seguridad para la planificación y ejecución del muestreo y preservación de las muestras durante el periodo de monitoreo.
- Al Ing. Germán Rodríguez y a la Ing. Mabel Arpires por su colaboración y asesoramiento para la puesta a punto y medidas de análisis químicos por ICP-OES.
- Al Lic. Matías Rasjido, Lic. Rocío Alvarez, Lic. Micaela Jalabert, Lic. Matías Lestussi y al Sr. Rubén Rojas Mascareño de la Facultad de Tecnología y Ciencias Aplicadas por su colaboración en las salidas de Campo, realización de mapas y medidas de análisis fisiológicos.
- A las Dras. Raquel Jasán y Rita Plá por las medidas del contenido multielemental analizados por INAA.

A las personas que me acompañaron en el ámbito personal durante todo este período:

- A Martha que, desde el primer día que ingresé a la facultad, me motivó y acompañó a crecer humana y profesionalmente y, que aun me acompaña y alienta a seguir y crecer en todas mis actividades académicas.
- A Irupé y Moni que me acompañaron y colaboraron en las tareas de laboratorio

- A Renato, que durante mi estadía en el LEMIT me brindó su amistad y apoyo para seguir adelante con el doctorado.

-A Juan, Ceci y Edith que me brindaron siempre su apoyo, tiempo y conocimiento en todas las tareas de la tesis.

-A mis padres y hermanos, que me dieron todo lo valioso que tengo en la vida, empezando por darme la vida y después los valores más nobles para afrontarla.

-A María Rosa mi compañera de vida por el amor que me hizo sentir y que pese a las distancias siempre me acompañó y alentó a seguir con el doctorado.

-A toda mi familia y amigos de Catamarca que me ayudaron y alentaron a seguir adelante.

PUBLICACIONES DERIVADAS DE LA TESIS

Rodríguez, J. M., Hernandez, J. M., Filippini, E., Cañas, M., & Estrabou, C. (2016). Nuevas citas de macrolíquenes para Argentina y ampliaciones de distribución en el centro del país. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 51(3), 405-417.

ÍNDICE

Resumen.....	1
Introducción general.....	2
Hipótesis general.....	9
Objetivos Generales.....	9
Descripción del área de estudio.....	9
CAPÍTULO 1- Diversidad de líquenes saxícolas en tres cuencas asociadas a la minería.....	20
1.1. Introducción.....	21
1.2. Hipótesis	23
1.3. Objetivos	23
1.4. Materiales y Métodos.....	23
1.4.1. Diseño de muestreo.....	23
1.4.1.1. Selección de sitios.....	23
1.4.1.2. Relevamiento de frecuencia y cobertura.....	25
1.4.2. Identificación de especies.....	26
1.4.3. Análisis de datos.....	26
1.5. Resultados.....	28
1.6. Discusión.....	47
1.7. Conclusiones.....	50
CAPÍTULO 2- Análisis químicos y fisiológicos en líquenes recolectados <i>in situ</i> en tres cuencas asociadas a la minería.....	51
2.1. Introducción.....	52
2.2. Hipótesis	54
2.3. Objetivos	54
2.4. Materiales y Métodos.....	54
2.4.1. Diseño de muestreo.....	54
2.4.1.1. Selección de sitios.....	54
2.4.1.2. Recolección y tratamiento de muestras.....	56
2.4.2. Análisis químico-fisiológicos.....	57
2.4.2.1. Relación peso seco/peso fresco.....	57
2.4.2.2. Extractos liquénicos.....	58
2.4.2.3. Pigmentos fotosintéticos.....	58

2.4.2.4. Polifenoles solubles totales (PST).....	58
2.4.2.5. Productos de peroxidación de lípidos de membrana (MDA).....	58
2.4.2.6. Contenido de Azufre (S).....	59
2.4.2.7. Contenido multielemental.....	59
2.4.3. Análisis estadísticos.....	60
2.5. Resultados.....	61
2.6. Discusión.....	74
2.7. Conclusiones.....	79
CAPÍTULO 3- Análisis químicos y fisiológicos en <i>P. hypoleucites</i> trasplantada a Mina Alumbraera y tres localidades cercanas.....	
	81
3.1. Introducción.....	82
3.2. Hipótesis	85
3.3. Objetivos	85
3.4. Materiales y Métodos.....	85
3.4.1. Ubicación de los sitios de muestreo.....	85
3.4.2. Recolección y trasplante.....	87
3.4.3. Análisis químico-fisiológicos.....	88
3.4.3.1. Ácido lecanórico.....	88
3.4.3.2. Actividad antioxidante (TEAC).....	89
3.4.3.3. Reducción de TTC (RTTC).....	89
3.4.3.4. Metales indicadores de mina.....	90
3.4.4. Índice de Polución.....	90
3.4.5. Material particulado atmosférico (MPA).....	90
3.4.6. Análisis de los datos.....	92
3.5. Resultados.....	93
3.6. Discusión.....	107
3.7. Conclusiones.....	114
Discusión general	116
Conclusiones generales.....	119
Bibliografía.....	121

Organización de la tesis

Esta tesis comienza con un resumen, una introducción general, y la descripción del área de estudio. Así mismo, se plantean los objetivos e hipótesis generales del trabajo.

A continuación, se estructura en 3 capítulos, a saber:

El Capítulo 1 se refiere a los estudios de diversidad de líquenes saxícolas en tres cuencas asociadas a minería, tendientes a contribuir al conocimiento de la ecología de líquenes que crecen en áreas mineras del oeste de la provincia de Catamarca con distintos tipos y tiempos de actividad minera, como una primera aproximación al estudio del efecto de esta actividad sobre las comunidades liquénicas.

El Capítulo 2 se refiere a los análisis químicos y fisiológicos realizados en líquenes recolectados en las tres cuencas, a los fines de evaluar la capacidad de algunas especies *in situ* como biomonitoras de acumulación y respuesta en relación con la actividad minera, identificando los parámetros químicos y fisiológicos más adecuados como biomarcadores del efecto producido por contaminantes de este origen.

El Capítulo 3 se refiere a los análisis químicos y fisiológicos realizados en *Punctelia hypoleucites* trasplantada a Bajo la Alumbreira y tres localidades cercanas, tendientes a evaluar la respuesta de esta especie en relación con la actividad minera a cielo abierto, y seleccionar, aquellos biomarcadores e índices que mejor reflejen la composición del material particulado del aire, producto de las emisiones de origen minero.

Finalmente, se presentan la discusión, las conclusiones generales y las referencias bibliográficas.

Resumen

En la presente tesis se estudiaron cómo se modifican los patrones ecológicos y eco-fisiológicos en líquenes en áreas mineras metalíferas en ambientes de altura en la provincia de Catamarca, con la finalidad de evaluar el impacto de las actividades mineras sobre las comunidades de líquenes y aportar información y herramientas para el diseño de un sistema de biomonitoreo ambiental aplicado a esta actividad. Para ello se realizaron diversos estudios que abarcan dos aspectos de la biología de los líquenes: (a) A nivel ecológico, a través de estudios de composición de especies en tres cuencas aledañas a emprendimientos mineros; (b) A nivel de la respuesta del organismo, a través de estudios químicos y fisiológicos, tanto en especies recolectadas en las mismas zonas aledañas a los emprendimientos como en especies trasplantadas dentro y fuera de un complejo minero con extracción a cielo abierto. Los parámetros comunitarios medidos en las tres cuencas estudiadas variaron en función de las características climáticas de cada una, la altura sobre el nivel del mar y algunas variables de micrositio (principalmente el tipo de cobertura de suelo alrededor de las rocas). La composición de especies fue, principalmente, uno de los parámetros que permitió asociar algunos de estos cambios a la presencia de la actividad de mina. Por otra parte, se describieron las características de las comunidades de líquenes saxícolas generando información valiosa para futuros estudios, relevamientos de biodiversidad o línea de base para nuevos emprendimientos. En los estudios químicos con líquenes *in situ*, los resultados mostraron que tanto, *Punctelia hypoleucites*, como *Parmotrema reticulatum* respondieron a través del contenido multielemental, al material particulado en el aire y que la fuente principal de estos elementos es el suelo y roca característico de la zona y producto de las labores mineras que exponen al aire elementos característicos de los yacimientos. En *P. hypoleucites* trasplantada a la mina Bajo la Alumbreira la mayoría de los elementos analizados respondieron a las actividades de mina. Debido a las altísimas tasas de bioacumulación de Cu y Mo dentro de mina, estos elementos fueron los que mejor reflejaron las labores mineras. A su vez, empleando el biomonitoreo activo, se pudo determinar que el contenido de elementos indicadores de mina reflejó el contenido del material particulado sedimentable. Por último, el contenido de carotenoides y el índice Clor *b/a*. analizados en el biomonitoreo activo con *P. hypoleucites* y el contenido de MDA en el biomonitoreo pasivo fueron los parámetros que mejor reflejaron el daño líquénico debido a la exposición a la mina. Por lo tanto, los

resultados de los biomonitoreos pasivo y activo aportaron herramientas para la implementación de líneas de referencia ambiental y contribuyeron al desarrollo de un sistema de biomonitoreo de calidad de aire para el área minera del oeste de Catamarca.

Introducción general

Los líquenes son hongos que viven en una simbiosis mutualista con un organismo fotosintético, en la que el micobionte es el hospedador y el fotobionte (cianobacteria o alga verde) es el huésped (Hawksworth, 1988). El talo liquénico es el resultante fenotípico de esta relación y su morfo-anatomía está determinada, en la mayoría de los casos, por el micobionte. Sólo se conocen unos pocos casos en los que el fotobionte determina la morfología de todo el talo. Sin embargo, el conocimiento de la influencia del fotobionte en la morfogénesis del líquen es importante, porque sólo después del establecimiento de la simbiosis se desarrolla el talo característico de un líquen. En función de su hábito general, los líquenes se dividen tradicionalmente en tres grupos morfológicos principales: los tipos crustosos, foliosos y fruticulosos. Los líquenes crustosos están fuertemente adheridos al sustrato con su superficie inferior y no se pueden separar de él sin destruirse. Los líquenes foliosos tienen forma de hoja, son planos y sólo están parcialmente adheridos al sustrato. Los talos de los líquenes fruticulosos tienen forma de pelo, de cinta o de arbusto y los lóbulos pueden ser planos o cilíndricos, y siempre sobresalen de la superficie del sustrato. La mayoría de los líquenes, incluidas muchas especies crustosas, desarrollan talos estratificados internamente, cuya organización puede variar de acuerdo al hábito (Büdel & Scheidegger, 2008).

Los líquenes son clasificados como hongos y se estima que el número de especies varía desde 13.500 hasta aproximadamente 17.000 (Tehler & Wedin, 2008). Debido a que muchas regiones del mundo han sido escasamente exploradas, y dada la existencia de especies crípticas (Lücking et al., 2014) la estimación más elevada puede ser la más razonable.

Los líquenes son las formas de vida dominantes en alrededor del 8 % de la superficie de la tierra (Ahmadjian, 1995) principalmente en regiones polares y en la cima de las montañas. Estos lugares se caracterizan por estrés abiótico severo tal como la desecación, temperaturas extremas y alta intensidad luminosa. Podría decirse que, lo que realmente hace especiales a los líquenes y que los separa de los otros organismos eucarióticos, es su habilidad para tolerar condiciones de estrés extremas. Por esta razón, algunos son llamados líquenes “extremófilos”, organismos que pueden prosperar en condiciones que matarían a otros menos especializados (Beckett et al., 2008).

Es altamente probable que los líquenes fueran los primeros colonizadores de hábitats terrestres de nuestro planeta, haciendo frente a entornos adversos y contribuyendo a la evolución de las atmósferas más propicias para una amplia variedad de formas de vida. Actualmente juegan roles ecosistémicos importantes a escala global (Elbert et al., 2012). En ciertos ecosistemas, los líquenes pueden a menudo aportar biomasa sustancial y soportar una alta biodiversidad de micro y macroorganismos, generando redes tróficas complejas, aportando significativamente al flujo de energía (Palmqvist et al., 2008) y al ciclo de minerales (Nash III, 2008b). Además, son agentes de meteorización biológica y formadores de suelo (Asplund & Wardle, 2017). La desaparición de los líquenes, debido en muchos casos a causas antrópicas, ha conducido al empobrecimiento del ecosistema. Los líquenes son sensores naturales de un ambiente cambiante. La sensibilidad de determinadas especies de líquenes, asociada a un espectro muy amplio de condiciones ambientales, tanto naturales como no naturales, es un tópico ampliamente conocido (Conti & Cecchetti, 2001; Hawksworth et al., 2005). Por lo tanto, los líquenes se utilizan cada vez más en la evaluación de hábitats amenazados, en las evaluaciones de impacto ambiental y en el seguimiento de las perturbaciones ambientales, en particular las resultantes de un número creciente de contaminantes químicos (Nash III, 2008a).

A diferencia de las plantas superiores, carecen de cutícula cerosa y estomas y absorben fácilmente los gases y las sustancias disueltas en el aire a través de su superficie (Nash III, 2008a). Entonces, los líquenes al estar expuestos a contaminación atmosférica pueden generar distintos tipos de respuesta: cambios ecológicos a nivel de composición de especies, en su morfología, cambios metabólicos y químicos a nivel fisiológico y/o absorbiendo o reteniendo diversos elementos de la atmósfera.

La evaluación de la calidad atmosférica mediante el empleo de organismos se denomina bioindicación o biomonitoreo. Un bioindicador, es un organismo que reacciona a una dinámica ambiental específica mediante cambios observables y cuantificables. Midiendo estos cambios, como respuesta a una forma especial de polución pueden extraerse conclusiones sobre la fuente de emisión, y posiblemente su intensidad (dada como la relación entre el grado de polución y los cambios mensurables en el bioindicador); así como de la calidad global de ese ambiente (Markert, 1993). Actualmente, el uso de biomonitores de contaminación atmosférica representa una importante contribución a la gestión de la calidad del aire en nuestro país, ya que las mediciones de material particulado y otros polutantes requieren de equipamiento técnico costoso. Más aún, aunque los contaminantes más relevantes pudieran ser cuantificados mediante métodos

convencionales, éstos representarían sólo una selección de los contaminantes presentes en el ambiente, y dudosamente puedan derivarse los efectos globales de la contaminación atmosférica a partir de la concentración de componentes individuales (Nimis, 1990). A diferencia de ello, las reacciones de organismos vivos reflejan los efectos causados por todos los contaminantes atmosféricos y constituyen una expresión de las condiciones ambientales (Manning y Feder, 1980). Los líquenes son los bioindicadores más ampliamente utilizados para la evaluación de la calidad de aire, debido a su sensibilidad a condiciones ambientales, las cuales originan cambios mensurables en sus componentes específicos. En áreas urbanas para evaluar calidad de aire (Nimis et al., 2002), en sistemas forestales para evaluar el estado de los bosques (Zambrano García et al., 2000), los efectos del fuego (Boudreault et al., 2002; Rodríguez et al., 2009), de las prácticas agrícolas (Filippini et al., 2020a) y de industrias extractivas como la minería (Yadav et al., 2018). Además, se han realizado estudios novedosos de biomonitoreo magnético pasivos, activos e in situ, para evaluaciones espaciales y temporales (Avalo, 2021; Chaparro, 2021; Chaparro et al., 2013; Gómez et al., 2021; Marié et al., 2016, 2018, 2020).

Es posible distinguir entre dos tipos fundamentales de biomonitoreo: el biomonitoreo activo, que se fundamenta en determinar el efecto o la concentración de contaminantes en organismos introducidos a un ecosistema, y el biomonitoreo pasivo, que consiste en medir el efecto o la concentración de contaminantes en especies que habitan naturalmente la zona (Caggiano et al., 2005).

Los estudios ecológicos desarrollados en líquenes como bioindicadores y biomonitores de contaminación atmosférica tienden a relacionar la presencia o ausencia de especies, su densidad, frecuencia de aparición y/o porcentaje de cobertura. A nivel mundial se han realizado muchos estudios de diversidad de líquenes relacionados a la polución atmosférica en áreas urbanas (Gombert et al., 2004; Loppi et al., 2002a; Mikhaylov, 2020; Pinho et al., 2004). Además, se han reportado diversos estudios de ecología de líquenes en relación con la minería, los cuales se centran en el análisis de la biota líquénica (Bielczyk et al., 2013; Charak et al., 2009; Díaz Escandón et al., 2016; Yadav et al., 2018).

Si bien los líquenes son excelentes bioindicadores de procesos ecosistémicos asociados a disturbios ambientales, el seguimiento en el tiempo de la comunidad líquénica requiere de registros sistemáticos de diversidad o de listas de especies amenazadas. En Argentina estos estudios son escasos. Se han reportado estudios ecológicos en líquenes epífitos para evaluar zonas urbanas (Estrabou et al., 2011), el estado de bosques nativos (Estrabou et al., 2014; Filippini et al., 2014) la recuperación de las comunidades líquénicas post incendio

(Rodríguez et al., 2009; Perazzo & Rodríguez, 2019), cambios en la composición de especies ante eventuales escenarios de calentamiento global (Rodríguez et al., 2017; Costas et al., 2021), en líquenes saxícolas de ambientes serranos para establecer redes de monitoreo (Lavornia et al., 2012).

En la provincia de Catamarca no hay estudios que registren sistemáticamente la abundancia de líquenes. Estrabou et al. (2010) realizaron un estudio preliminar de la comunidad líquénica, en términos de diversidad específica, en áreas de la provincia de Catamarca (Valle Central y sierras de Ambato); con el objetivo de establecer una línea de base que permitiera detectar mediante un seguimiento en el tiempo, cambios ambientales en las áreas de estudio. Éste constituye el único trabajo en su tipo desarrollado en Catamarca, en áreas que fitogeográficamente corresponden a Chaco Serrano y Chaco Árido. Por otro lado, no se han reportado estudios ecológicos relacionados a minería.

Los líquenes se utilizan ampliamente como bioacumuladores de oligoelementos, debido a su resistencia a los metales pesados y a que su metabolismo depende estrictamente de los intercambios atmosféricos (Garty, 2001). El uso de líquenes como biomonitores de acumulación se debe a su capacidad específica para absorber y/o retener diversos elementos de la atmósfera, combinados con su longevidad y la resistencia al estrés ambiental. Esta metodología asume que la concentración de elementos traza en líquenes refleja la concentración de los mismos en el material particulado en el aire y su deposición tanto en húmedo como en seco durante un cierto período (Steinnes, 1989). Además, el contenido de metales en ciertas especies de líquenes permite inferir la proporción de estos elementos en el ambiente (Pignata et al., 2007).

En Argentina, la bioacumulación elemental se ha puesto de manifiesto en estudios de biomonitoreo con líquenes y, en simultáneo con plantas epífitas del género *Tillandsia* L., encontrándose que las actividades urbanas e industriales son fuente de Co, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb y Zn (Bermudez et al., 2009; Carreras & Pignata, 2002; Pignata et al., 2007; Wannaz et al., 2006). Las prácticas agrícolas también fueron identificadas como posibles fuentes de metales pesados, atribuidas tanto a la remoción de suelos superficiales como al uso de agroquímicos (Bermudez et al., 2009; Filippini et al., 2020; Pignata et al., 2002; Wannaz et al., 2006). Aunque estos hallazgos indican la asociación de contaminantes con posibles fuentes de contaminación atmosférica, también dan información sobre las características del suelo, ya que los líquenes y las epífitas acumulan elementos del medio al que están expuestos. Así, Pignata et al. (2007) encontraron en el líquen *Ramalina celastri*, un enriquecimiento en arsénico relacionado con el material particulado del suelo. Además, el

uranio y el plomo se asociaron a la minería (Pignata et al., 2007) y a la composición de las rocas graníticas características de los materiales parentales encontrados en las zonas serranas de la provincia de Córdoba (Pignata et al., 2002). En estudios de calidad de aire realizados por Cañas et al. (2017) y Mohaded et al. (2008, 2010, 2011) en el yacimiento minero Bajo La Alumbreira y su área de influencia, se detectó elevada acumulación multielemental en el líquen *Parmotrema austrosinense* empleado como biomonitor activo. Así mismo, para evaluar el efecto de contaminantes atmosféricos sobre líquenes se emplean numerosos parámetros. Muy importantes son los cambios fisiológicos y bioquímicos observados en respuesta a contaminantes atmosféricos (Boonpragob, 2002). La evaluación sistemática de la calidad atmosférica a partir de la respuesta fisiológica constituye una metodología ampliamente desarrollada. Una de las respuestas más estudiadas es la degradación de pigmentos fotosintéticos como signo de daño liquénico a consecuencia de la acción fitotóxica de contaminantes atmosféricos (Boonpragob, 2002; Cañas, 2001; Frati et al., 2011; Ocampo et al., 2009; Palomeque et al., 2007; Palomeque, 2008). Daños significativos a membranas celulares de líquenes se han visto también como resultado de la exposición a contaminantes atmosféricos (Carreras et al., 2005; Filippini et al., 2020b; Mateos & González 2016).

Los líquenes contienen gran cantidad de compuestos fenólicos, los cuales poseen distintas actividades biológicas altamente comprobadas. Sin embargo, pocas investigaciones se han referido a la capacidad antioxidante que poseen los mismos (Kosanić et al., 2011; Manojlović et al., 2012; Rankovic et al., 2010a; Silva et al., 2010), así como a los posibles roles (Valencia-Islas et al., 2007) y/o cambios en la concentración de los compuestos fenólicos que puedan surgir como respuesta a polución (Cuny et al., 2002). En este sentido, Córdoba et al., (2012) observaron una disminución en el contenido de ácido lecanórico en *P. austrosinense* trasplantada a sitios contaminados de San Fernando del Valle de Catamarca.

Las técnicas de trasplante se han utilizado para monitorear la contaminación atmosférica en zonas donde los líquenes son escasos o están ausentes (Adamo et al., 2003; Bergamaschi et al., 2007; Sorbo et al., 2008). Entre ellas, la técnica de trasplante en bolsa se utiliza habitualmente para monitorear la contaminación atmosférica urbana en el centro de Argentina (Adamo et al., 2003; González y Pignata, 1999; Carreras y Pignata, 2002; Bermúdez et al., 2009). Menos frecuentes son los estudios químico-fisiológicos realizados con líquenes *in situ* para evaluar calidad de aire (Pignata et al., 2004, 2007). Recientemente, también se ha empleado la técnica de trasplante para realizar estudios de

biomonitoreo magnético, para evaluaciones espaciales y temporales (Chaparro, 2020; Marié et al., 2020).

En la provincia de Catamarca, en el extremo norte del ambiente morfoestructural de las Sierras Pampeanas, se emplazó a fines del Terciario el Complejo Volcánico Farallón Negro dando origen a yacimientos tipo pórfidos de cobre y epitermales (Gutierrez et al., 2006). Estos yacimientos, ubicados en la caldera de un estratovolcán erodado forman parte del distrito Yacimientos Mineros Agua de Dionisio (YMAD). En este distrito se encuentran proyectos en construcción como Agua Rica (cobre y molibdeno), proyectos extractivos en marcha, como Farallón Negro (oro y plata) y Mina Capillitas (rodocrosita) y en etapa de cierre de mina, como Bajo la Alumbreira (cobre, oro y molibdeno). Asimismo, existen en la provincia Áreas de Reservas Geológica-Mineras con potencialidades para la exploración, desarrollo y eventual explotación de los depósitos que se detecten. La minería es una de las actividades productivas que generan mayor impacto ambiental (Boamponsem et al., 2010) y actualmente es la principal actividad económica de Catamarca.

A pesar de que algunos proyectos mineros tienen sistemas automáticos para la monitorización continua de material particulado atmosférico, es difícil extender esta metodología a todas las áreas que podrían verse afectadas por los fenómenos de contaminación, debido a los altos costos y dificultades técnicas que estos implican; ya que conseguir mediciones simultáneas de diversos contaminantes en diferentes puntos requiere un gran número de estaciones de muestreo. Una alternativa a estos métodos tradicionales, con bajo costo y de ejecución relativamente rápida, es monitorear la calidad del aire usando líquenes, que se han propuesto como biomonitores tanto de acumulación y de respuesta (Arndt et al., 1995).

La mayoría de los estudios ambientales que utilizan líquenes como bioindicadores, /biomonitores activos o pasivos, atienden específicamente alguno de los aspectos de su biología, ya sea a nivel ecológico (estudio de poblaciones, comunidades y ecosistemas), o al nivel de la respuesta del organismo (a través de los cambios químicos y fisiológicos, entre otros). Sin embargo, son muy escasos los trabajos que involucran más de un nivel de análisis, abarcando un mayor número de respuestas posibles ante los disturbios o las emisiones antropogénicas, y menos aún en relación con la actividad de minería.

Hipótesis general

Algunos procesos mineros, tales como generación de material particulado y emisión de gases de combustión por fuentes fijas y móviles provocan cambios en la diversidad, frecuencia y cobertura de líquenes. A nivel eco-fisiológico, debido a estas perturbaciones, algunas especies de líquenes acumulan algunos metales y/o metaloides. Además manifiestan estrés oxidativo y degradación de pigmentos fotosintéticos. Por último, la magnitud de estas variaciones está asociada a los diferentes tiempos y tipos de explotación.

Objetivo general

Se pretende a través del desarrollo del presente trabajo, contribuir al conocimiento de la biodiversidad de líquenes que crecen en áreas mineras del oeste de la provincia de Catamarca, a través de su recolección, identificación y caracterización ecológica. Además, se busca evaluar la capacidad de algunas especies liquénicas como biomonitores de acumulación y de respuesta, a través de la medición multielemental y de parámetros fisiológicos, en las zonas de estudio. Por último, con estos estudios, se pretende contribuir a la constitución de una línea de base ambiental para el seguimiento y control de un área de gran vulnerabilidad ecosistémica, que soporta el actual desarrollo minero a través de emprendimientos de gran envergadura.

Descripción del área de estudio

El área analizada abarca porciones de las sierras de Capillitas, Ovejería, Complejo Volcánico Farallón Negro y Aconquija, ubicadas en el extremo norte de las Sierras Pampeanas Noroccidentales (Ramos, 1999), (Fig. 1).

La región cuenta con rocas metamórficas y graníticas paleozoicas intruidas por el Complejo Volcánico Farallón Negro (CVFN) y una topografía de cuencas y cordilleras desarrollada en el Mioceno tardío (Sasso, 1997). El CVFN es la manifestación más oriental de la actividad volcánica neógena en esta área, y constituyó parte de una zona volcánica extremadamente amplia y dispersa a través de los Andes (Clark et al., 1976). Se encuentra dentro de una transecta en la que la inclinación de la actual Zona Wadati-Benioff disminuye gradualmente de norte a sur (Sasso, 1997; Sasso & Clark, 1998). El magma

ascendente puede haber sido facilitado por la formación de cuencas extensionales locales a lo largo de la Zona de Transferencia de Tucumán (Sasso & Clark, 1998). Durante mucho tiempo se ha considerado que el complejo representa los restos de un gran estratocono que albergaba numerosas intrusiones subvolcánicas, que fue erosionado hasta una sección subhorizontal a través de la base del sistema volcánico (Proffet, 2003). Para Harris et al. (2006), la sucesión de Farallón Negro está dominada por gruesas secuencias de brechas volcano-sedimentarias con sólo lavas menores depositadas en una cuenca sedimentaria de antepaís activa hasta la Puna-Altiplano.

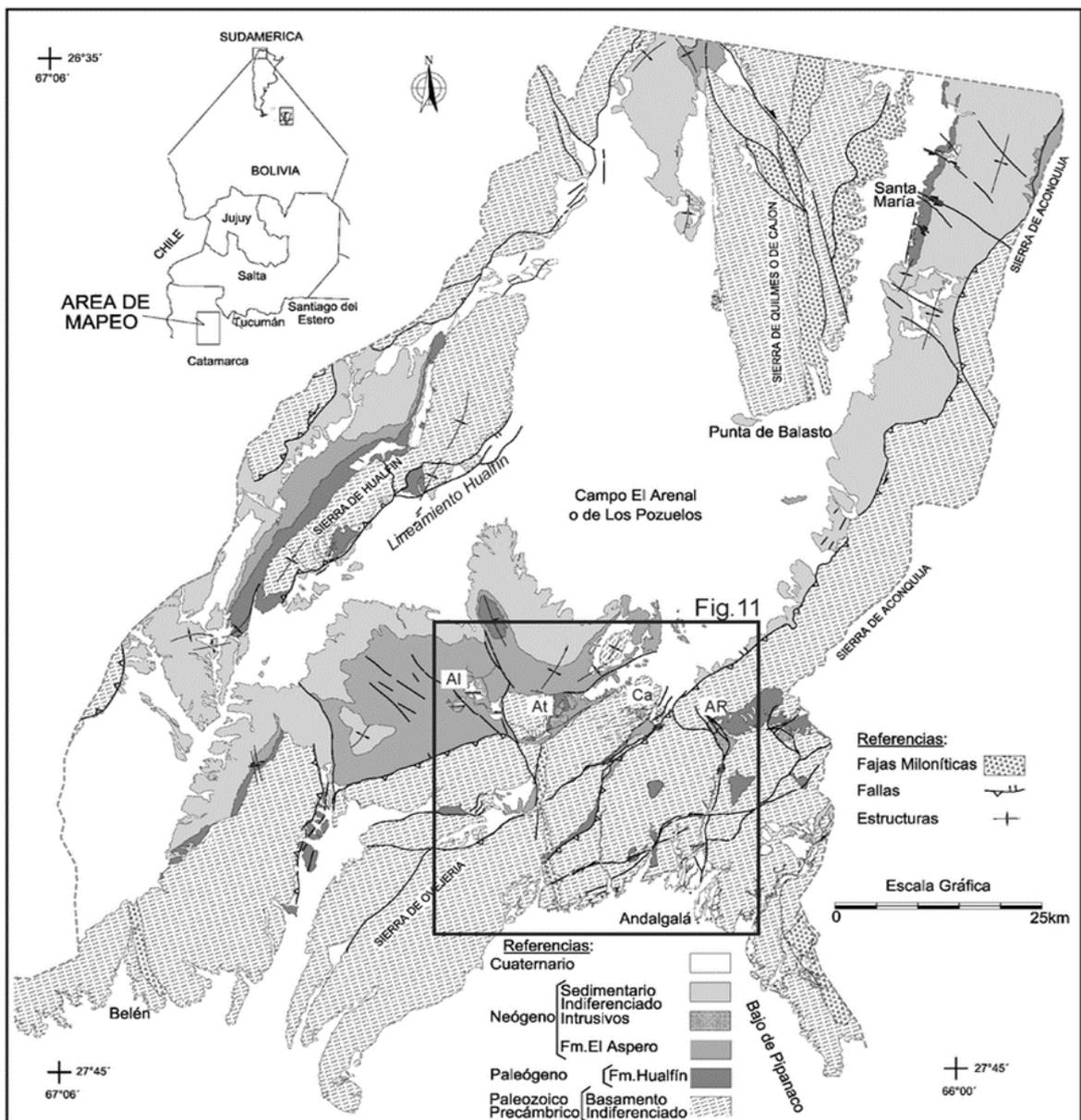


Figura 1. Mapa geológico regional del extremo norte de las Sierras Pampeanas Noroccidentales, contrafuertes de la depresión de Campo el Arenal. Sierras de Ovejería - Capillitas, Aconquiya,

Hualfín y el Cajón. (Al: La Alumbreira; At: Cerro Atajo; Ca: Capillitas; AR: Agua Rica). Extraído de Seggiaro et al. (2014).

Los principales eventos extrusivos en CVFN se produjeron entre 9,7 y 7,35 Ma, con intrusiones de pórfido cogenético emplazadas entre 8,3 y 6,1 Ma en la andesita Farallón Negro y más al este, en el basamento paleozoico, que son responsables de la formación del pórfido de Cu-Au Bajo la Alumbreira (Ulrich et al., 2002; Ulrich & Heinrich, 2002) y el yacimiento de Agua Rica (Peréllo et al., 1998; Rojas et al., 1998).

Los estudios de diversidad de líquenes saxícolas y los análisis químicos y fisiológicos con líquenes in situ, se centraron en tres zonas cercanas a importantes emprendimientos mineros, que abarcan la cuenca del río Vis Vis (CRV), ubicada aguas abajo de la mina “Bajo la Alumbreira”; la cuenca del río Potreross (CRP), ubicada aguas abajo del proyecto minero “Agua rica”; y la mina “Capillitas” (CAC) y sus alrededores (Fig. 2). Los estudios con líquenes trasplantados se realizaron en el área de mina Bajo la Alumbreira y localidades cercanas.

Alumbreira es una empresa que opera en los yacimientos mineros cupríferos Bajo la Alumbreira y Bajo del Durazno, ubicados en el noroeste de la provincia de Catamarca a 2.600 metros sobre el nivel del mar. Bajo la Alumbreira se trata de un yacimiento de cobre, oro y molibdeno con recursos minerales históricos de 767 Mt y una ley promedio de 0,54% de Cu y 0,64 g/t de Au (Profet, 2003; Velasco, 1999) y se consideraba uno de los veinte mayores pórfidos de Cu-Au del mundo en 2004 (Hollings et al., 2004). Ha sido uno de los diez mayores productores de Cu y fue el decimocuarto productor de Au del mundo (Ulrich & Heinrich, 2002). Este yacimiento se explotó en superficie desde sus comienzos, año 1997, hasta el año 2015. Posteriormente la explotación se trasladó a un pequeño yacimiento satélite de Bajo la Alumbreira, “Bajo el Durazno”, el cual se explotó hasta mediados del 2018. Actualmente la empresa minera continúa con la explotación en galerías y se encuentra en etapa de cierre de mina. El presente estudio se realizó durante la etapa de explotación del yacimiento “Bajo el Durazno”, el cual también es un yacimiento de cobre, oro y molibdeno, ubicado a 4 km de Bajo la Alumbreira y cuenta con 93 Mt millones de toneladas de mineral con una ley promedio de 0,17% de Cu y 0,42g/t de oro (Glencore, 2017) con una relación Au/Mo ≥ 80 (Bruna Novillo, 2018).

El procesamiento básico de extracción incluye: perforación y voladura. Luego el mineral volado se transporta hacia la trituración primaria (chancador) mientras que los residuos se depositan en la mina (botaderos). Los procesos de tratamiento y concentración del mineral abarcan las siguientes operaciones tecnológicas: trituración primaria, secundaria y

terciaria, cribado y almacenamiento, molienda y clasificación, flotación y, por último, la eliminación de los residuos en el dique de colas (Xstrata Copper-Minera Alumbreira, 2015). La exposición de esta gran masa de minerales estériles a la corriente de aire constante y al viento provoca la distribución de polvo fino en el aire. La mineralización primaria de “Bajo de Alumbreira” está constituida por venillas de calcopirita, pirita y magnetita; la mineralización de Cu-Au está asociada con la zona de alteración potásica, definida por biotita secundaria-feldespatos potásicos, magnetita, cuarzo y anhidrita y la alteración propilítica constituida por epidota, clorita, albita y magnetita. Sericita, pirita y cuarzo caracterizan a la alteración fílica sobrepuesta a las zonas de alteración potásica y propilítica (Gutiérrez, et al., 2006; Profet, 2003; Ulrich & Heinrich, 2002; Ulrich et al., 2002;). La mineralización de Cu-Au en el Bajo El Durazno está asociada a la intrusión de un pórfido andesítico con menor cantidad de Ag y Mo (Allison, 1986; Alderete, 1999). En la zona central del yacimiento se desarrolló alteración potásica compuesta por feldespatos potásico-biotita, acompañada de mineralización diseminada de pirita y calcopirita con magnetita, hematita, bornita, esfalerita y molibdenita. Hacia la zona externa continúa la alteración de sericita-arcilla con abundantes minerales de sulfatos como jarosita ($\text{KFe}_3(\text{SO}_4)_2(\text{OH})_6$), natrojarosita ($\text{NaFe}_3(\text{SO}_4)_2(\text{OH})_6$), yeso (CaSO_4), con mayor diseminación y vetillas de pirita que en la zona potásica (sin la presencia de mineral de cobre), pasando luego a la alteración propilítica. El mayor volumen mineralizado está en las venas entre el stock y sus paredes con cuarzo, calcita, magnetita, pirita (FeS_2), calcopirita (CuFeS_2) y menor proporción de sericita, clorita, ortoclasa, biotita, siderita, molibdenita, bornita, esfalerita, galena, tetraedrita-tenantita y oro nativo (Alderete, 1999; Allison, 1986; Gutiérrez, et al., 2006). El principal mineral que se extrae en Alumbreira es el sulfuro combinado de Fe y Cu (calcopirita, CuFeS_2). Este mineral se extrae por métodos físicos de flotación, obteniéndose un concentrado de calcopirita entre otros minerales, el cual luego es transportado a través de un mineroducto a una planta de secado, donde se obtiene el producto final que es comercializado (Xstrata Copper-Minera Alumbreira, 2015). Generalmente, los depósitos que contienen este mineral son depósitos de sulfuro de Fe en los que el Cu solo se encuentra en cantidades subordinadas. Además del mineral de Cu en Alumbreira se extrae oro. La mayor parte del oro que se encuentra en el yacimiento Bajo la Alumbreira es oro libre, lo cual implica que no está químicamente disuelto en los demás minerales, sino que se libera en forma de partículas de oro separadas del resto. Cerca del 5 % del oro se recupera por un método gravitacional. El resto es muy fino y “flota” con el cobre, por lo tanto, queda incluido en el concentrado de cobre. Este método se realiza en lo que

denominan sala de oro, donde por los métodos antes mencionados se va concentrando el oro que se encuentra en granos libres, luego se realiza una calcinación a alta temperatura para eliminar los restos de minerales de azufre (Xstrata Copper-Minera Alumbreira, 2015), lo cual libera a la atmósfera óxidos de azufre, entre otros y algunos metales pesados contaminantes. La empresa minera realiza estudios de calidad de aire establecidos como compromiso en la Declaración de Impacto Ambiental (DIA) que emite la Autoridad de control en aprobación del informe del impacto ambiental (IIA) que se exige previo al inicio de las actividades de exploración y explotación. Tales estudios se realizan en forma periódica con métodos tradicionales para la determinación de diferentes fracciones de material particulado en el aire (material particulado en suspensión-TPS, material particulado en suspensión menor a 10 μm -PM10 y material particulado sedimentable-MPS). A su vez en las fracciones TPS y MPS se mide el contenido de algunos parámetros indicadores de mina (sulfato- SO_4^{2-} , nitrato- NO_3^- , As, Pb, Fe, Cu, Mo, Mn, Sr, Zn y Cd). Por otro lado, Minera Alumbreira realiza un seguimiento periódico de la flora y la fauna (vertebrados e invertebrados) en términos de riqueza y en la composición porcentual de especies en los sitios que contemplan el área de influencia de las operaciones desde el río Vis Vís, pasando por la mina hasta Campo del Arenal, a partir de programas de control de biodiversidad (Xstrata copper Minera Alumbreira, 2011). Además, lleva adelante un programa intensivo de revegetación con especies nativas para la restauración paisajística como parte de las operaciones de cierre de mina, lo cual incluye la rehabilitación de las áreas de botaderos y dique de colas. Para ello, se ha realizado un relevamiento exhaustivo de la vegetación y un inventario de especies, los cuáles solo incluyen plantas superiores, sin hacer mención a líquenes (Carrizo & Córdoba, 2005; Carrizo & Esteban, 2014). A su vez, también cuenta con una guía de vertebrados, con la descripción de las especies que habitan la zona (Autino & Montero, 2012).

Mina Capillitas está ubicada en Andalgalá, Catamarca, a 27° 27' latitud Sur y 66° 30' longitud Oeste a 3000 m.s.n.m. Es una mina de explotación en galerías o subterránea a pequeña escala. La explotación más remota registrada en Mina Capillitas fue seguramente la realizada por aborígenes durante el Imperio Incaico, según evidencian los útiles de piedra encontrados en la veta Ortiz (Márquez Zavalía, 2008). Sin embargo empezó a explotarse mayor escala para la extracción de Cu en 1856 en forma intermitente hasta el año 1991. Desde entonces solo se explota rodocrosita (mineral considerado semiprecioso por su color y brillo característico). Los minerales metálicos y no metálicos, ocurren en vetas hospedadas en rocas graníticas y volcánicas. La mineralogía es muy variada e incluye

más de un centenar de especies minerales identificadas. La mineralización es, principalmente, de cobre, plomo y zinc, con arsénico, antimonio, oro y plata como elementos accesorios, en ganga de rodocrosita y cuarzo. Los minerales primarios más abundantes son sulfuros: pirita (FeS_2), esfalerita (ZnS), galena (PbS), calcopirita (CuFeS_2), marcasita (FeS_2), pirrotina (Fe_7S_8), tennantita ($\text{Cu}_6\text{Cu}_4(\text{Fe}^{2+}, \text{Zn})_2\text{As}_4\text{S}_{12}$), enargita (Cu_3AsS_4), bornita (Cu_5FeS_4), estañita ($\text{Cu}_2\text{FeSnS}_4$) y oro (Márquez Zavalía, 2002). La erosión del área puso al descubierto las vetas, que hoy constituyen un yacimiento polimetálico vetiforme de tipo epitermal (Lieber, 2000). En este depósito se reconocieron una veintena de vetas: la veta Capillitas fue una de las primeras explotadas en el depósito y, conjuntamente con las vetas 25 de Mayo, Nueve y Ortiz, se encuentra entre las más importantes y más explotadas del yacimiento. Actualmente se explota la veta Ortiz.

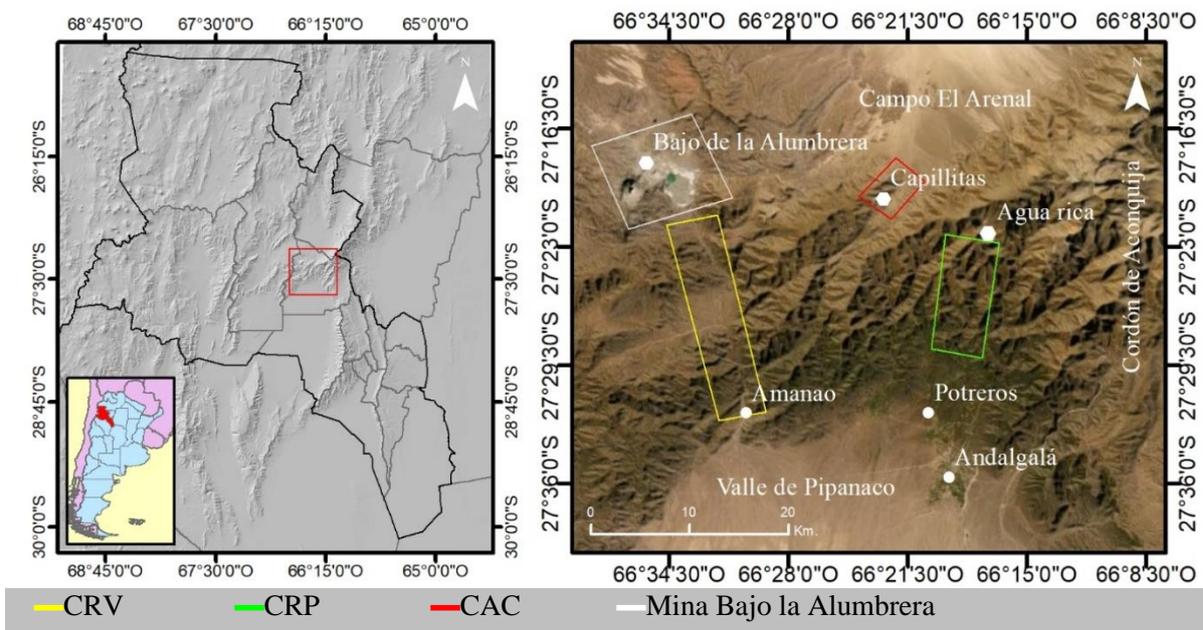


Figura 2. Mapa con la localización del área de estudio. Los rectángulos de colores encierran las áreas donde se realizaron estudios de diversidad de líquenes saxícolas y los análisis fisiológicos con líquenes *in situ*, el rectángulo blanco encierra el área dentro de mina, donde se realizaron los estudios con líquenes trasplantados.

El área se encuentra limitada al norte por el Campo del Arenal, por la Sierra de Aconquija hacia el NE, y hacia el sur por el Salar del Pipanaco. La Sierra de Aconquija se presenta como un bloque alargado con rumbo noreste-suroeste, con una longitud de 105 km y un ancho que varía entre los 40 y los 60 kilómetros. De altitud uniforme, existen zonas de la sierra que superan los 5.000 m.s.n.m. Esta cordillera también es conocida como Nevados

del Aconquija, ya que sus cumbres más elevadas poseen hielos y nieves eternas. La ladera occidental, es árida y rocosa presentando vegetación de arbustos espinosos. Al pie de las estribaciones meridionales de la sierra de Aconquija se encuentra ubicada la población de Andalgalá, y al sur el Campo de Belén, un espacio desértico que forma parte del Salar o Valle del Pipanaco. Éste último está constituido por numerosos ríos y arroyos que convergen en esta depresión central. Su extensión es de aproximadamente 600 km². La cuenca limita al norte, oeste y este por altas montañas y al sur por una planicie.

El factor orográfico es en Catamarca, donde representa cerca el 70 % de su superficie (Cabral & Bastons, 2016), el más determinante de los factores físicos, ya que condiciona en gran medida la manifestación de otros factores: distribución de los aportes pluviales, control en el desarrollo de las redes de drenaje, control secundario, a través de la geomorfología y distribución de humedad, en el desarrollo y maduración de los suelos y, por suma, control secundario sobre la flora y el tipo de vegetación (Alderete, 1999; Morlans, 1995, 2005). Por lo tanto, toda vez que se hable de regiones naturales de Catamarca y se piense en términos de causas y consecuencias, es necesario hacer una especial mención a los sistemas montañosos.

La sierra de Aconquija constituye un elemento estructural positivo determinante en la configuración del clima de la región. Conforman una importante divisoria de aguas que se extiende en el sector oeste de la provincia de Tucumán y centro de la provincia de Catamarca, determinando una variabilidad climática notable en esa región del noroeste de la República Argentina. Esta barrera orográfica determina un clima subtropical, con precipitaciones que alcanzan los 3.000 mm anuales en el piedemonte oriental, mientras que en el sector occidental reina un clima cálido a templado, continental y semiárido, con precipitaciones variables entre los 100 y 300 mm anuales ocurridas generalmente durante la época estival (Fig. 3). En las altas cumbres hay marcados extremos térmicos y en las laderas occidentales hay desiertos de altura originados por la sombra de lluvia ocasionada por el efecto topográfico.

En general, el área de estudio está dominada por un clima templado, con una marcada continentalidad. Según la clasificación de Köepen y Geiger, corresponde al tipo BWk, “frío de desierto”. Se caracteriza por su aridez, amplitud térmica y fuerte insolación, con lluvias concentradas en la época estival y un marcado déficit hídrico. Los vientos son desecantes y la humedad atmosférica es muy baja (Paoli, 2003).

El área presenta temperaturas medias en verano de 25,6 °C y en invierno de 13,4 °C. Allí predominan los vientos del sudeste, sur y oeste (González Bonorino, 1972; Servicio

Meteorológico Nacional, 1981). Por otra parte, hay toda una gama de efectos climáticos locales (microclimas) dados por la presencia de quebradas, orientación de las laderas, etc.; es decir, dependientes también del factor orográfico.



Figura 3. Esquema de circulación eólica en la sierra de Aconquija. Extraído de Alderete (1999).

En un estudio denominado “Calidad de aire ambiental-Monitoreo de polvo atmosférico respirable PM10” realizado en el año 2007 en tres periodos de 10 días (del 10 al 20 de Marzo, del 3 al 13 de Junio y del 29 de Agosto al 8 de Septiembre) se registraron datos de velocidad y dirección de los vientos en diferentes sitios dentro del área de estudio. En el periodo de marzo y agosto-septiembre los vientos predominantes fueron del sector sureste-SE en Mina Alumbreira y del sector este-E en Agua rica y en Junio los vientos predominantes fueron del sector noroeste-NO en Mina Alumbreira y del sector O en Agua rica (Herrero, 2018). Estas direcciones coinciden con las orientaciones de las quebradas en donde se asientan ambos complejos mineros, poniendo de relieve la importancia de la orografía en estas variables.

La mayor cantidad de datos meteorológicos se registraron en Andalgalá y Belén, las dos localidades más importantes, cercanas al área de estudio. El promedio de precipitaciones registrado en la estación meteorológica de Andalgalá (datos de 70 años) es de 310 mm anuales, con picos máximos en 1923 y en 1977 y mínimos en 1941 y 1950. En la cuenca del río homónimo se calcularon precipitaciones medias anuales de 560 mm y máximas de

920 mm y mínimas de 405 mm/año (Comba, 2017). En la localidad de Belén, el promedio de precipitaciones anuales es de 244 mm. La temperatura media en verano es de 25,6 °C y en invierno de 13,4 °C (Gonzalez Bonorino, 1972; Paoli, 2003).

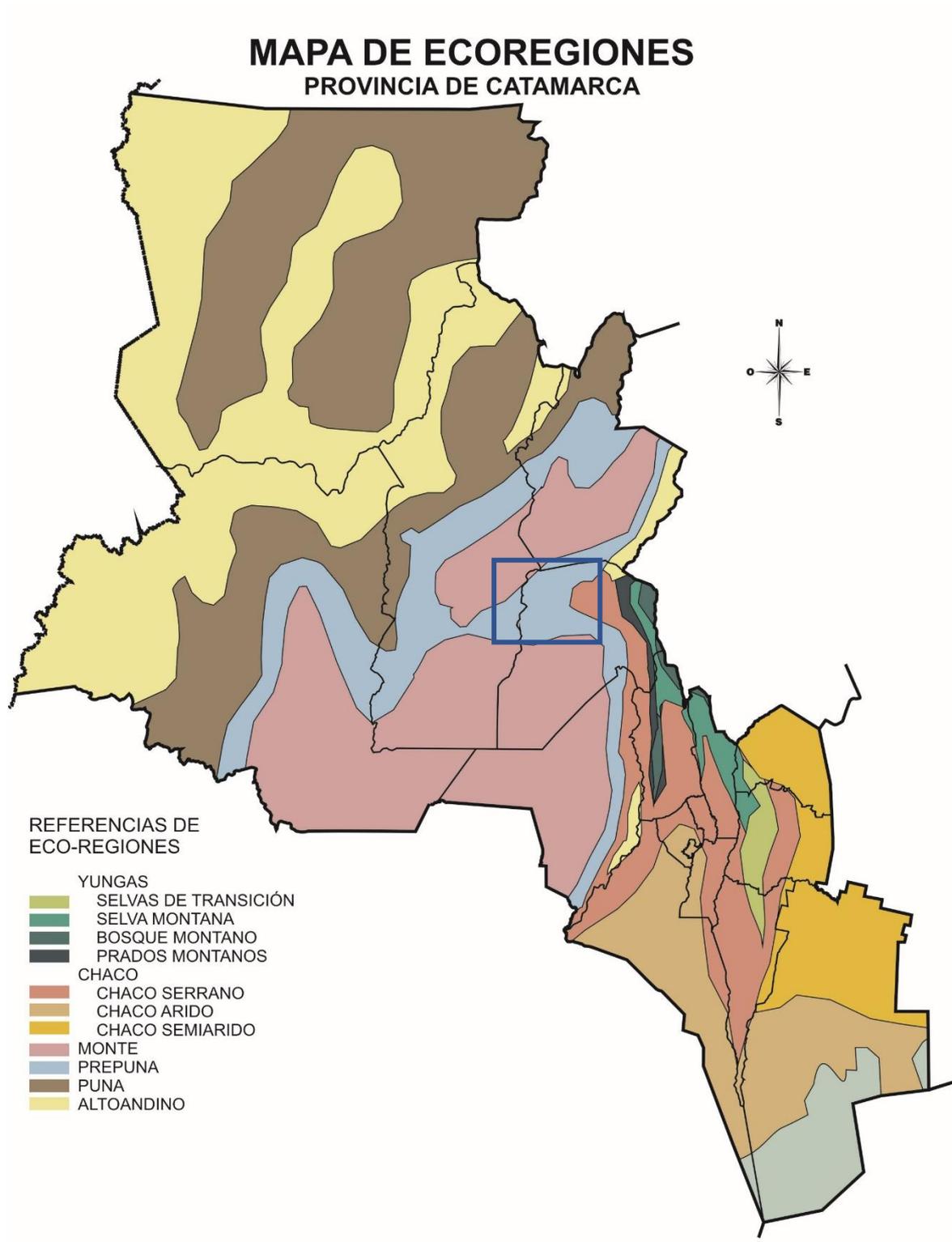


Figura 4. Mapa de las eco-regiones de la provincia de Catamarca. Extraído de (Perea, 2011). El cuadro azul muestra la ubicación del área de estudio.

El área de estudio incluye varias provincias fitogeográficas, entre las que se encuentran Monte, Prepuna y Chaco serrano (Fig. 4). La zona de Minera Alumbreira y alrededores incluyendo la cuenca del río Vis Vis, de acuerdo a las especies presentes y la fisonomía de la vegetación dominante, posee las afinidades botánicas para que sea ubicada en la Provincia Fitogeográfica del Monte (Cabrera, 1976; Morlans, 1995). En el área de estudio la Prepuna ocupa principalmente las laderas y pedemontes altos de las Sierras Pampeanas, como el sureste de la Sierra de Aconquija (Dpto. Andalgalá) y la mayor parte de la Sierra de Capillitas (Dptos. Andalgalá, Belén y Santa María). En este sector se ubica la localidad minera de Capillitas. El Chaco Serrano ocupa las laderas y cumbres de los sistemas serranos comprendidos entre los 600 y los 2500 a 3000 m.s.n.m., de los Departamentos Andalgalá, Ambato, Capayán, Capital, Valle Viejo, Fray M. Esquiú, Paclín, El Alto y Ancasti. En Andalgalá el chaco serrano comprende sectores de los sistemas montañosos de la Sierra de Capillitas y ladera oeste de la sierra de Aconquija (Dpto. Andalgalá), donde se encuentra emplazado el proyecto minero Agua Rica y la cuenca del Río Potreros (Fig. 5).

El Monte presenta una vegetación predominante de estepa arbustiva abierta (Karlin et al., 2017; Morlans, 1995), xerófila, caracterizada por la dominancia de jarillas (género *Larrea*), y con presencia de otras formaciones vegetales, que aparecen según distintos relieves, tipos de suelo y proximidad al agua permanente. Así es como encontramos el arbustal espinoso de los pedemontes, arbustales halófilos y bosques de algarrobos.

La Prepuna presenta una vegetación predominante de estepa arbustiva abierta y xerófila, con cactáceas columnares o cardonales y cojines de bromeliáceas o chaguarales (Cabrera, 1976; Morlans, 1995), diferenciándose principalmente del Monte, con quien comparte muchas especies, por la escasa dominancia de jarillas (género *Larrea*). La vegetación característica del Chaco Serrano es un bosque mayormente caducifolio, actualmente mejor conservado que el Chaco Árido y el Semiárido, donde las alteraciones existentes son fundamentalmente por sobrepastoreo e incendios, está ubicado entre los 600 y los 1600 a 1800 m.s.n.m. Este bosque, donde se conserva en un estado más natural, está compuesto por un estrato arbóreo único, más cerrado a medida que existe mayor humedad, dominado por *Schinopsis lorentzii* (orco quebracho), al que acompañan *Aspidosperma quebracho-blanco* (quebracho blanco), *Celtis erenberghiana* (tala), *Prosopis nigra* (algarrobo negro), *Zanthoxylon coco* (coco), *Lithraea molleoides* (molle de beber), *Acacia visco* (viscote), *Ceiba insignis* (palo borracho) y *Ruprechtia apetala* (sacha membrillo). Acompañan a los

árboles de este bosque, un estrato arbustivo netamente caducifolio, donde podemos mencionar como más importantes a *Vachellia praecox* y *Senegalia gilliesii* (garabatos), *Mimosa farinosa* (shinki), *Vachellia aroma* (tusca), *Vachellia caven* (churqui), *Condalia microphylla* (piquillín), entre otras. También encontramos un importante estrato herbáceo de gramíneas y de herbáceas latifoliadas, y de bromeliáceas (chaguares), que forman densos cojines en las laderas más empinadas.



Figura 5. Imágenes del área de estudio. A- Cuenca del río Vis Vis. B- Roquedales en los márgenes del arroyo Capillitas con presencia de drenajes ácidos de mina. C- Entrada sur al complejo minero Agua Rica en la cuenca del río Potreros. D- Sitio de trasplante ubicado en el Durazno Pit, dentro de Bajo la Alumbreira.

CAPÍTULO 1:

Diversidad de líquenes saxícolas en tres cuencas asociadas a la minería

1.1. Introducción

Los efectos de la minería a cielo abierto y las plantas de procesamiento de minerales sobre el ambiente están ampliamente caracterizados e incluyen la degradación de los suelos, el ruido, la emisión de polvo y gases tóxicos, la contaminación del agua, entre otros (Dudka & Adriano, 1997).

Los posibles contaminantes atmosféricos emitidos durante las actividades mineras son las partículas (PM10 y PM2,5), óxidos de nitrógeno (NO_x), dióxido de azufre (SO₂) y gases de efecto invernadero (GEI). Las emisiones de partículas se producen principalmente durante la perforación, el transporte de camiones, las actividades de carga y descarga, el polvo arrastrado por el viento desde de los acopios y las actividades de voladura, entre otros. (Soriano et al., 2012).

Como se ha señalado anteriormente, los líquenes son sensibles a los contaminantes atmosféricos; no obstante, esta susceptibilidad no es igual en todas las especies ya que algunas son más tolerantes que otras. Por tanto, el seguimiento de los cambios en la abundancia y diversidad de especies en las comunidades de líquenes puede servir como indicador de los efectos ecológicos adversos de la contaminación atmosférica. Por ejemplo, en lugares contaminados, la mayoría de las especies de líquenes sensibles a la contaminación atmosférica están ausentes o en declive y la diversidad de líquenes es baja. Este efecto puede ser causado por diferentes mecanismos, por ejemplo, el SO₂ puede tener un efecto inhibitorio directo (tóxico) sobre los líquenes, reduciendo la abundancia global de líquenes y la riqueza de especies en la comunidad (Nash & Gries, 2002). Otros contaminantes, como el nitrógeno, pueden estimular la colonización y el crecimiento de algunas especies de líquenes nitrófilos, alterando la diversidad de especies de líquenes y la composición de la comunidad a través de la alteración de las relaciones competitivas interespecíficas (Filippini et al., 2020a).

Por otra parte, es necesario tener en cuenta que la abundancia y diversidad de las comunidades de líquenes varían de acuerdo a factores abióticos que operan a diferentes escalas por lo que los efectos de los contaminantes deben ser estudiados junto con estas otras fuentes de variación (Lücking & Matzer, 2001). Es bien sabido que los líquenes, como la mayoría de los organismos, responden a factores que cambian con la altitud como la temperatura y la humedad (Baniya et al., 2010; Vittoz et al., 2010; Bässler et al., 2016; Rodríguez et al., 2017; Cleavitt et al., 2019; Vetaas et al., 2019). A otra escala y,

dependiendo de la latitud, otras variables importantes son la orientación (principalmente N-S) y la pendiente, ya que ambas determinan la cantidad de radiación solar que, junto con la altitud, impactan en la radiación solar incidente (insolación) y en la evapotranspiración (Kidron & Termina, 2010; Rodríguez et al., 2017; Costas et al., 2021). Así, las orientaciones sur son más frías y húmedas que las norte (Körner, 1995, 2007) en el hemisferio sur. Otro factor a tener en cuenta a la hora de analizar la variación en las comunidades de líquenes es la estructura de la vegetación circundante, ya que impacta no solo en la disponibilidad de sustratos sino también en su sombra que puede cubrir la superficie de las rocas o el suelo. Estas variables explicativas de los cambios en la composición de líquenes son muy importantes y deben evaluarse o fijarse en un pequeño rango a la hora de diseñar biomonitoreos asociados a disturbios ambientales, sobre todo en áreas serranas donde las variables ambientales, especialmente la altura, cambian y, como consecuencia, la riqueza y la composición de las especies también (Körner, 2007).

Como ya se mencionó en la introducción general, los estudios de comunidades de líquenes en Argentina son escasos. En la provincia de Catamarca no hay estudios que registren sistemáticamente la abundancia de líquenes. Estrabou et al. (2010) realizaron un estudio preliminar de la comunidad liquénica, en términos de diversidad específica, en áreas de la provincia de Catamarca (Valle Central y sierras de Ambato), con el objetivo de establecer una línea de base que permitiera detectar mediante un seguimiento en el tiempo cambios ambientales en las áreas estudiadas. Éste constituye el único trabajo en su tipo desarrollado en Catamarca, en áreas que fitogeográficamente corresponden a Chaco Serrano y Chaco Árido. Por otro lado, a pesar de que la minería es la principal actividad productiva de la provincia no se han reportado estudios ecológicos con líquenes relacionados a esta actividad.

1.2. Hipótesis

Algunos procesos mineros, tales como la generación de material particulado y emisión de gases de combustión por fuentes fijas y móviles, generan cambios en la diversidad, frecuencia y cobertura de líquenes saxícolas.

1.3. Objetivos

El presente trabajo se realizó con el objetivo de caracterizar la biota líquénica en áreas aledañas a emprendimientos mineros e interpretar cómo la composición de especies responde a cambios en el ambiente natural (pendiente, orientación, altitud y cobertura de roca, suelo y vegetación) y a la cercanía a zonas de influencia de actividades mineras. A su vez, teniendo en cuenta la falta de trabajos sobre las comunidades líquénicas en la provincia, y particularmente en áreas con actividad minera, se buscó contribuir al conocimiento de la diversidad de líquenes que crecen en áreas de altura del oeste de la provincia de Catamarca en zonas mineras.

1.4. Materiales y métodos

1.4.1. Diseño de muestreo

1.4.1.1. Selección de sitios

Debido a los factores geográficos que determinan la inaccesibilidad a gran parte del área de estudio, los muestreos se realizaron en zonas ubicadas a lo largo de cuencas aguas abajo de los emprendimientos mineros de referencia. Si bien se tuvo acceso a la mina Capillitas, para Agua Rica y Bajo la Alumbraera, no se consiguieron los permisos de ingreso y recolección dentro de mina para realizar estudios con líquenes in situ. No obstante, sí se obtuvieron los permisos para realizar los estudios, dentro de la mina Bajo la Alumbraera con líquenes trasplantados, descritos en el tercer capítulo de esta tesis. Entre los años 2015 y 2017 se seleccionaron 8 sitios de muestreo en cada una de las cuencas estudiadas. Los sitios en la cuenca del río Vis-Vís (CRV) y en la cuenca del río Potreros (CRP) se ubicaron equidistantes entre sí. Ambas cuencas presentan gradientes altitudinales bastante amplios, encontrándose los sitios en CRV entre 1340 y 2070 m.s.n.m. y en CRP desde los

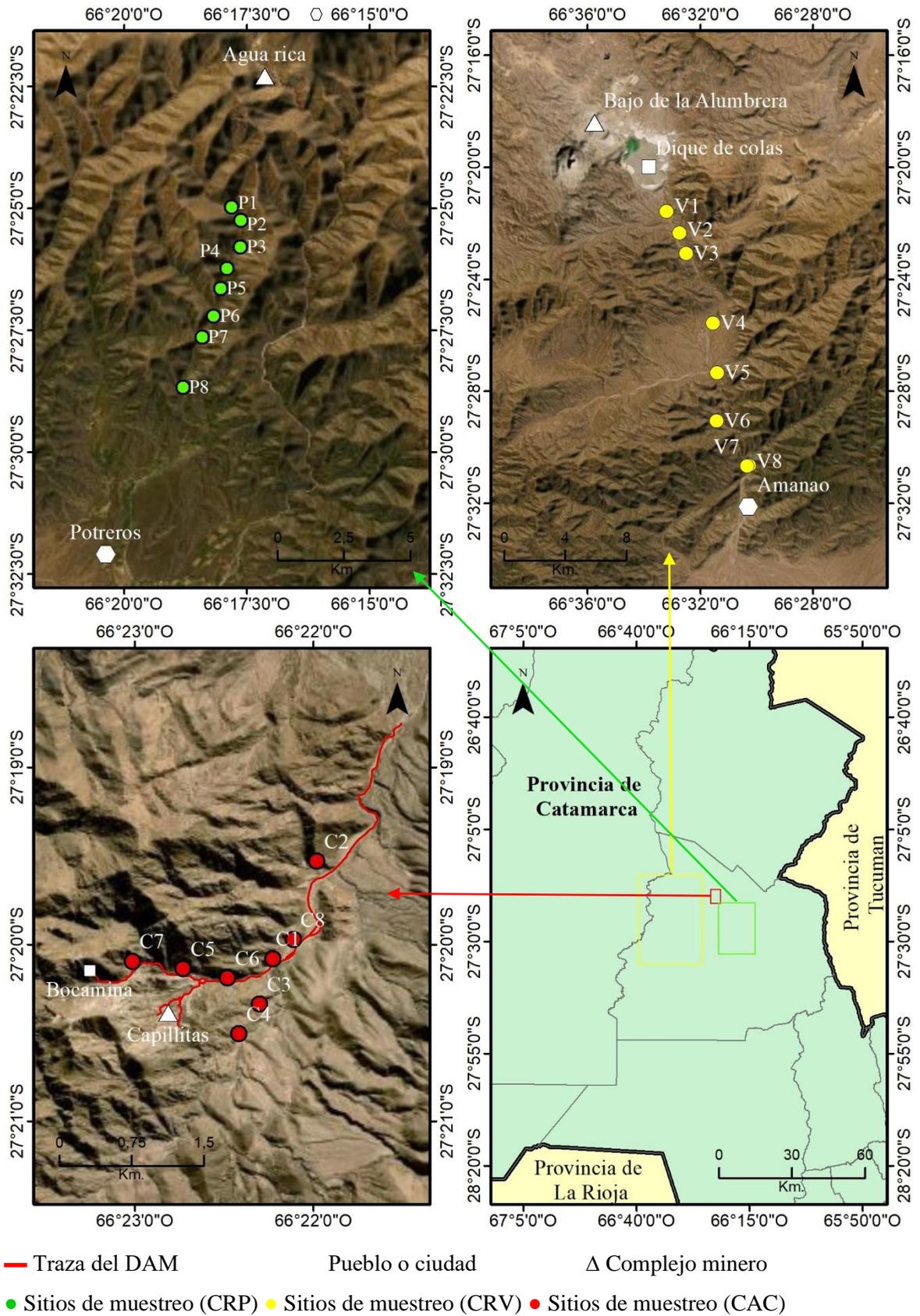


Figura 1.1. Ubicación de los sitios de muestreo en el área de estudio. DAM: Drenaje ácido de mina.

1850 m.s.n.m., hasta los 2300 m.s.n.m., siendo las altitudes más bajas aquellas más lejanas al centro de las operaciones mineras (Fig. 1.1). Sin embargo, en la cuenca del arroyo Capillitas (CAC) los sitios se ubicaron a altura constante y se distribuyeron desde la mina hacia el este y al norte (Fig. 1.1).

1.4.1.2. Relevamiento de frecuencia y cobertura

En cada sitio de muestreo se seleccionaron al azar 5 superficies rocosas con orientación entre 160 y 200 grados y pendiente entre 60 y 90 grados. Estas condiciones se corresponden con los mayores valores de diversidad en ambientes montañosos del hemisferio sur producto de los menores niveles de insolación (Costas et al., 2021; Rodríguez et al., 2017). En las rocas se colocaron grillas de muestreo (unidades muestrales) de 20x20cm (Fig. 1.2), se identificaron las especies de líquenes y se estimaron de manera visual la frecuencia relativa y la cobertura relativa de cada una en porcentaje (%) ocupado de grilla (modificado de Scheidegger et al., 2002; Rodríguez et al., 2017). Además, como variables ambientales o explicativas se midió la altura sobre el nivel del mar del sitio de muestreo y variables de micrositio tales como: la pendiente y la orientación de la superficie rocosa muestreada y los porcentajes de cobertura vegetal (% vegetación), de roca (% roca), y de suelo (% suelo) alrededor del roquedal muestreado considerando un área de 4 m²



Figura 1.2. Grilla de muestreo 20x20 cm para el registro de la frecuencia y cobertura de las especies liquénicas.

1.4.2. Identificación de especies

Se recolectaron muestras de todas las especies para su identificación definitiva en el laboratorio. Se utilizaron técnicas de rutina para el análisis morfoanatómico y químico. Para identificar las sustancias líquénicas con valor quimiotaxonómico se utilizaron las técnicas de recristalización y cromatografía en capa delgada (White & James, 1985). La identificación se realizó con el empleo de claves y descripciones para géneros y especies (Adler, 1992; Estrabou, 1999, Estrabou, et al., 2006; Filippini et al., 2014; Scutari, 1992; entre otras). Para la nomenclatura de géneros y especies se siguió a Calvelo y Liberatore (2002), Lücking et al. (2017) e Index Fungorum (<http://www.indexfungorum.org/names/names.asp>). Aquellas muestras sin estructuras de reproducción o muy pequeñas fueron identificadas a nivel de género en lo posible o con nombres artificiales. Un ejemplar de cada especie identificada se depositó en el herbario LUTI y en el Centro de Investigación y Transferencia de Catamarca (CITCa, CONICET-UNCa).

1.4.3. Análisis de Datos

Con los datos obtenidos se confeccionaron matrices de frecuencia relativa, % de cobertura de especies y variables ambientales por unidad muestral (roca). A partir de la matriz de frecuencia relativa, se calculó la riqueza (número de especies encontradas por roca) y diversidad (índice de Shannon-Wiener), mientras que a partir de la matriz de % de cobertura de especies se calculó la cobertura total de líquenes por roca. Éstas se tomaron como variables de respuesta univariadas.

Para analizar la riqueza se aplicó modelos lineales generalizados con distribución de Poisson. Para realizar un análisis comparativo entre cuencas y entre sitios dentro de cada cuenca se trabajó con la riqueza de especies por unidad muestral (roca).

Para la comparación entre cuencas, el modelo tuvo como factor principal a la cuenca y la altitud como covariable anidada a la cuenca. Porcentaje de cobertura de roca, vegetación y suelo, pendiente y orientación (se calculó el seno y coseno para obtener el componente N-S y el Componente E-O respectivamente) fueron consideradas como covariables. El sitio anidado a la cuenca de donde proviene cada roca se lo consideró como factor aleatorio. A su vez, se analizó la riqueza de especies por cuenca de manera separada y se trató a los sitios como factor fijo y el resto de las variables explicativas de la misma manera que el modelo general.

Debido a que la riqueza y diversidad de Shannon correlacionaron significativamente, (coeficiente de Pearson 0,93 a un p -Valor $<0,0001$) se decidió trabajar solo con la riqueza como variable respuesta, dada además su fácil interpretación.

La cobertura total de líquenes fue analizada mediante un modelo general y mixto con las mismas variables explicativas que la riqueza tanto para cuencas en general como para cada una en particular.

Se siguió el criterio de Akaike (AIC) para seleccionar el mejor modelo para cada una de las variables. En todos los modelos se aplicó el test de comparaciones múltiples LSD Fisher para comparar las medias de los diferentes niveles de cada factor (Balzarini et al., 2008; Di Rienzo et al., 2011, 2017b)

Se aplicó el análisis de correspondencia canónica (CCA), para analizar la variación de la composición de especies de líquenes saxícolas entre las cuencas y entre los sitios de cada cuenca a fin de observar como se agrupan o separan las especies en función de las variables ambientales o explicativas, para ello se trabajó a partir de la matriz de frecuencia de especies y la matriz de variables ambientales (altitud, componente N-S y E-O, pendiente, % roca, % vegetación y % suelo) por x unidades muestrales (rocas). Para obtener un ordenamiento más claro en este análisis se eliminaron aquellas especies que tuvieron menos de tres apariciones en las unidades muestrales (McCune et al., 2002). Se graficaron las variables ambientales que tuvieron una correlación $r^2 > 0,2$ con los ejes principales, lo cual permite descartar aquellas que no influyen en los dos primeros ejes del análisis multivariado.

Luego, como método de clasificación, se realizó un análisis de especies indicadoras (ISA), a partir del método de Dufrêne y Legendre (1997), a los fines de determinar las especies indicadoras para cada cuenca y para cada sitio dentro de una misma cuenca. Este método es muy útil para detectar y describir el valor de las especies para grupos determinados por diferentes condiciones ambientales. El análisis combina información de abundancia de especies con la ocurrencia dentro de los grupos particulares, siendo el indicador perfecto aquel que está siempre presente y es exclusivo del grupo (IV=100). Basado en ese estándar de indicador perfecto, ISA produce un valor indicador (IV) para cada especie en cada grupo. A su vez se aplicó el test de Monte Carlo para estimar la significancia estadística de cada IV con un valor de probabilidad de 0,05% (McCune et al., 2002).

Para la realización de todos los análisis se utilizaron los softwares Infostat, su interfase con R (Di Rienzo et al., 2017a) y PCOrd (McCune & Mefford, 1999).

1.5. Resultados

Se identificaron 118 taxones pertenecientes a 43 géneros y a 18 familias taxonómicas. De este total, 83 taxones fueron identificados a nivel de especies mientras que 18 quedaron a nivel de géneros y 17 morfoespecies. Según el tipo de crecimiento, se relevaron 55 taxones crustosos, 42 foliosos, 9 fruticulosos, 4 foliosos umbilicadas, 5 escuamulosos, 1 subfruticuloso, 1 placoideo y 1 folioso-escuamuloso. Los géneros más diversos encontrados en el área de estudio fueron *Xanthoparmelia* (Vain.) Hale (14 especies), *Caloplaca* Th. Fr. (8), *Acarospora* A. Massal. (6), *Punctelia* Krog. (5) y *Rinodina* (Ach.) Gray (5). Sesenta y dos especies fueron encontradas en menos de 3 sitios (Tabla 1.1).

Tabla 1.1. Listado de taxones de líquenes identificados por cuenca, familia taxonómica y tipo de crecimiento. X: presencia. C: Crustoso. F: Folioso. Fr: Fruticuloso. SFr: Sub-Fruticuloso. E: Escuamuloso. FU: Folioso umbilicado. P: Placoideo.

Taxones	Cuenca			Familia	Tipo de crecimiento
	CRP	CAC	CRV		
<i>Acarospora</i> aff. <i>altoandina</i>		X		Acarosporaceae	C
<i>Acarospora</i> aff. <i>obnubila</i>		X		Acarosporaceae	C
<i>Acarospora boliviana</i>		X		Acarosporaceae	C
<i>Acarospora lorentzii</i>	X	X	X	Acarosporaceae	C
“ <i>Acarosporoide negro</i> ”		X		Acarosporaceae	C
<i>Acarospora xanthophana</i>		X	X	Acarosporaceae	C
<i>Acarospora chrysops</i>		X	X	Acarosporaceae	C
<i>Buellia</i> aff. <i>umbrina</i>		X		Caliciaceae	C
<i>Buellia spuria</i>	X	X	X	Caliciaceae	C
<i>Buellia sulphurea</i>	X	X		Caliciaceae	C
<i>Caloplaca</i> aff. <i>americana</i>		X	X	Teloschistaceae	C
<i>Caloplaca</i> aff. <i>sideritis</i>	X			Teloschistaceae	C
<i>Caloplaca</i> aff. <i>sonorae</i>		X		Teloschistaceae	C
<i>Caloplaca</i> aff. <i>subsquamosa</i>	X			Teloschistaceae	C
<i>Caloplaca</i> “ <i>amarilla</i> ”			X	Teloschistaceae	C
<i>Caloplaca atroflava</i>	X		X	Teloschistaceae	C
<i>Caloplaca ochraceofulva</i>	X	X	X	Teloschistaceae	C
<i>Caloplca</i> aff. <i>altoandina</i>		X		Teloschistaceae	C
<i>Candelaria concolor</i>	X	X		Lecanoraceae	F

Tabla 1.1. (Continuación)

Taxones	Cuenca			Familia	Tipo de crecimiento
	CRP	CAC	CRV		
<i>Candelaria fibrosa</i>	X			Lecanoraceae	F
<i>Candelariella vitellina</i>	X	X		Candelariaceae	C
<i>Cladonia pyxidata</i>	X			Cladoniaceae	F y E
“Crustoso amarillo 1”	X			-	C
“Crustoso amarillo 2”		X		-	C
“Crustoso amarillo 3”			X	-	C
“Crustoso blanco 1”		X		-	C
“Crustoso blanco 2”		X		-	C
“Crustoso blanco 3”		X		-	C
“Crustoso blanco con peritecios”	X			-	C
“Crustoso gris verdoso”			X	-	C
“Crustoso negro”		X		-	C
“Crustoso sp. 1”	X			-	C
“Crustoso verde”		X	X	-	C
<i>Culbersonia nubila</i>		X	X	Physciaceae	F
<i>Diploschistes euganeus</i>	X			Thelotremataceae	C
<i>Diploschistes bisporus</i>		X		Thelotremataceae	C
<i>Diploschistes scruposus</i>	X			Thelotremataceae	C
<i>Diploptoma aff. heddinii</i>			X	Caliciaceae	C
“Escumuloso marrón”		X		-	E
<i>Flavoparmelia haysomii</i>	X	X	X	Parmeliaceae	F
<i>Flavoparmelia papilosun</i>			X	Parmeliaceae	F
<i>Flavoparmelia soledians</i>		X		Parmeliaceae	F
<i>Flavoplaca austroctrina</i>	X			Teloschistaceae	C
<i>Flavoplaca sp.</i>	X			Teloschistaceae	C
<i>Heterodermia albicans</i>	X			Physciaceae	F
<i>Heterodermia diademata</i>	X			Physciaceae	F
<i>Heterodermia lutescens</i>	X			Physciaceae	SFr
<i>Heterodermia obscurata</i>	X			Physciaceae	F
<i>Hyperphyscia syncolla</i>			X	Physciaceae	F
<i>Lecanora argopholis</i>	X		X	Lecanoraceae	C
<i>Lecanora dispersa</i>	X			Lecanoraceae	C
<i>Lecanora muralis</i>	X		X	Lecanoraceae	C

Tabla 1.1. (Continuación).

Taxones	Cuenca			Familia	Tipo de crecimiento
	CRP	CAC	CRV		
<i>Lecanora polytropa</i>			X	Lecanoraceae	C
“Lecideoide blanca”	X			Lecideaceae	C
<i>Lecidea</i> sp. 1.	X			Lecideaceae-	C
<i>Lecidella</i> aff. <i>granulosula</i>	X	X	X	Lecanoraceae	C
<i>Lecidella carpathica</i>		X	X	Lecanoraceae	C
“Leprarioide sp.”			X	Stereocaulaceae	C
<i>Leptogium austroamericanum</i>	X			Collemataceae	F
<i>Leptogium hypotrachynum</i>	X			Collemataceae	F
<i>Leptogium phyllocarpum</i>	X			Collemataceae	F
“Microfolioso marrón”		X		-	F
<i>Nephroma pulchella</i>	X			Nephromataceae	E
<i>Paraparmelia</i> sp.		X		Parmeliaceae	F
<i>Parmotrema consors</i>	X			Parmeliaceae	F
<i>Parmotrema muelleri</i>	X			Parmeliaceae	F
<i>Parmotrema reticulatum</i>	X	X		Parmeliaceae	F
<i>Phaeophyscia hirsuta</i>	X			Physciaceae	F
<i>Physcia aipolia</i>	X			Physciaceae	F
<i>Physcia poncinsii</i>	X	X		Physciaceae	F
<i>Physcia tribacia</i>			X	Physciaceae	F
<i>Placidium ruiz-lealli</i>			X	Verrucariaceae	E
<i>Placomaronea candelarioides</i>	X	X	X	Lecanoraceae	FU
<i>Protoparmelia badia</i>		X		Parmeliaceae	C
<i>Psiloparmelia distinta</i>	X	X		Parmeliaceae	F
<i>Punctelia borrerina</i>	X		X	Parmeliaceae	F
<i>Punctelia perreticulata</i>	X	X	X	Parmeliaceae	F
<i>Punctelia punctilla</i>	X	X	X	Parmeliaceae	F
<i>Punctelia semansiana</i>	X	X		Parmeliaceae	F
<i>Punctelia stictica</i>	X	X	X	Parmeliaceae	F
<i>Pyrenula</i> aff. <i>breutelii</i>	X		X	Pyrenulaceae	C
<i>Ramalina celastri</i>	X			Ramalinaceae	Fr
<i>Ramalina incana</i>		X	X	Ramalinaceae	Fr
<i>Rhizocarpon disporun</i>	X	X		Rhizocarpaceae	C
<i>Rinodina confragosa</i>	X	X		Physciaceae	C

Tabla 1.1. (Continuación).

Taxones	Cuenca			Familia	Tipo de crecimiento
	CRP	CAC	CRV		
<i>Rinodina longisperma</i>	X	X	X	Physciaceae	C
<i>Rinodina oxydata</i>	X	X	X	Physciaceae	C
<i>Rinodina peloleuca</i>		X		Physciaceae	C
<i>Rinodina</i> sp.		X		Physciaceae	C
<i>Staurothele areolata</i>	X	X		Verrucariaceae	C
<i>Teloschistes chysophthalmus</i>	X			Teloschistaceae	Fr
<i>Teloschistes nodulifer</i>		X		Teloschistaceae	Fr
<i>Toninia sedifolia</i>			X	Ramalinaceae	E
<i>Toninia</i> aff <i>submexicana</i>			X	Ramalinaceae	E
<i>Trimmatothelopsis smaragdula</i>			X	Acarosporaceae	C
<i>Umbilicaria calvescens</i>	X			Umbilicariaceae	FU
<i>Umbilicaria haplocarpa</i>	X	X		Umbilicariaceae	FU
<i>Umbilicaria polyphylla</i>	X	X		Umbilicariaceae	FU
<i>Usnea amblyoclada</i>			X	Parmeliaceae	Fr
<i>Usnea cirrosa</i>	X			Parmeliaceae	Fr
<i>Usnea dasaea</i>	X			Parmeliaceae	Fr
<i>Usnea durietzii</i>	X	X		Parmeliaceae	Fr
<i>Usnea</i> sp.	X			Parmeliaceae	Fr
“Verrucarioide sp.”	X			Verrucariaceae	C
<i>Xanthomendoza hasseana</i>	X	X		Parmeliaceae	F
<i>Xanthoparmelia cordillerana</i>	X	X		Parmeliaceae	F
<i>Xanthoparmelia farinosa</i>	X	X	X	Parmeliaceae	F
<i>Xanthoparmelia ferraroiana</i>		X	X	Parmeliaceae	F
<i>Xanthoparmelia fumarprotocetrarica</i>		X		Parmeliaceae	F
<i>Xanthoparmelia loxodes</i>		X		Parmeliaceae	F
<i>Xanthoparmelia mahuiana</i>		X		Parmeliaceae	F
<i>Xanthoparmelia microspora</i>	X	X		Parmeliaceae	F
<i>Xanthoparmelia mougeotii</i>	X			Parmeliaceae	F
<i>Xanthoparmelia punctulata</i>	X	X	X	Parmeliaceae	F
<i>Xanthoparmelia santesonii</i>		X	X	Parmeliaceae	F
<i>Xanthoparmelia subulcerosa</i>	X			Parmeliaceae	F
<i>Xanthoparmelia ulcerosa</i>	X			Parmeliaceae	F
<i>Xanthoparmelia villamiliana</i>		X		Parmeliaceae	F

En la Fig. 1.3 se muestra un diagrama de Venn con el número de especies encontradas en las tres cuencas y las compartidas entre ellas. La cuenca que presentó mayor número de especies fue la CRP con 71 especies, seguida por CAC y por CRV con 62 y 41 especies respectivamente. Treinta y seis especies solo se encontraron en CRP, 25 especies aparecieron solo en CAC y 15 especies solo en CRV. CRP y CAC compartieron 29 especies, mientras que CRP compartió 18 especies con CRV. CAC y CRV compartieron 21 especies. Solo se encontraron 13 especies compartidas en las tres cuencas.

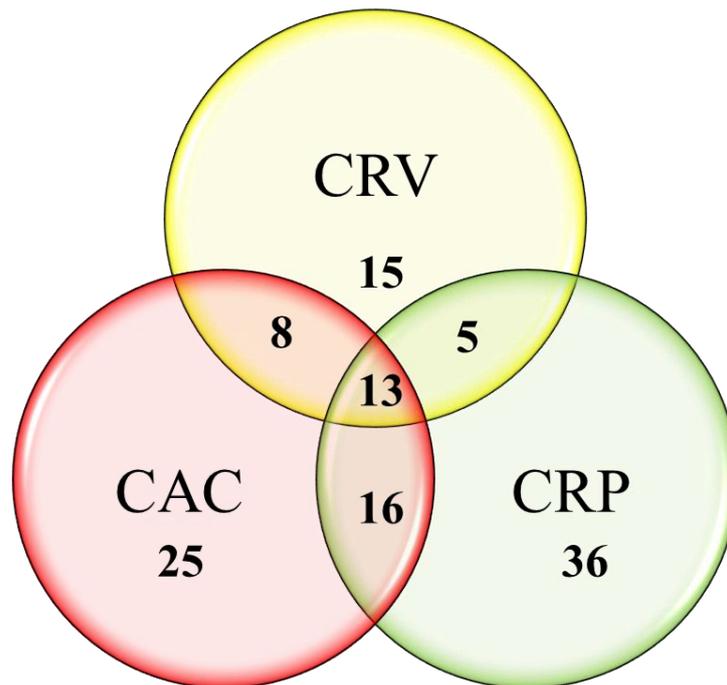


Figura 1.3. Diagrama de Venn que esquematiza la riqueza de especies exclusiva y compartida en las tres áreas estudiadas.

CAC mostró los valores más altos de riqueza promedio (11,05) seguido por CRP (7,08) y CRV (4,80) ($p = 0,0003$) (Fig. 1.4). Ninguna de las variables explicativas incluidas en el modelo fue significativa para la riqueza de especies con la excepción de la altitud que, interactuando con la cuenca, arrojó que CAC es significativamente más alta en número de especies ($p = 0,048$). El modelo que logró un mejor ajuste (criterio de Akaike) tiene como factor principal la cuenca, la altitud como covariable anidada a la cuenca y el sitio como factor aleatorio.

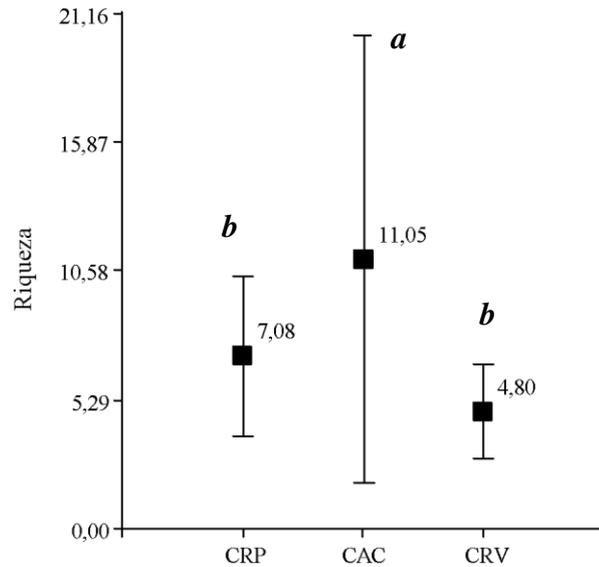


Figura 1.4. Riqueza de especies promedio por cuenca. Barras indican desviación estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas a un p -valor $< 0,05$. $n= 40$.

En el análisis de las cuencas por separado no se observaron diferencias significativas ($p < 0,05$) en la riqueza entre sitios excepto para CRP (Fig. 1.5). En esta cuenca los sitios P2 y P4 mostraron mayores valores de riqueza (Fig. 1.5a), mientras que los sitios P3 y P8 los más bajos ($p = 0,0003$). En otro modelo, quitando el efecto del sitio, la altitud influyó significativamente sobre la riqueza de especies de esta cuenca ($p = 0,0042$) (Fig. 1.6).

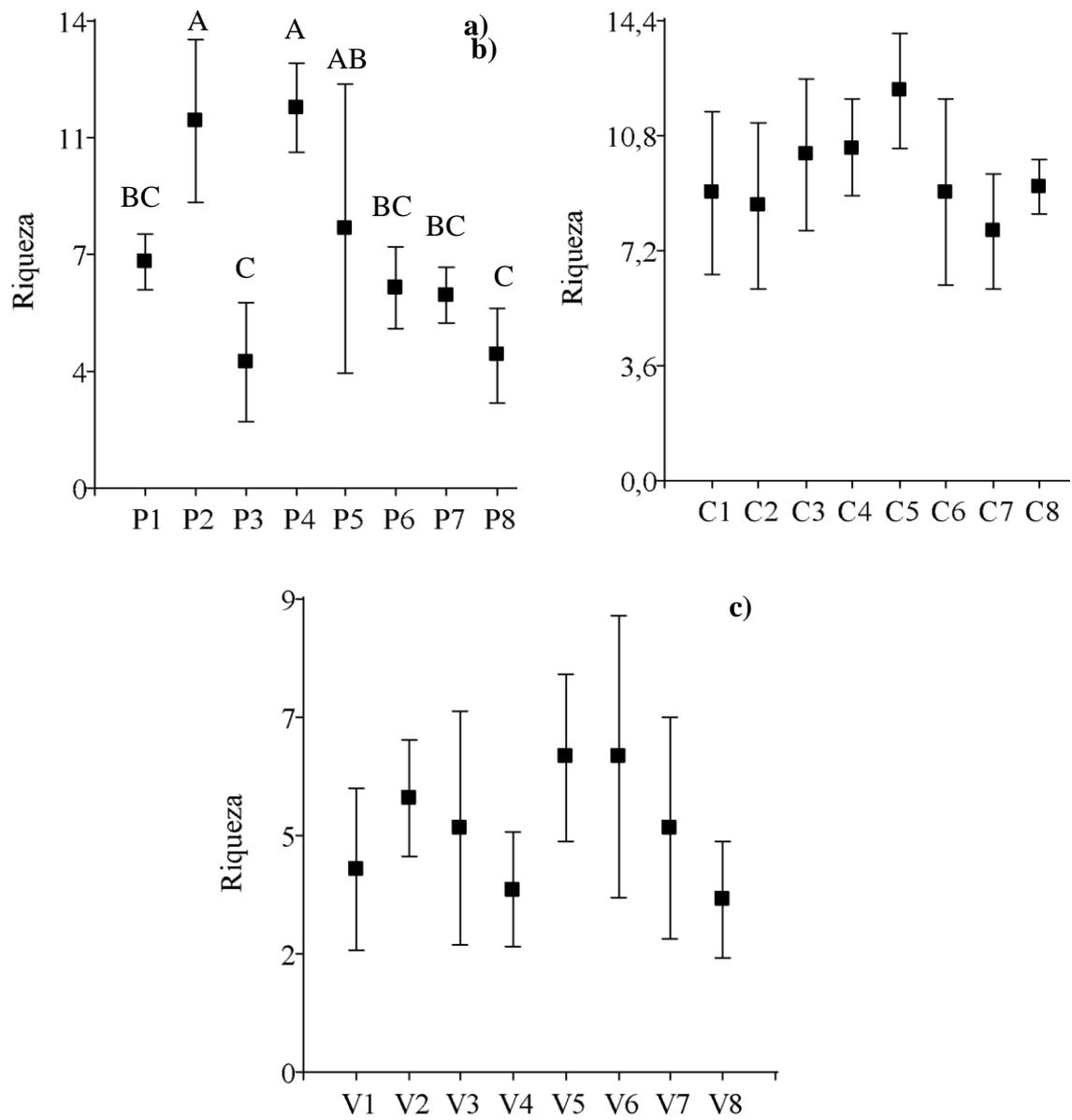


Figura 1.5. Riqueza de especies promedio por sitio para las tres áreas estudiadas. a) CRP; b) CAC; c) CRV. Barras indican desviación estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas a un $p < 0,05$. $n = 5$.

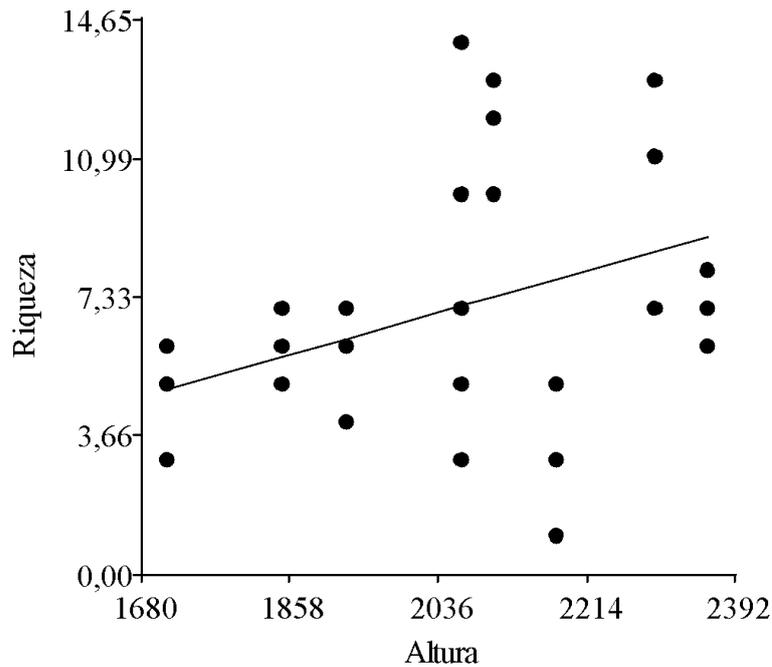


Figura 1.6. Riqueza por unidad muestral en función de la altura (m.s.n.m.) para CRP.

Con respecto a los porcentajes de cobertura total de líquenes las tres cuencas presentaron valores similares (Fig. 1.7), sin diferencias significativas (a un $p < 0,05$) entre sí en el modelo más ajustado. No obstante, la cobertura total si mostró estar influenciada significativamente por las variables de micrositio cobertura de roca y vegetación (p de 0,0198 y 0,0416 respectivamente), mostrando mayores valores a mayor % roca y menor % vegetación (Fig. 1.8).

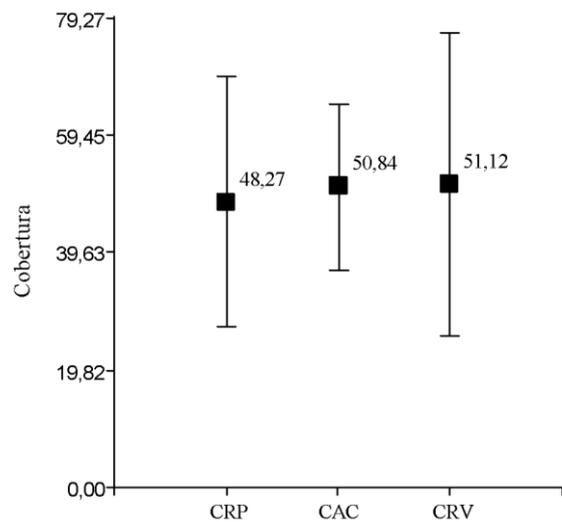


Figura 1.7. Valor medio de la cobertura total de líquenes por cuenca. $n=40$.

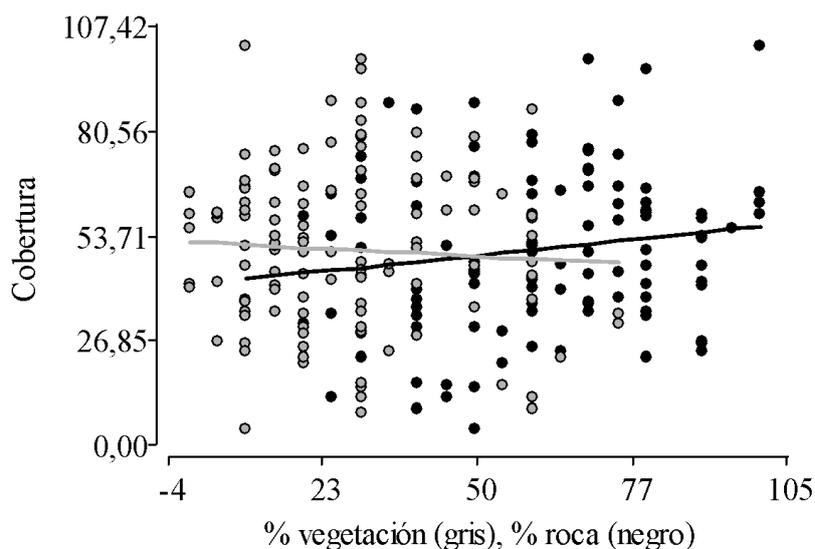


Figura 1.8. Cobertura total de líquenes por roca en funci3n de las variables de micrositio (% vegetaci3n y % roca) en las cuencas estudiadas.

Luego, al igual que con la riqueza de especies, se analizaron las cuencas por separado. En CRP se observaron diferencias significativas entre sitios ($p = 0,0008$). Los sitios P6 y P7 mostraron mayores valores de cobertura y los sitios P4 y P8 los m3s bajos (Fig. 1.9a). El modelo m3s ajustado para esta cuenca es el que toma a los sitios como criterio de clasificaci3n y las variables Pendiente y orientaci3n Norte – Sur como covariables. La pendiente de la superficie rocosa mostr3 ser significativa para los valores de cobertura de CRP ($p = 0,0166$) (Fig. 1.10b). En CAC la cobertura no mostr3 diferencias significativas entre sitios y las variables ambientales tampoco fueron significativas para la cobertura (Fig. 1.9b). En CRV se observaron diferencias significativas entre sitios ($p = 0,0464$). Los sitios V2 y V3 tienen los mayores valores de cobertura y V4, los m3s bajos (Fig. 1.9c). El modelo m3s ajustado para esta cuenca es el que toma a los sitios como criterio de clasificaci3n y las variables % roca y % vegetaci3n como covariables. En este modelo % roca es significativo para la cobertura ($p = 0,0138$) (Fig. 1.10a).

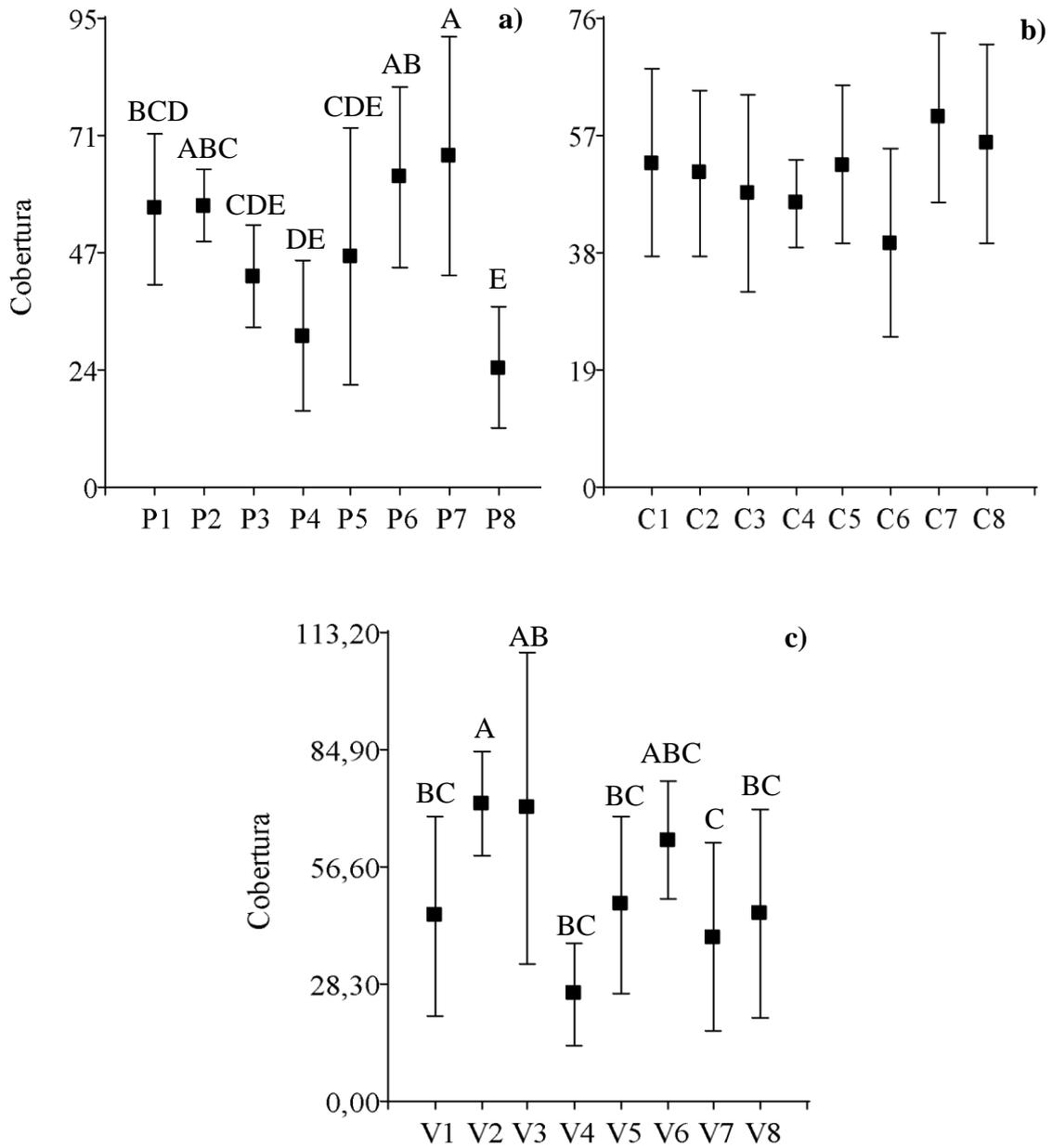


Figura 1.9. Cobertura promedio por sitio en las tres áreas estudiadas. a) CRP. b) CAC. c) CRV. Barras indican desviación estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas. n= 5.

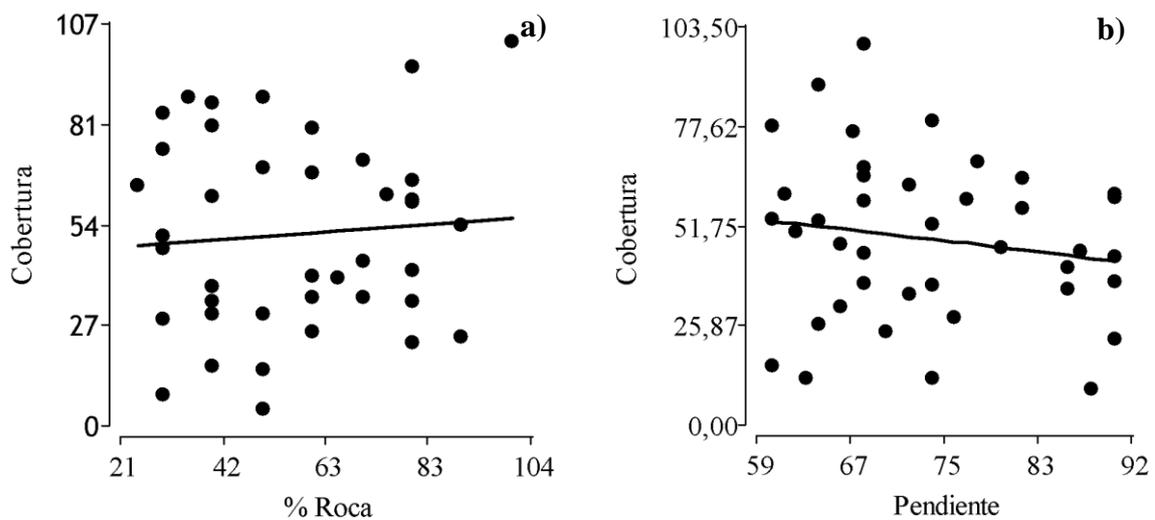


Figura 1.10. a) Cobertura de líquenes en función de la variable de micrositio % roca para CRV. b) Cobertura de líquenes en función de la variable pendiente de la superficie rocosa para CRP.

El resultado del análisis de CCA, usando la matriz de frecuencia relativa incluyendo las tres cuencas, muestra que las unidades se ordenan en función de la altitud y en menor medida del % suelo y % roca con un coeficiente de correlación canónica entre el eje 1 y la altitud de $-0,832$, entre el eje 2 y % suelo de $-0,508$ y entre el eje 3 y el % roca de $0,595$ (Fig. 1.11). Se puede observar una tendencia de los puntos pertenecientes a la CAC a separarse de los puntos de CRP y CRV, estando los primeros hacia la izquierda del eje 1. En este extremo de la ordenación los puntos están vinculados a especies como *Umbilicaria haplocarpa*, *Caloplaca* aff. *sonorae*, *Teloschistes nodulifer*, *Caloplaca* aff. *altoandina*, *Candelariella vitellina*, *Lecidella* aff. *granulosula*, también con alto valor indicador en el ISA (Tabla 1.2). El CCA tuvo una inercia total en los datos de especies de 11,33 y una varianza total explicada por los 3 ejes del 8,4%.

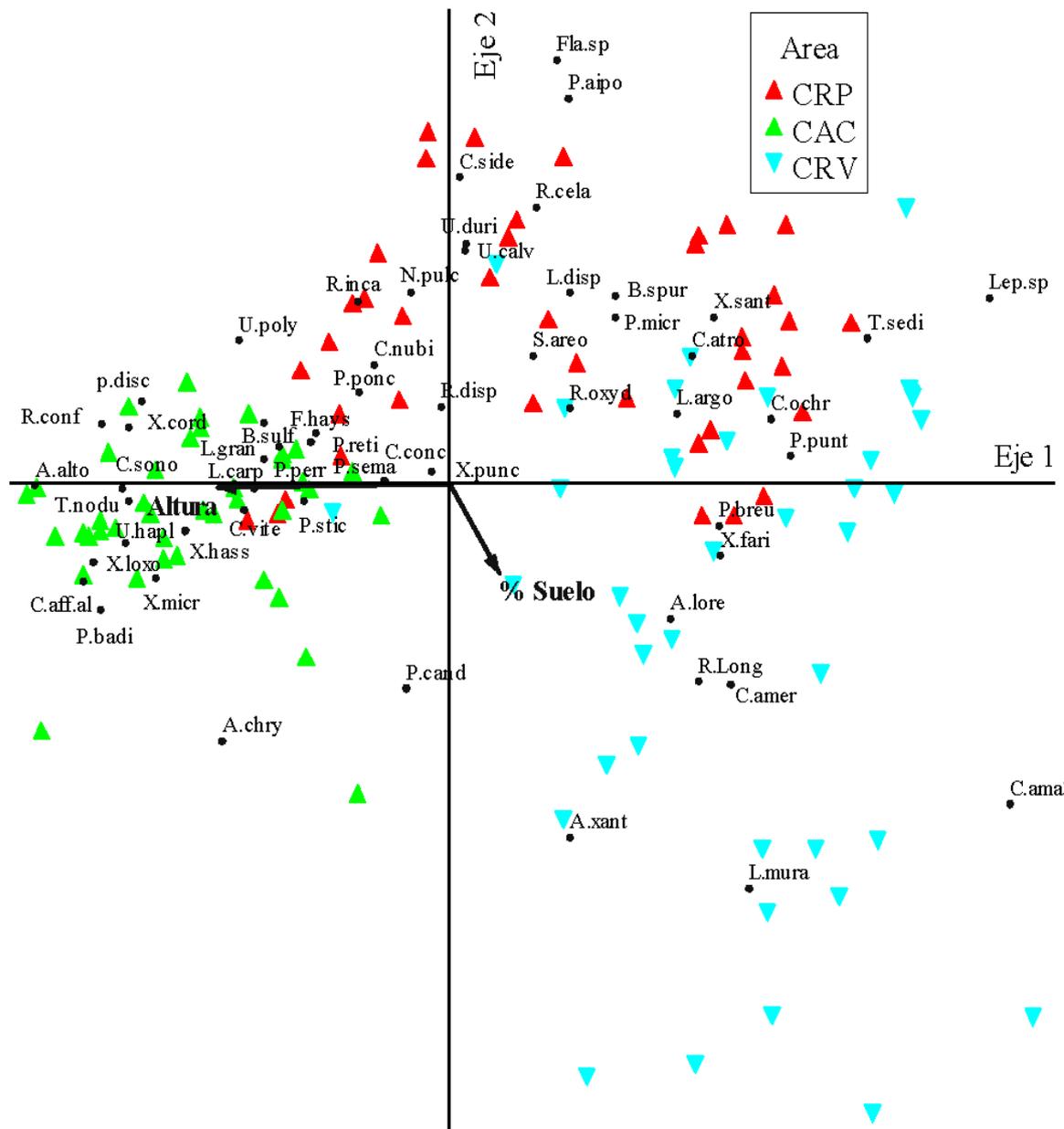


Figura 1.11. Análisis de Correspondencia Canónica (CCA), usando matriz de frecuencia relativa. Las flechas muestran la correlación de cada eje con las variables ambientales. Especies: *A.alto* = *Acarospora aff altoandina*; *A.chry* = *Acarospora chrysops*; *A.lore* = *Acarospora lorentzii*; *A.xant* = *Acarospora xanthophahana*; *B.spur* = *Buellia spuria*; *B.sulf* = *Buellia sulphurea*; *C.aff.al* = *Caloplca aff altoandina*; *C.ama3* = *Caloplaca amarillo 3*; *C.amer* = *Caloplaca aff americana*; *C.atro* = *Caloplaca atroflava*; *C.conc* = *Candelaria concolor*; *C.nubi* = *Culbersonia nubila*; *C.ochr* = *Caloplaca ochraceofulva*; *C.side* = *Caloplaca aff sideritis*; *C.sono* = *Caloplaca aff sonorae*; *C.vite* = *Candelariella vitellina*; *F.hays* = *Flavoparmelia haysomii*; *Fla.sp* = *Flavoplaca sp*; *L.argo* = *Lecanora argopholis*; *L.carp* = *Lecidella carpathica*; *L.disp* = *Lecanora dispersa*; *L.gran* = *Lecidella aff granulosa*; *L.mura* = *Lecanora muralis*; *Lep.sp* = *Lepraria sp*; *N.pulc* = *Nephroma pulchella*; *P.aipo* = *Physcia aipolia*; *P.badi* = *Protoparmelia badia*; *P.breu* = *Pyrenula aff breutelii*; *P.cand* = *Placomaronea candelarioides*; *P.disc* = *Psiloparmelia distinta*; *P.borr* =

Punctelia borrerina; *P.perr* = *Punctelia perreticulata*; *P.ponc* = *Physcia poncinsii*; *P.punt* = *Punctelia puntilla*; *P.reti* = *Parmotrema reticulatum*; *P.sema* = *Punctelia semansiana*; *P.stic* = *Punctelia stictica*; *R.cela* = *Ramalina celastri*; *R.conf* = *Rinodina confragosa*; *R.disp* = *Rhizocarpon disporum*; *R.inca* = *Ramalina incana*; *R.Long* = *Rinodina longisperma*; *R.oxyd* = *Rinodina oxydata*; *S.areo* = *Staurothele areolata*; *T.nodu* = *Teloschistes nodulifer*; *T.sedi* = *Toninia sedifolia*; *U.calv* = *Umbilicaria calvescens*; *U.duri* = *Usnea durietzii*; *U.hapl* = *Umbilicaria haplocarpa*; *U.poly* = *Umbilicaria polyphylla*; *X.cord* = *Xanthoparmelia cordillerana*; *X.fari* = *Xanthoparmelia farinosa*; *X.hass* = *Xanthomendoza hasseana*; *X.loxo* = *Xanthoparmelia loxodes*; *X.micr* = *Xanthoparmelia microspora*; *X.punc* = *Xanthoparmelia punctulata*; *X.sant* = *Xanthoparmelia santessonii*.

El resultado del análisis de Correspondencia Canónica (CCA), usando la matriz de frecuencia de CRP muestra que las unidades se ordenan en función de la altitud y en menor medida del % suelo y % roca con un coeficiente de correlación canónica entre el eje 1 y la altitud de -0,832, entre el eje 2 y % suelo de -0,508 y entre el eje 3 y el % roca de 0,595 (Fig. 1.12). El CCA tuvo una inercia total en los datos de especies de 5,80 y una varianza total explicada por los 3 primeros ejes del 18,5%.

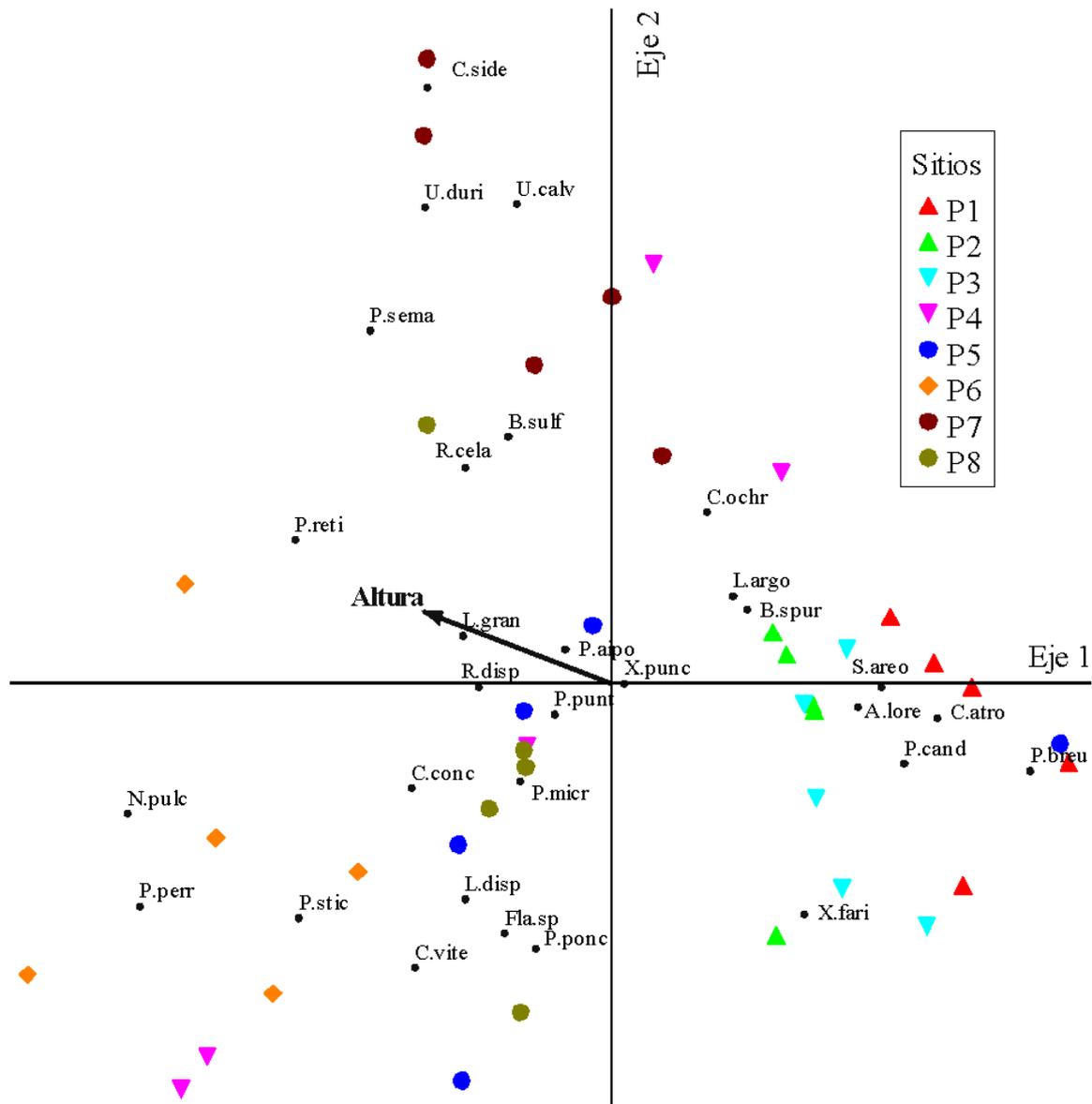


Figura 1.12. Análisis de Correspondencia Canónica (CCA), usando matriz de frecuencia de CRP. Las flechas muestran la correlación de cada eje con las variables ambientales.

El resultado del análisis de Correspondencia Canónica (CCA), usando la matriz de frecuencia de CAC muestra que las unidades se ordenan en función de la altitud y en menor medida de la distancia a la mina y la pendiente con un coeficiente de correlación canónica entre el eje 1 y la altitud de $-0,842$, entre el eje 1 y la distancia a la mina de $-0,635$ y entre el eje 2 y la pendiente de $0,513$ (Fig. 1.13). El CCA para CAC tuvo una inercia total en los datos de especies de $3,70$ y una varianza total explicada por los 3 primeros ejes del $17,9\%$.

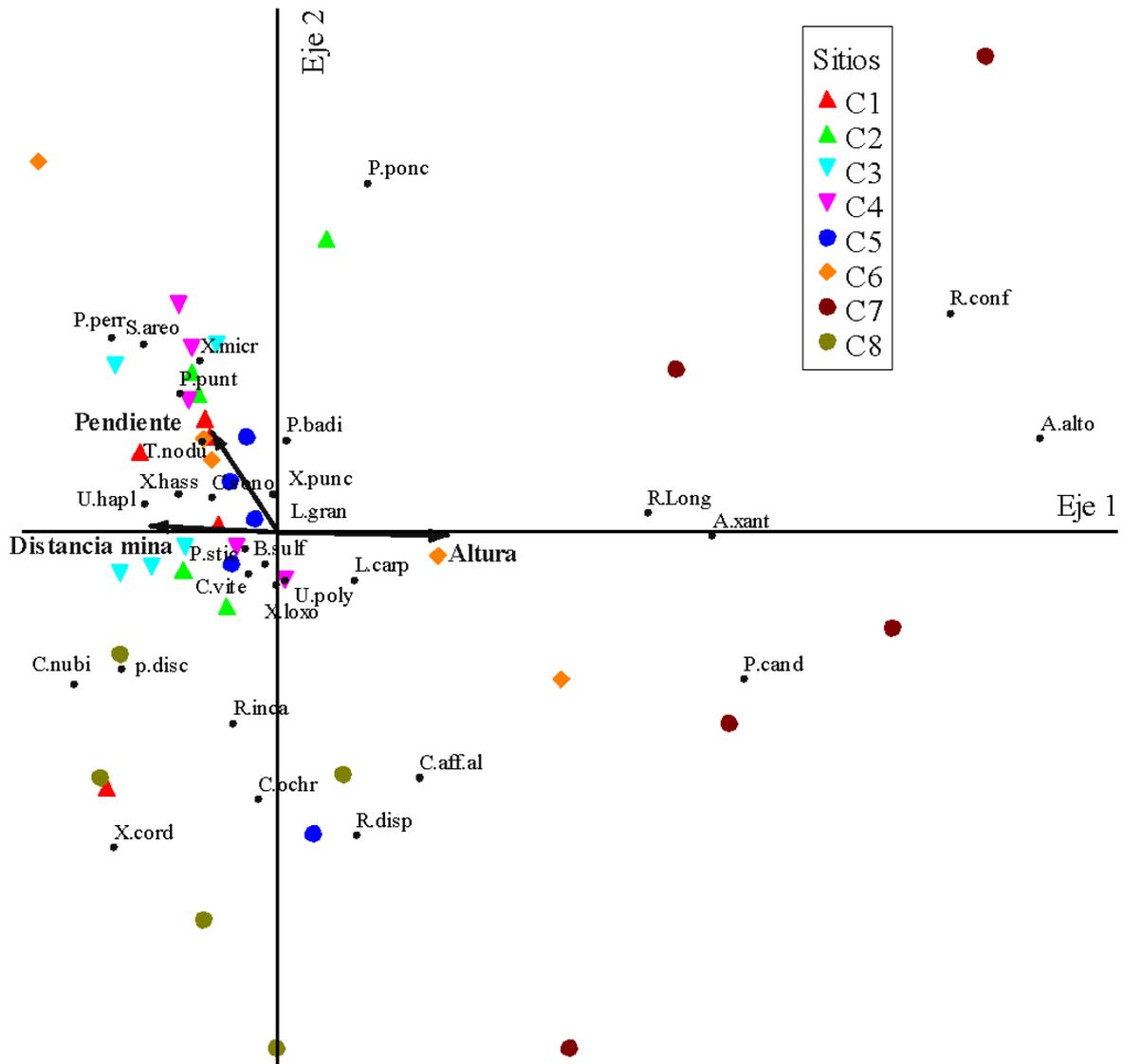


Figura 1.13. Análisis de Correspondencia Canónica (CCA), usando matriz de frecuencia de CAC. Las flechas muestran la correlación de cada eje con las variables ambientales.

El resultado del análisis de Correspondencia Canónica (CCA), usando la matriz de frecuencia de CRV muestra que las unidades se ordenan en función de la altitud y en menor medida de la distancia a la mina y la pendiente con un coeficiente de correlación canónica entre el eje 1 y el % suelo de -0,527, entre el eje 2 y la altitud de 0,565 y entre el eje 1 y ORNS de -0,424 (Fig. 1.14). El CCA tuvo una inercia total en los datos de especies de 4,85 y una varianza total explicada por los 3 primeros ejes del 15%.

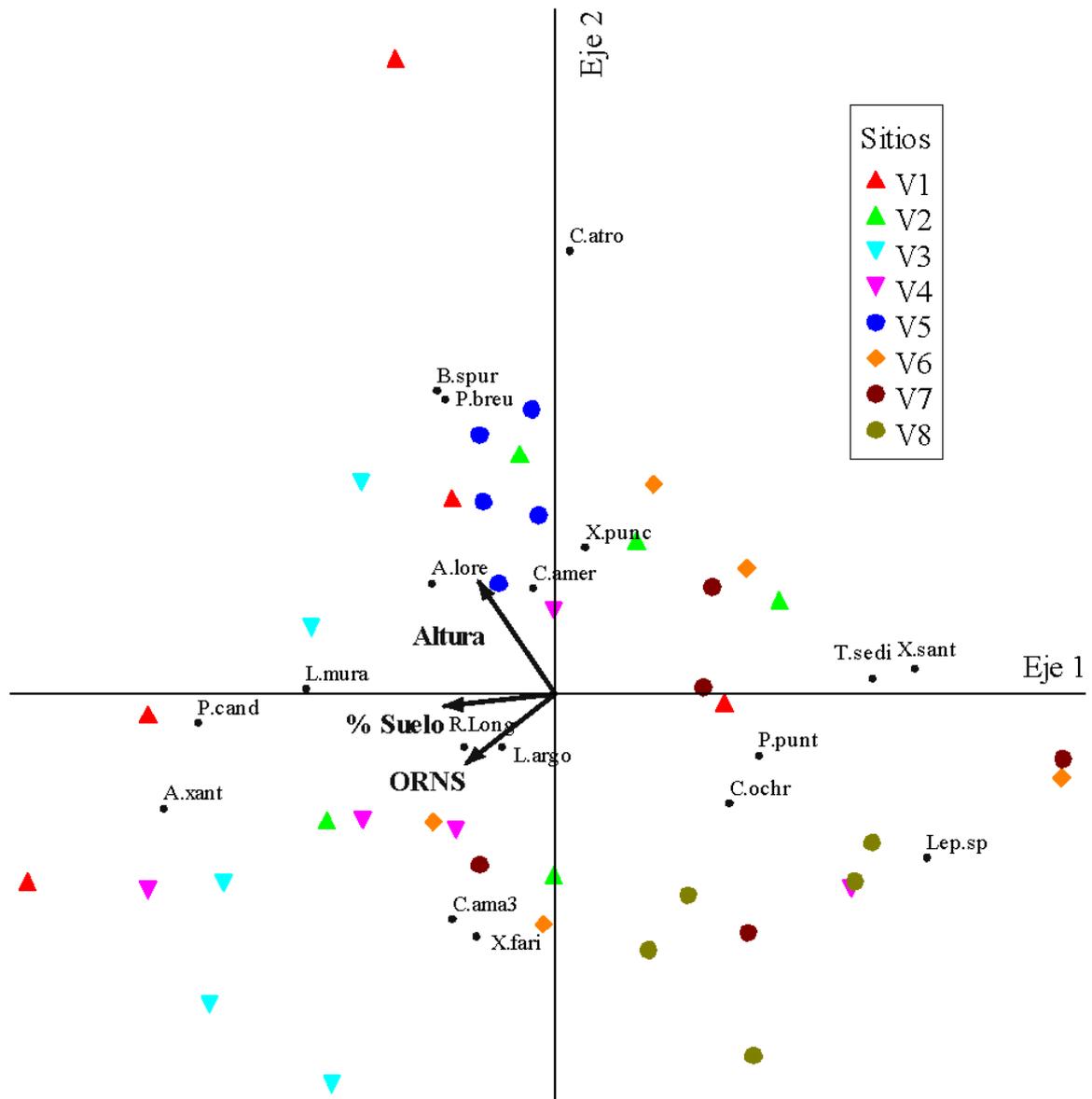


Figura 1.14. Análisis de Correspondencia Canónica (CCA), usando matriz de frecuencia de CRV. Las flechas muestran la correlación de cada eje con las variables ambientales.

A partir del Análisis de Especies Indicadoras (ISA) se identificaron 34 especies con valores indicadores (IV) significativos para las diferentes cuencas ($p < 0,05$). Como se observa en la Tabla 1.2, todos los grupos (cuencas) poseen especies indicadoras diferentes que son específicas de esas condiciones ambientales. Dieciocho especies son indicadoras de CAC, 10 especies son indicadoras de CRP y 6 especies son indicadoras de la CRV

Tabla 1.2. Análisis de especies indicadores (ISA) aplicado a la matriz de presencia/ausencia, según área. Se muestran las especies con el valor Indicador (IV) significativo a un $p < 0,05$. TC: Tipo de crecimiento. C: Crustoso. F: Folioso. Fr: Fruticuloso. FU: Folioso umbilicado.

Taxones	Área	IV	TC	p
<i>Xanthoparmelia punctulata.</i>		25,0	F	0,05
<i>Protoparmelia badia.</i>		12,5	C	0,01
<i>Ramalina incana.</i>		9,7	Fr	0,05
<i>Xanthoparmelia cordillerana.</i>		24,6	F	0,00
<i>Lecidella aff. granulosa.</i>		29,4	C	0,00
<i>Punctelia perreticulata.</i>		21,2	F	0,01
<i>Umbilicaria haplocarpa.</i>		59,7	FU	0,00
<i>Psiloparmelia distincta.</i>		21,9	F	0,00
<i>Xanthoparmelia microspora.</i>	CAC	24,0	F	0,00
<i>Xanthomendoza hasseana.</i>		17,1	F	0,00
<i>Caloplaca aff. sonora.</i>		67,5	C	0,00
<i>Teloschistes nodulifer.</i>		27,9	Fr	0,00
<i>Caloplaca aff. altoandina.</i>		52,5	C	0,00
<i>Cadelariella vitellina.</i>		33,3	C	0,00
<i>Lecidella carpathica.</i>		28,1	C	0,00
<i>Xanthoparmelia loxodes.</i>		17,5	F	0,00
<i>Rinodina confragosa.</i>		15,4	C	0,01
<i>Buellia sulphurea.</i>		17,6	C	0,03
<i>Caloplaca atroflava.</i>		30,9	C	0,00
<i>Buellia spuria.</i>		51,9	C	0,00
<i>Lecanora argopholis.</i>		39,6	C	0,00
<i>Punctelia borrerina.</i>		17,3	F	0,00
<i>Ramalina celastri.</i>	CRP	20	Fr	0,00
<i>Usnea durietzii.</i>		21,9	Fr	0,00
<i>Umbilicaria calvescens.</i>		20	FU	0,00
<i>Nephroma pulchrella.</i>		10	E	0,03
<i>Physcia aipolia.</i>		12,5	F	0,01
<i>Rhizocarpon disporun.</i>		12,2	C	0,03

Tabla 1.2. (Continuación).

Taxones	Área	IV	TC	<i>p</i>
<i>Acarospora lorentzii.</i>	CRV	17,8	C	0,02
<i>Caloplaca ochraceofulva.</i>		27,9	C	0,00
<i>Lecanora muralis.</i>		12,0	P	0,03
<i>Punctelia punctilla.</i>		24,6	F	0,00
<i>Rinodina longisperma.</i>		29,2	C	0,00
<i>Caloplaca aff americana.</i>		29,3	C	0,00

A partir del análisis de especies indicadoras en CRP se identificaron 14 especies con IV significativos ($p < 0,05$) para los diferentes sitios dentro de esta área. P2 y P4 poseen 4 especies indicadoras, 3 especies son indicadoras de P1, y en los sitios P3, P6 y P8 se encontró solo 1 especie indicadora. Se observa mayor cantidad de especies indicadoras en los sitios ubicados a mayor altitud (Tabla 1.3).

Tabla 1.3. Análisis de especies indicadores (ISA) aplicado a la matriz de presencia/ausencia, según sitios en CRP. Se muestran las especies con el valor Indicador (IV) significativo a un *p*-valor $< 0,05$. TC: Tipo de crecimiento. C: Crustoso. F: Folioso. Fr: Fructuloso. FU: Folioso umbilicado.

Especies	Sitios	IV	TC	<i>P</i>
<i>Flavoplaca sp.</i>	P4	60,0	C	0,0080
<i>Lecanora dispersa.</i>		60,0	C	0,0088
<i>Physcia aipolia.</i>		52,5	F	0,0106
<i>Physcia poncinsii.</i>		42,0	F	0,0100
<i>Nephroma pulchella.</i>	P1	57,5	F	0,0432
<i>Punctelia perreticulata.</i>		53,3	F	0,0166
<i>Punctelia stictica.</i>		33,7	F	0,0430
<i>Caloplaca atroflava.</i>	P8	55,4	C	0,0018
<i>Caloplaca ochraceofulva.</i>	P3	40,5	C	0,0148
<i>Xanthoparmelia farinosa.</i>	P6	52,7	F	0,0080
<i>Buellia sulphurea.</i>	P2	48,5	C	0,0010
<i>Caloplaca aff. sideritis.</i>		60,0	C	0,0080
<i>Umbilicaria calvescens.</i>		75,5	FU	0,0002
<i>Usnea durietzii.</i>		60,8	Fr	0,0012

A partir del análisis de especies en CAC se identificaron 10 especies con IV significativos ($p < 0,05$) para los diferentes sitios dentro de esta área. Cuatro especies son indicadoras del sitio C5. C3 y C7 poseen 2 especies indicadoras, y los sitios C4 y C8 solo presentaron 1 especie indicadora. Los sitios C5 y C7 se ubican dentro de la mina (Tabla 1.4).

Tabla 1.4. Análisis de especies indicadoras (ISA) aplicado a la matriz de presencia/ausencia, según sitios en CAC. Se muestran las especies con el valor Indicador (IV) significativo a un p -valor $< 0,05$. TC: Tipo de crecimiento. C: Crustoso. F: Folioso. FU: Folioso umbilicado.

<i>Especies</i>	Sitios	IV	TC	<i>P</i>
<i>Placomaronea candelarioides.</i>	C7	50,0	FU	0,0128
<i>Rinodina confragosa.</i>		46,7	C	0,0194
<i>Psiloparmelia distinta.</i>	C3	34,2	F	0,0432
<i>Punctelia punctilla.</i>		52,2	F	0,0166
<i>Xanthoparmelia cordillerana.</i>	C8	46,4	F	0,0038
<i>Umbilicaria polyphylla.</i>	C4	60,0	FU	0,0054
<i>Protoparmelia badia.</i>	C5	41,5	C	0,0222
<i>Rhizocarpon disporun.</i>		60,0	C	0,0086
<i>Cadelariella vitellina.</i>		46,6	C	0,0008
<i>Xanthoparmelia loxodes.</i>		53,3	F	0,0060

Tabla 1.5. Análisis de especies indicadoras (ISA) aplicado a la matriz de presencia/ausencia, según sitios en CRV. Se muestran las especies con el valor Indicador (IV) significativo a un p -valor $< 0,05$. TC: Tipo de crecimiento. C: Crustoso. F: Folioso. FU: Folioso umbilicado.

<i>Especies</i>	Sitios	IV	TC	<i>P</i>
<i>Acarospora xanthophana.</i>	V1	34,2	C	0,0432
<i>Placomaronea candelarioides.</i>		52,2	FU	0,0166
<i>Lecanora muralis.</i>	V4	46,4	C	0,0038
<i>Caloplaca ochraceofulva.</i>	V8	60,0	C	0,0054
<i>Acarospora lorentzii.</i>	V2	41,5	C	0,0222
<i>Buellia spuria.</i>		60,0	C	0,0086
<i>Xanthoparmelia punctulata.</i>		46,6	F	0,0008

A partir del análisis de especies indicadoras en CRV se identificaron 7 especies con IV significativos ($p < 0,05$) para los diferentes sitios dentro de esta área. Tres especies son

indicadoras de V2, V1 posee 2 especies indicadoras, y los sitios V4 y V8 solo presentaron 1 especie indicadora. Los sitios V1 y V2 son los de mayor altitud, pero a su vez son los más cercanos a mina Alumbreira (Tabla 1.5).

1.6. Discusión

En comparación con estudios ecológicos previos realizados en el centro oeste de Argentina, los 118 líquenes relevados en este trabajo resultan un número alto. Por ejemplo, se han reportado entre 21 y 53 especies de líquenes corticícolas en la región del Chaco (Estrabou et al., 2006, 2014; Filippini et al., 2014; Rodríguez et al., 2009). En otros estudios previos con líquenes saxícolas, se reportaron 107 especies en las sierras de Córdoba (Rodríguez et al., 2017) y 58 especies en las sierras de Famatina (Costas et al., 2021). A su vez, es importante considerar que las especies crustosas pueden haber sido subestimadas en este trabajo debido a la falta de datos, información o investigaciones previas sobre la taxonomía de este grupo de especies, que dificultaron su reconocimiento. Sin embargo, las especies foliosas y fruticulosas pudieron ser identificadas con mayor facilidad utilizando trabajos taxonómicos previos (Estrabou & Adler, 1999; Rodríguez et al., 2011). Es interesante mencionar que de las 83 especies identificadas sólo 27 habían sido mencionadas previamente para la provincia de Catamarca (Calvelo & Liberatore, 2002; Knudsen et al., 2008; Knudsen & Flakus, 2016; Rodríguez et al., 2016), y de las cuales 12 surgieron de los primeros muestreos de esta tesis (Rodríguez et al., 2016).

A partir de los análisis de riqueza y composición de especies realizados, se observaron grandes diferencias en las comunidades liquénicas de las tres cuencas. Esto, principalmente, reflejaría las diferencias ambientales y fitogeográficas de las mismas. Teniendo en cuenta el rol que juega la altitud en la composición y abundancia de líquenes (Rodríguez et al., 2017), claramente se explica que CAC tenga los mayores valores de riqueza de especies liquénicas por unidad muestral ya que tiene características de clima más templado lo que permite un mayor desarrollo de comunidades de líquenes. En las sierras de Famatina se observaron resultados similares, donde los mayores valores de riqueza se midieron a 2897 m.s.n.m. (Costas et al., 2021), coincidente con el piso altitudinal de los sitios de muestreo en CAC. Sin embargo, a pesar de tener menores valores de riqueza por roca que CAC, CRP posee la mayor cantidad de especies (71) en su conjunto (Fig. 1.5), probablemente debido al amplio gradiente altitudinal, entre los sitios

de muestreo, que presenta dicha cuenca. Así, se observó un aumento de la riqueza de especies al incrementar la altitud, lo cual reflejaría que al cambiar de piso altitudinal emergen nuevas condiciones ambientales que favorecen el desarrollo de especies que no están presentes a menores altitudes.

CRV es el área con menor riqueza y diversidad. Teniendo en cuenta que posee un gradiente altitudinal similar al de CRP, no es la altitud el factor principal que influye en las diferencias de riqueza de líquenes entre estas dos cuencas. Por otro lado, en el análisis CCA entre cuencas (Fig. 1.11), a pesar del bajo poder explicativo (varianza total explicada: 8.4%), se pudo observar que los sitios CRV se separan de los sitios de CRP y que el % suelo expuesto es un factor influyente en los mismos. En CRV al tener mayor suelo expuesto, hay menos vegetación, lo que influye secundariamente sobre la composición de líquenes, ya que hay más disponibilidad de luz sobre las rocas. En este sentido es importante destacar que ambas cuencas presentan características diferentes, ya que CRV está emplazada en la región fitogeográfica de Monte en la zona de quebradas con un clima mucho más seco y precipitaciones anuales muy bajas, mientras que CRP se emplaza en el distrito fitogeográfico del Chaco Serrano, con algunos elementos de las Yungas en zona de quebradas, con mayor volumen de precipitaciones anuales (Cabrera, 1976; Karlin et al., 2017; Morlans, 1995).

El CCA mostró que en CRP la altitud es determinante en la composición de las comunidades líquénicas de los distintos sitios, mismo patrón encontrado con los valores de riqueza, como ya lo hemos mencionado anteriormente (Costas et al., 2021; Rodríguez et al., 2017). En CAC el sitio C7 se separa del resto de los sitios, siendo la altitud y la distancia a la mina las variables de mayor peso, aunque, teniendo en cuenta que la altitud no varía considerablemente entre sitios para esta cuenca, la distancia a la mina podría ser el factor principal. También es importante señalar que sitio está ubicado dentro de mina y es el sitio más próximo a las actividades de voladuras. Los ISA realizados para esta cuenca muestran que C7 está asociado a especies como *Rinodina confragosa* y *Placomaronea candelarioides*. Debido a los pocos estudios realizados sobre líquenes saxícolas en el contexto de bioindicación es dificultoso encontrar en la bibliografía caracterizaciones funcionales de estas especies frente a la exposición a contaminantes (Ellis et al., 2021). Sin embargo, *R. confragosa* y *P. candelarioides* contienen atranorina y ácido pulvínico respectivamente. La producción de estos metabolitos secundarios en líquenes cumple un rol importante en la protección de los talos contra la radiación UV (Nguyen et al., 2013) y se ha reportado previamente que líquenes de ambientes contaminados producen,

preferentemente, derivados del ácido pulvínico y atranorina, entre otras sustancias (Hauck, 2010). Por lo tanto, estos resultados podrían indicar una asociación de especies tolerantes a la alta radiación UV y también con capacidad de protegerse contra contaminantes de origen minero.

Los resultados obtenidos a partir del análisis CCA mostraron que en CRV la altitud no es el factor más determinante, a pesar de que esta cuenca tiene un gradiente altitudinal similar a CRP. Otros factores de micrositio tales como la orientación y el % suelo influyen sobre la comunidad, pero sin marcar una clara separación entre sitios. En particular, los sitios V1 al V4 (los más cercanos a la mina) no se ordenaron en función de la altitud, ni de ninguna otra variable registrada. Los distintos puntos de estos sitios muestran una mayor heterogeneidad en la composición, patrón que se evidencia con la dispersión de los puntos en el gráfico de CCA, situación que podría estar relacionada con la cercanía a la mina.

Los ISA realizados para esta cuenca muestran que V1 (sitio más cercano a la mina) está asociado a especies como *Acarospora xanthophana* y *P. candelarioides*. Esta última especie, al igual que sucede en CAC, podría estar indicando una respuesta a la necesidad de protección de sus fotobiontes.

Los valores de cobertura de líquenes en las 3 áreas rondaron alrededor del 50% y no se observaron diferencias significativas entre cuencas. Sin embargo, ésta se ve influenciada por las variables de micrositio (% vegetación y % roca) al igual que lo observado por Rodríguez et al. (2017) en las Sierras de Córdoba. En las CRP y CRV la cobertura de líquenes mostró diferencias significativas entre sitios y el % roca influyó sobre los valores de cobertura en CRP.

En trabajos previos realizados sobre diversidad de líquenes saxícolas la orientación y las pendientes son factores muy importantes en la comunidad (Costas et al., 2021; Rodríguez et al., 2017; Rutherford & Rebertus, 2022). Sin embargo, en el presente estudio estos factores no muestran influencia en la riqueza y cobertura de líquenes, lo cual probablemente se deba a que los mismos están acotados en orientación sur y pendiente alta.

Las especies indicadoras reveladas por los ISA asocian algunas especies a sitios o cuencas en función de la altitud. *Acarospora xanthophana* y *Placomaronea candelarioides* están asociadas a sitios altos en CRV, lo cual coincide con las distribuciones de estas especies (Knudsen et al., 2008; Knudsen & Flakus 2016; Westberg et al., 2009). Por ejemplo, *Xanthoparmelia farinosa* está asociada a sitios bajos en CRP, mientras que *Punctelia perreticulata* y *Usnea durietzsi* son indicadoras de sitios altos. Este patrón coincide con las

distribuciones conocidas de estas especies (Estrabou, 1999; Rodríguez et al., 2011). En este sentido la mayor cantidad de especies indicadoras encontradas en CAC muestra la alta especialización de este piso altitudinal (alrededor de los 3000 m.s.n.m.). Las especies destacadas (con IV>50) en esta área son *Caloplaca* aff. *sonorae*, *Umbilicaria haplocarpa* y *Caloplaca* aff. *altoandina*. *Umbilicaria haplocarpa* es una especie endémica de los Andes centrales (ca. 2500-4400 m.s.n.m.) (Hestmark, 2010). El género *Caloplaca* pertenece a la familia Teloschistaceae, la cual ha sido poco investigada en Sudamérica, aunque todas sus especies tienen como característica distintiva la presencia de antraquinonas, metabolitos secundarios importantes para la protección del fotobionte (Nguyen et al., 2013; Solhaug & Gauslaa, 2004).

1.7. Conclusiones

En el presente trabajo se estudiaron las comunidades de líquenes saxícolas con el objetivo de contribuir al conocimiento de la diversidad de líquenes que crecen en áreas de altura del oeste de la provincia de Catamarca en zonas mineras. Los resultados muestran que las características de las comunidades de líquenes responden a factores ambientales (representados principalmente por la altitud y las diferencias climáticas entre cuencas) y las variables de micrositio, por lo que no se logró asociar con certeza que las diferencias en la riqueza y la composición de especies entre cuencas y entre los sitios se deba a la actividad minera. Sin embargo, los muy bajos valores de riqueza encontrados en CRV indican que la minería de cobre a cielo abierto podría tener influencia en la composición de líquenes (ver discusiones y conclusiones generales). Estudios ecológicos más profundos que analicen las comunidades de líquenes dentro y fuera de la mina en un rango altitudinal acotado permitirán determinar con más claridad el impacto de la mina sobre los líquenes. Además se deberá tener en cuenta la variación meteorológica de cada sitio, especialmente la dirección de los vientos predominantes, que determina el posible transporte de contaminantes.

Por último, teniendo en cuenta la falta de trabajos sobre las comunidades liquénicas, en la provincia, y particularmente aquellas asociadas a minería, estos estudios sientan las bases para realizar futuros estudios en profundidad sobre el impacto de la actividad minera en la composición de especies liquénicas en la región oeste de Catamarca.

CAPÍTULO 2:

Análisis químicos y fisiológicos en
líquenes recolectados *in situ* en tres
cuencas asociadas a la minería

2.1. Introducción

La evaluación sistemática de la calidad atmosférica a partir de la respuesta fisiológica de los líquenes constituye una metodología ampliamente desarrollada. Para evaluar el efecto de contaminantes atmosféricos sobre estos organismos se emplean numerosos parámetros, principalmente cambios fisiológicos y bioquímicos. Una de las respuestas más estudiadas es la degradación de pigmentos fotosintéticos como signo de daño liquénico a consecuencia de la acción fitotóxica de los contaminantes (Boonpragob, 2002; Cañas, 2001; Frati et al., 2011; Ocampo et al., 2009; Palomeque et al., 2007). Daños significativos a membranas celulares de líquenes se han visto como resultado de la exposición a contaminantes atmosféricos (Mateos & González 2016; Carreras et al., 2005; Filippini et al., 2020b). Tanto en líquenes como en otros sistemas biológicos, la presencia de productos de oxidación tales como el malondialdehído (MDA) está directamente asociado con el comienzo de la peroxidación de ácidos grasos insaturados (Estévez et al., 2008). A su vez, estas respuestas fisiológicas, en líquenes, en muchos casos se correlacionan con el contenido elemental en los mismos (Port et al., 2018). González y Pignata (1994) observaron un incremento en la concentración de MDA relacionado con el aumento en el contenido de azufre en *Punctelia subrudecta* trasplantada a un área contaminada. Carreras y Pignata (2007) encontraron distintos grados de toxicidad ($\text{Cu}^{2+} > \text{Pb}^{2+} > \text{Ni}^{2+} > \text{Zn}^{2+}$) analizando los efectos de algunos cationes sobre los parámetros fisiológicos medidos en *Usnea amblyoclada*. A su vez, Palomeque (2008) observó un efecto mensurable sobre algunos parámetros fisiológicos producido por el material particulado en suspensión sobre *Parmotrema austrosinense*.

Los líquenes contienen gran cantidad de compuestos fenólicos, los cuales poseen distintas actividades biológicas altamente comprobadas. Sin embargo, pocas investigaciones se han referido a la capacidad antioxidante que poseen los mismos (Manojlovic et al., 2012) (Rankovic et al., 2010a, 2010b; Silva et al., 2010; Kosanić et al., 2011); así como a los posibles roles (Valencia-Islas et al., 2007) y/o cambios en la concentración de compuestos fenólicos que puedan surgir como respuesta a la polución (Cuny et al., 2002). Localmente, Córdoba et al., (2012) observaron una disminución en el contenido de ácido lecanórico en *P. austrosinense* trasplantada a sitios contaminados de San Fernando del Valle de Catamarca.

Los líquenes se utilizan ampliamente como bioacumuladores de oligoelementos, debido a su resistencia a los metales pesados y a que su metabolismo depende estrictamente de los intercambios atmosféricos (Loppi et al., 1998; Garty, 2001). El uso de líquenes como biomonitores de acumulación se debe a su capacidad específica para absorber y/o retener diversos elementos de la atmósfera, combinados con su longevidad y la resistencia al estrés ambiental. Esto permite asumir que la concentración de elementos traza en los líquenes refleja la concentración de estos mismos elementos en el material particulado en el aire y permite inferir su proporción en el ambiente (Pignata et al., 2007).

En Argentina, la acumulación de elementos en líquenes se ha puesto de manifiesto en estudios de biomonitoreo con líquenes y plantas epífitas del género *Tillandsia*, encontrándose que las actividades urbanas e industriales son fuente de Co, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb y Zn (Carreras & Pignata, 2002; Pignata et al., 2007; Wannaz et al., 2006). Las prácticas agrícolas también fueron identificadas como posibles fuentes de metales pesados, atribuidas tanto a la remoción de suelos superficiales como al uso de agroquímicos (Bermudez et al., 2009; Filippini et al., 2020b; Pignata et al., 2002). Aunque estos hallazgos indican la asociación de contaminantes con posibles fuentes de contaminación atmosférica, también dan información sobre las características del suelo, ya que los líquenes acumulan elementos del medio al que están expuestos (Pignata et al., 2007). Así, Jasan et al. (2011) pudieron establecer a partir del análisis multielemental de *P. austrosinense*, que los elementos del suelo y roca tienen influencia sobre la calidad de aire en una amplia zona de la región oeste de Catamarca. A su vez, como ya se mencionó en la introducción general, en trabajos previos en el área de estudio con líquenes trasplantados se asoció el contenido elemental en los talos a la actividad minera y a la composición de las rocas graníticas y suelo característicos de los materiales parentales encontrados en esa región, así como también a la elevada acumulación de algunos elementos en talos trasplantados dentro de mina (Cañas et al., 2017; Jasan et al., 2011; Mohaded Aybar et al., 2011; Palomeque, 2008).

2.2. Hipótesis

Algunos procesos mineros, tales como generación de material particulado y emisión de gases de combustión por fuentes fijas y móviles provocan cambios a nivel químico y fisiológico en las poblaciones de especies liquénicas que habitan en los alrededores de los establecimientos mineros. Estas perturbaciones incluyen bioacumulación de algunos metales, no metales y/o metaloides, estrés oxidativo, respuesta antioxidante y degradación de pigmentos fotosintéticos; y la magnitud de estas variaciones está asociada a diferentes tiempos y tipos de explotación.

2.3. Objetivos

Evaluar la capacidad de algunos líquenes recolectados *in situ* como biomonitores de acumulación y respuesta en relación con la actividad minera en tres áreas de altura de la provincia de Catamarca, identificando los parámetros químicos y fisiológicos más adecuados como biomarcadores del efecto producido por contaminantes de este origen.

2.4. Materiales y métodos

2.4.1. Diseño de muestreo

2.4.1.1. Selección de sitios de muestreo

El área de estudio comprende las tres mismas cuencas que se evaluaron en los estudios ecológicos, en cada una de las cuales se seleccionaron 4 sitios de muestreo, a saber: (a) Sitios de CRP: P2, P4, P5 y P7; (b) Sitios de CAC: C1, C2, C3, C4; (c) Sitios de CRV: V2, V5, V6 y V8 (Fig. 2.1). Los criterios para la selección de los sitios fueron: Para CRP y CRV los sitios se ubicaron en función de la cercanía a la mina. En CAC los sitios se ubicaron en función de la cercanía a la mina y a cursos de agua afectados por drenaje ácido de mina (DAM).

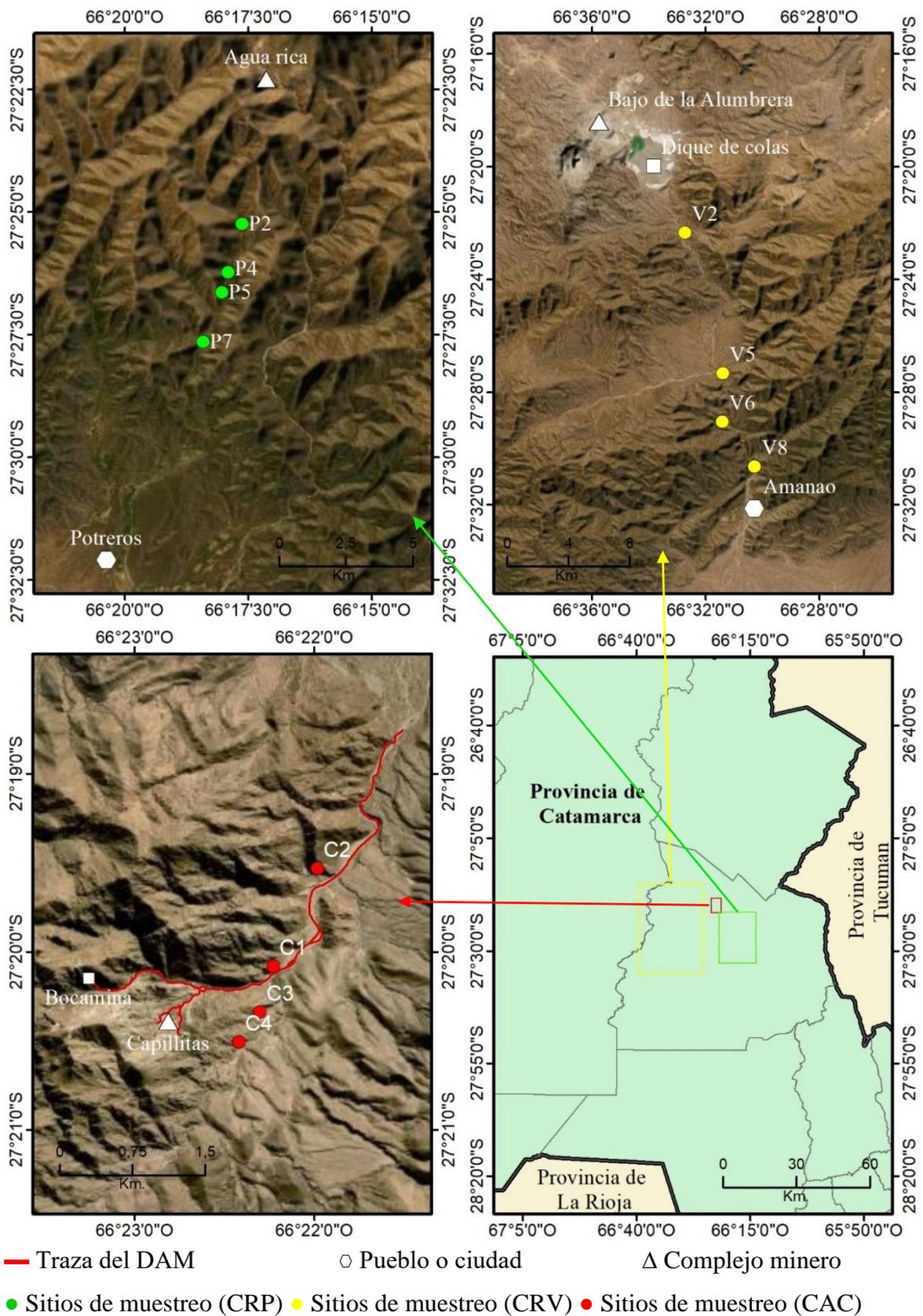


Figura 2.1. Mapa con la ubicación de los sitios de muestreo en área de estudio. DAM: Drenaje ácido de mina.

En CRP se tomaron muestras de sitios fuera del límite del Proyecto Minero Agua Rica. Aquí, los sitios marcan un gradiente altitudinal entre 1850 y 2300 m.s.n.m. acercándose a la mina. Agua Rica está en una etapa previa a la explotación por lo que los laboreos mineros son escasos y consisten principalmente en el movimiento de máquinas y camiones para el trazado de caminos.

En CRV se tomaron muestras en 4 sitios fuera del límite del Proyecto Minero Alumbraera. En esta cuenca los sitios marcan un gradiente altitudinal entre 1340 y 2070 m.s.n.m. acercándose a la mina.

En CAC se tomaron muestras en 4 sitios ubicados a altura constante y se distribuyeron desde el campamento de la mina hacia el norte. Dada la presencia de pequeños cursos de agua que descargan desde la boca de mina, que presentan coloración turquesa y anaranjado (observación personal), es evidente que han actuado procesos de movilización geoquímica, dado que la solubilidad de muchos metales y metaloides aumenta en medios acuosos ácidos, como los que se generan cuando los sulfatos formados a partir de la oxidación de los sulfuros metálicos entran en contacto con aguas superficiales oxigenadas, en lo que se conoce como drenaje ácido de mina (Nordstrom, 2011). C1 y C2 se ubican próximos al curso del arroyo Capillitas afectado con drenaje ácido de mina, siendo C1 el sitio más cercano a los límites de la mina; C3, en cercanía de una vivienda rural, y C4, en la zona de campamento, son los sitios más cercanos a la mina.

2.4.1.2. Recolección y tratamiento de muestras

En cada cuenca, se seleccionó la especie más frecuente y abundante y se tomaron 3 muestras de las mismas por cada sitio, colectando al azar un número de entre 15 y 20 talos (generalmente de distintos tamaños) por forófito o por roca según la especie. Para cada muestra se colectaron 5 gramos por muestra (aproximadamente 20 talos). (Esto asegura, de alguna manera, la obtención de material liquénico representativo de todos los estados (etéreos, fisiológicos, etc.) presentes en el área de estudio

En CRP y CRV se recolectaron talos de *Punctelia hypoleucites*, especie muy abundante en ambas cuencas que habita en la corteza de árboles y arbustos. En la cuenca del arroyo Capillitas (CAC) se recolectaron talos de *Parmotrema reticulatum*. Esta especie es muy abundante en la zona de estudio y habita sobre rocas y sobre musgos ubicados entre las mismas (Fig. 2.2). En CAC se recolectó una especie diferente de la colectada en CRP y

CRV, debido a que no se encontró una especie común a las tres zonas de recolección que sea frecuente y abundante en todos los sitios de muestreo.

Los líquenes recolectados en cada sitio de muestreo, se trasladaron al laboratorio, se limpiaron y trituraron en un molinillo hasta un tamaño de 0,5 a 2 mm para obtener homogeneidad. Luego, de cada muestra, , parte del material liquénico fue separado para la determinación de la relación peso seco/peso fresco. El material restante se almacenó en bolsas de nylon a -15°C en completa oscuridad para su posterior análisis. Las determinaciones fisiológicas (Pigmentos fotosintéticos, Polifenoles solubles totales y malondialdehído) y el contenido de azufre se realizaron en tres muestras independientes extraídas de cada sitio. El análisis de composición multi-elemental se realizó en dos muestras de cada sitio.

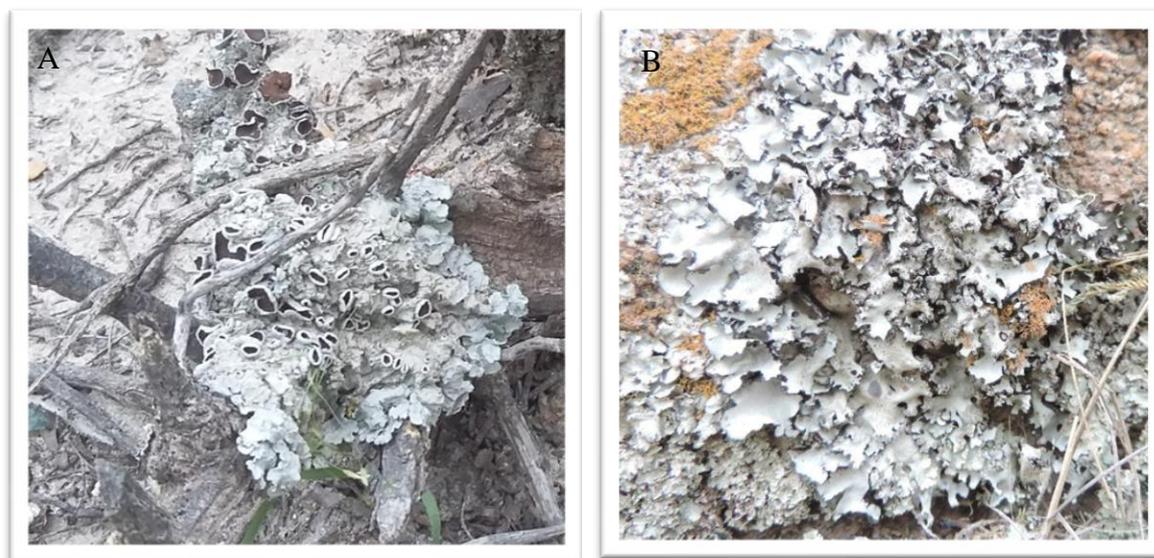


Figura 2.2. Imágenes tomadas en campo de las especies recolectadas para los análisis químico-fisiológicos. A) *Punctelia hypoleucites*. B) *Parmotrema reticulatum*.

2.4.2. Análisis químicos y fisiológicos

2.4.2.1. Relación peso seco/peso fresco

La relación peso seco/peso fresco (PS/PF) de las muestras se determinó colocando en estufa 0,5 g de material fresco a 60 °C hasta alcanzar una masa constante. Los resultados se expresaron en g PS/g PF. Esta relación se usó para expresar por peso seco la concentración de los parámetros cuantificados en el material liquénico.

2.4.2.2. Extractos liquénicos

Para la obtención de los extractos, se homogeneizaron 100 mg de material liquénico de cada muestra en 10 ml de etanol al 96% v/v durante 2 min a temperatura ambiente, mediante un molinillo eléctrico y, luego de 1 hora de incubación, se centrifugó a 620 rcf durante 15 min y se separó el sobrenadante para las determinaciones analíticas.

2.4.2.3. Pigmentos fotosintéticos

A partir de los extractos etanólicos de cada muestra se midió la absorbancia a 665 y 649 nm para la determinación clorofila *a* y *b*, y a 470 nm para carotenoides. Luego a 2,5 ml de cada extracto etanólico se le añadió 0,5 ml de una solución de HCl 0,06 N. Luego se midió la absorbancia a 666 y 654 nm para la determinación de feofitina *a* y *b*. Las absorbancias se midieron con un espectrofotómetro UV-Visible marca LaboMed. Inc. Las concentraciones se expresaron en miligramos por gramo de peso seco (mg/g PS). Con los pigmentos se estimaron los siguientes índices: clorofila *b*/clorofila *a* (Clor *b/a*) y el Índice de Feofitinización (feofitina *a*/clorofila *a*) (Feof *a*/Clor. *a*) para estimar la degradación de clorofilas (Cañas & Pignata, 1998).

2.4.2.4. Polifenoles solubles totales (PST)

Se determinó mediante un protocolo modificado del descrito por Slinkard y Singleton, (1977). Se mezcló 0,2 ml de los extractos etanólicos de cada muestra con 3 ml de agua bidestilada y 0,3 ml de reactivo de Folin-Ciocalteu comercial. Luego se dejó reposando durante 5 min. Por último, se añadió 2,5 ml de una solución saturada de Na₂CO₃ y se dejó incubando durante 1 hora con agitación intermitente. La absorbancia se midió a 760 nm y los valores de concentración se obtuvieron a partir de una curva de calibración con Pirocatecol como patrón estándar. La concentración se expresó en milimoles de Pirocatecol por gramo de peso seco (mmol PE/g PS).

2.4.2.5. Productos de peroxidación de lípidos de membrana (MDA)

La concentración de malondialdehído (MDA) se midió por un método colorimétrico de acuerdo a González et al. (1996). Se homogeneizaron 50 mg de material liquénico de cada muestra en 2,5 ml de H₂O destilada, con la ayuda de un molinillo eléctrico. Se añadió un

volumen igual de TBA (ácido 2-tiobarbitúrico) al 0,5% en una solución de ácido tricloroacético (TCA) al 20%. La solución se incubó a 95°C durante 30 min. La reacción se detuvo poniendo los tubos en un baño de hielo. A continuación, las muestras se centrifugaron a 620 rcf durante 30 min. El sobrenadante se retiró y se leyó la absorbancia a 532 nm (absorción específica), y a 600 nm (absorción no específica). Esta última se restó de la absorbancia a 532 nm. La cantidad de MDA presente se calculó a partir del coeficiente de extinción de 155 mM⁻¹cm⁻¹ y se expresó en micromoles por gramo de peso seco (μmol/g PS) (Heath & Packer, 1968).

2.4.2.6. Contenido de azufre (S)

El contenido de azufre en líquenes se midió según un método turbidimétrico establecido por González y Pignata (1994). Se añadió 2,5 ml de solución saturada de Mg(NO₃)₂ a 0,25 g de cada muestra y se secó en un calentador eléctrico. Posteriormente, la muestra se calentó en un horno mufla durante 2 hs a 500 °C. A continuación, las cenizas se digirieron en 2,5 ml de HCl 6 N, la solución resultante se hirvió durante 3 min y luego se filtró al vacío. La solución se enrasó a 25 ml con agua bidestilada. La cantidad de sulfato (SO₄²⁻) en la solución se determinó por el método de suspensión ácida utilizando BaCl₂, lo que permitió posteriormente calcular por estequiometría el contenido de azufre en cada muestra. La concentración se expresó en miligramos de azufre total por gramos de peso seco (mg/g PS).

2.4.2.7. Contenido multielemental por INAA

Un conjunto de 23 elementos se determinó mediante análisis por activación neutrónica instrumental (INAA, por sus siglas en inglés) (Jasan et al., 2011). Se pesó 1 g de material líquénico de cada muestra y se envió al Laboratorio de Técnicas Analíticas Nucleares - Centro atómico Ezeiza. En el laboratorio las muestras fueron molidas utilizando un molino criogénico y liofilizadas luego durante 24 horas. Luego fueron pastilladas y envasadas para su posterior irradiación junto con los materiales de referencia certificados, NIST SRM 1633b Coal Fly Ash, y IAEA-336 Lichen, durante 5 h en el reactor RA-3 perteneciente al Centro Atómico Ezeiza. Una vez irradiadas, se recibieron en el laboratorio de Técnicas Analíticas Nucleares (TAN), envasándose en recipientes nuevos para su posterior medición. Se realizaron dos mediciones con tiempos de decaimiento de 7 y 30 días aproximadamente para la determinación de: As, Ba, Br, Ca, Ce, Co, Cr, Cs, Eu, Fe, Hf, La,

Lu, Na, Rb, Sb, Sc, Sm, Ta, Th, U, Yb y Zn. Se utilizaron detectores de GeHP Ortec (30% de eficiencia, 1.9 keV de resolución para el pico de 1332.5 keV de ^{60}Co), un módulo buffer multicanal Ortec 919E y el software de adquisición de datos Gamma Vision. El cálculo de concentraciones se realizó a través de programas desarrollados en el laboratorio. Los resultados se expresaron en microgramos por gramos de peso seco ($\mu\text{g/g PS}$).

2.4.3. Análisis estadísticos

Se utilizó ANOVA de una vía, para las variables fisiológicas y el contenido de azufre, con el fin de evaluar las diferencias entre sitios de cada cuenca. El tamaño de muestra (n) por sitio fue de 3. Se realizó la prueba de LSD Fisher para comparaciones múltiples cuando fue apropiado. Para evaluar diferencias en los mismos parámetros entre las cuencas CRP y CRV se realizó un test T. El tamaño de muestra (n) por cuenca fue de 12.

Se evaluaron las fuentes de variabilidad a campo de cada uno de los parámetros químicos cuantificados a fin de identificar parámetros que potencialmente, y mediante una validación posterior, pueden ser utilizados como biomarcadores de contaminación atmosférica mediante el uso de las especies liquénicas empleadas en el presente estudio. Esto se realizó a través de un cociente denominado señal/ruido de acuerdo a Wolterbeek et al. (1996).

señal/ruido = varianza interpoblacional / varianza intrapoblacional

Donde

Varianza interpoblacional: varianza de las medias aritméticas poblacionales ($n = 4$). Estima la varianza general del muestreo.

Varianza intrapoblacional: Cuadrado Medio del Error (CME) de la Tabla de ANOVA que surge de un análisis de la varianza a un criterio de clasificación para el factor "sitio". Estima la varianza dentro de cada sitio para cada especie.

Para el contenido elemental se realizó un análisis factorial preliminar utilizando, como método de extracción, el análisis de Componentes Principales (ACP), empleando Varimax con normalización de Kaiser como método de rotación, a fin de identificar asociaciones multivariadas y gráficos biplot para visualizar como los sitios se separan en función de los factores obtenidos. Las herramientas estadísticas de análisis aplicadas en los parámetros fisiológicos y el contenido de azufre, para evaluar diferencias entre sitios, no pudieron

aplicarse con los datos de composición elemental, debido a que para los diferentes sitios de cada una de las cuencas estudiadas sólo se contó con dos datos.

Se utilizaron los softwares Infostat, su interfase con R (Di Rienzo et al., 2017a) y PASW Statistics 18 (SPSS Inc.) para la realización de todos los análisis.

2.5. Resultados

La Tabla 2.1 muestra el contenido de parámetros químicos y fisiológicos medidos en talos de *P. hypoleucites* recolectados en CRP. Se observaron diferencias significativas en el contenido de clorofilas *a* y *b*, feofitinas *a* y *b* y azufre entre los sitios. En el sitio P5, los talos presentaron valores significativamente mayores de clorofila *a*, feofitina *a*, clorofila *b* y feofitina *b* que el resto de los sitios, siendo P2, el sitio más cercano al proyecto minero, el que presentó valores más bajos. El contenido de S mostró diferencias significativas entre sitios con los valores más bajos en el sitio más cercano a la mina, el cual fue aumentando con la distancia a la mina.

Tabla 2.1. Media (D.E.) de parámetros químicos y fisiológicos cuantificados en *P. hypoleucites* correspondientes a los sitios de muestreo de CRP: Pigmentos fotosintéticos (mg/g PS), S (mg/g PS), PST (mmol PE/g PS), MDA ($\mu\text{mol/g PS}$), Clorofila *b/a* y Feof. *a* /Clor. *a*. Letras diferentes indican diferencias significativas a un *p*-valor < 0,05.

Sitios	Clorofila <i>a</i>	Clorofila <i>b</i>	Feofitina <i>a</i>	Feofitina <i>b</i>	Carot.
P2	0,19 (0,05) ^c	0,08 (0,03) ^b	0,16 (0,05) ^c	0,05 (0,02) ^b	0,033 (0,009)
P4	0,27 (0,07) ^{bc}	0,13 (0,04) ^b	0,24 (0,07) ^{bc}	0,09 (0,03) ^b	0,032 (0,006)
P5	0,59 (0,07) ^a	0,24 (0,04) ^a	0,51 (0,06) ^a	0,16 (0,02) ^a	0,052 (0,002)
P7	0,31 (0,03) ^b	0,12 (0,04) ^b	0,27 (0,03) ^b	0,08 (0,02) ^b	0,04 (0,01)

Sitios	Clor. <i>b/a</i>	Feof. <i>a</i> /Clor. <i>a</i>	PST	MDA	S
P2	0,4 (0,1)	0,82 (0,02)	0,11 (0,02)	0,038 (0,001)	1,04 (0,03) ^d
P4	0,49 (0,02)	0,87 (0,03)	0,08 (0,02)	0,040 (0,002)	1,2 (0,1) ^c
P5	0,41 (0,02)	0,874 (0,006)	0,08 (0,01)	0,039 (0,003)	1,43 (0,05) ^b
P7	0,4 (0,1)	0,88 (0,02)	0,09 (0,01)	0,041 (0,001)	1,58 (0,07) ^a

Para las variables Carotenoides, Clor. *b/a*, Feof. *a/Clor. a*, PST y MDA se obtuvieron cocientes señal/ruido relativamente bajos debido a que para estas variables no se obtuvieron diferencias significativas entre poblaciones (Tabla 2.2) por lo cual estos parámetros tendrían muy poca relación con las variables ambientales del sitio. Valores intermedios presentaron clorofila *b* y feofitina *b*, lo cual indican una dependencia media a las variables ambientales de sitio. Valores relativamente altos presentaron clorofila *a* y feofitina *a* y muy alto presentó el contenido de azufre.

Tabla 2.2. Cociente señal/ruido para las variables cuantificadas en *P. hypoleucites* colectada en CRP.

Variable	Varianza interpoblacional	Varianza intrapoblacional	Señal/ruido
Clorofila <i>a</i>	0,0268020	0,0033972	7,89
Clorofila <i>b</i>	0,0048405	0,0014558	3,32
Feofitina <i>a</i>	0,0214104	0,0030088	7,12
Feofitina <i>b</i>	0,0022746	0,0006465	3,52
Carotenoides	0,0001240	0,0000714	1,73
Clor. <i>b/a</i>	0,0071348	0,0075571	0,94
Feof. <i>a/Clor. a</i>	0,0008849	0,0005116	1,72
PST	0,0003019	0,0002268	1,33
MDA	0,0000293	0,0000267	1,10
S	0,0495804	0,0047748	10,38

La Tabla 2.3 muestra el contenido de parámetros químicos y fisiológicos medidos en talos de *P. hypoleucites* recolectados en CRV. Se observaron diferencias significativas en el contenido de clorofila *a*, feofitina *a*, carotenoides, PST, MDA y S. La concentración de clorofila *a*, clorofila *b* y carotenoides fue significativamente mayor en el sitio V2, sitio más cercano a la mina, y mostraron una tendencia a disminuir a en los sitios más alejados de ella. MDA y el contenido de S presentaron valores significativamente mayores en los sitios V2 y los sitios V6 y V8, más cercanos a la salida de la cuenca y más alejados de la mina respectivamente, respecto del sitio V5, ubicado en la zona media.

Tabla 2.3. Media (D.E.) de parámetros químicos y fisiológicos cuantificados en *P. hypoleucites* correspondientes a los sitios de muestreo de CRV: Pigmentos fotosintéticos (mg/g PS), S (mg/g PS), PST (mmol PE/g PS), MDA ($\mu\text{mol/g PS}$), Clor. *b/a* y Feof. *a /Clor. a*. Letras diferentes indican diferencias significativas a un p-valor < 0,05..

Sitios	Clorofila <i>a</i>	Clorofila <i>b</i>	Feofitina <i>a</i>	Feofitina <i>b</i>	Carot.
V2	0,72 (0,09) ^a	0,25 (0,04)	0,7 (0,1) ^a	0,18 (0,06)	0,075 (0,006) ^a
V5	0,57 (0,09) ^{bc}	0,23 (0,04)	0,54 (0,06) ^{bc}	0,18 (0,02)	0,065 (0,004) ^a
V6	0,64 (0,02) ^{ab}	0,23 (0,05)	0,62 (0,03) ^{ab}	0,24 (0,03)	0,06 (0,02) ^{ab}
V8	0,46 (0,06) ^c	0,20 (0,01)	0,45 (0,05) ^c	0,19 (0,03)	0,04 (0,01) ^b

Sitios	Clor. <i>b/a</i>	Feof. <i>a/Clor. a</i>	PST	MDA	S
V2	0,34 (0,02)	0,97 (0,05)	0,114 (0,006) ^b	0,045 (0,002) ^a	1,9 (0,2) ^a
V5	0,41 (0,02)	0,95 (0,04)	0,138 (0,005) ^a	0,030 (0,001) ^c	1,3 (0,1) ^b
V6	0,36 (0,07)	0,97 (0,03)	0,105 (0,005) ^b	0,042 (0,003) ^{ab}	1,7 (0,2) ^a
V8	0,44 (0,05)	0,97 (0,01)	0,076 (0,003) ^c	0,038 (0,002) ^b	1,8 (0,2) ^a

Tabla 2.4. Cociente señal/ruido para las variables cuantificadas en *P. hypoleucites* colectada en CRV.

Variable	Varianza interpoblacional	Varianza intrapoblacional	Señal/ruido
Clorofila <i>a</i>	0,0132833	0,0051578	2,58
Clorofila <i>b</i>	0,0014306	0,0015904	0,90
Feofitina <i>a</i>	0,0129580	0,0054168	2,39
Feofitina <i>b</i>	0,0016942	0,0015518	1,09
Carotenoides	0,0003107	0,0001369	2,27
Clor. <i>b/a</i>	0,0031016	0,0019582	1,58
Feof. <i>a/Clor. a</i>	0,0008933	0,0011093	0,81
PST	0,0005513	0,0000253	21,79
MDA	0,0000375	0,0000043	8,72
S	0,0672199	0,0254863	2,64

Los parámetros clorofila *b*, feofitina *b*, Clor. *b/a*, Feof. *a/Clor. a* mostraron valores muy bajos de cociente señal/ruido, ya que no se observaron diferencias significativas entre sitios. Los valores de señal/ruido para clorofila *a*, feofitina *a*, carotenoides y S fueron relativamente bajos, indicando que estas variables tienen poca dependencia con el sitio de muestreo. MDA presentó valores relativamente alto y PST muy altos del cociente (Tabla 2.4).

En la Tabla 2.5 se muestra el contenido de parámetros químicos y fisiológicos medidos en *P. reticulatum* en los sitios de CAC. Se observaron diferencias significativas entre sitios en el contenido de clorofila *a*, feofitina *a*, carotenoides, PST, MDA y azufre. Clorofila *a* y feofitina *a* presentaron contenidos significativamente mayores en los sitios C1, C2 y C3 respecto de C4. PST y MDA presentaron valores significativamente más altos en los sitios C2 y C3 respecto del sitio C1 y C4. El contenido de S fue significativamente mayor en C2 respecto de C1.

Tabla 2.5. Media (D.E.) de parámetros químicos y fisiológicos cuantificados en *P. reticulatum* correspondientes a los sitios de muestreo de CAC: Pigmentos fotosintéticos (mg/g PS), S (mg/g PS), PST (mmol PE/g PS), MDA ($\mu\text{mol/g PS}$), Clor. *b/a* y Feof. *a/Clor. a*. Letras diferentes indican diferencias significativas a un p-valor < 0,05.

Sitios	Clorofila <i>a</i>	Clorofila <i>b</i>	Feofitina <i>a</i>	Feofitina <i>b</i>	Carot.
C1	0,266 (0,008) ^a	0,12 (0,03)	0,24 (0,02) ^{ab}	0,11 (0,02)	0,023 (0,009) ^c
C2	0,29 (0,03) ^a	0,11 (0,02)	0,277 (0,002) ^a	0,11 (0,02)	0,069 (0,005) ^b
C3	0,26 (0,03) ^a	0,11 (0,02)	0,25 (0,01) ^{ab}	0,10 (0,01)	0,031 (0,002) ^c
C4	0,21 (0,03) ^b	0,09 (0,03)	0,20 (0,03) ^c	0,09 (0,01)	0,12 (0,02) ^a

Sitios	Clor. <i>b/a</i>	Feof. <i>a/Clor. a</i>	PST	MDA	S
C1	0,46 (0,09)	0,91 (0,05)	0,051 (0,005) ^b	0,046 (0,001) ^b	1,45 (0,05) ^b
C2	0,39 (0,03)	1,0 (0,1)	0,058 (0,003) ^a	0,059 (0,004) ^a	1,58 (0,03) ^a
C3	0,43 (0,07)	0,98 (0,07)	0,061 (0,001) ^a	0,060 (0,002) ^a	1,49 (0,05) ^b
C4	0,44 (0,06)	0,96 (0,08)	0,048 (0,003) ^b	0,047 (0,005) ^b	1,51 (0,08) ^b

Para las variables clorofila *b*, feofitina *b*, Clor. *b/a* y Feof. *a/Clor. a* se obtuvieron cocientes señal/ruido muy bajos debido a que estas variables no mostraron diferencias significativas entre poblaciones y por lo tanto tendrían muy poca relación con las variables de micrositio

(Tabla 2.7). Se obtuvieron cocientes relativamente bajos de clorofila *a* y S. Valores intermedios presentaron feofitina *a*, PST y MDA, lo cual indican que estas variables tienen una dependencia media de las variables ambientales. Valores muy altos se observaron en el contenido de carotenoides.

Tabla 2.6. Cociente señal/ruido para las variables cuantificadas en *P. reticulatum* en CAC.

Variable	Varianza		Señal/ruido
	interpoblacional	intrapoblacional	
Clorofila <i>a</i>	0,0015702	0,0007877	1,99
Clorofila <i>b</i>	0,0005919	0,0005906	1,00
Feofitina <i>a</i>	0,0011398	0,0003204	3,56
Feofitina <i>b</i>	0,0002404	0,0001992	1,21
Carotenoides	0,0016875	0,0001650	10,23
Clor. <i>b/a</i>	0,0046031	0,0053269	0,86
Feof. <i>a</i> /Clor. <i>a</i>	0,0049677	0,0057021	0,87
PST	0,0000338	0,0000099	3,41
MDA	0,0000540	0,0000135	4,00
S	0,0047115	0,0027783	1,70

Tabla 2.7. Media (D.E.) de parámetros químicos y fisiológicos cuantificados en *P. hypoleucites* correspondientes a los valores promedio de las cuencas CRP y CRV. Pigmentos fotosintéticos (mg/g PS), S (mg/g PS), PST (mmol PE/g PS), MDA (μ mol/g PS), Clor. *b/a* y Feof. *a* /Clor. *a*. *indica diferencias significativas a un *p*-valor < 0,05. N.S.: Diferencias no significativas.

Variables	n	Cuenca		Test T
		CRP	CRV	
Clorofila <i>a</i>	12	0,3 (0,2)	0,6 (0,1)	*
Clorofila <i>b</i>	12	0,14 (0,07)	0,23 (0,04)	*
Feofitina <i>a</i>	12	0,3 (0,1)	0,6 (0,1)	*
Feofitina <i>b</i>	12	0,09 (0,05)	0,21 (0,04)	*
Carot.	12	0,04 (0,01)	0,06 (0,02)	*
Clor. <i>b/a</i>	12	0,43 (0,08)	0,39 (0,06)	NS
Feof. <i>a</i> /Clor. <i>a</i>	12	0,86 (0,03)	0,96 (0,03)	*
S	12	1,3 (0,2)	1,7 (0,3)	*
PST	12	0,09 (0,02)	0,11 (0,02)	*

MDA	12	0,039 (0,002)	0,039 (0,006)	NS
-----	----	---------------	---------------	----

Como ya se explicó en la sección de Materiales y Métodos, solo se pudieron comparar los resultados de los estudios *in situ* realizados en CRV y CRP debido a que se empleó la misma especie. En CAC se recolectó una especie diferente, por lo cual los resultados no se usaron para comparar entre cuencas.

En la Tabla 2.7 se muestran los valores promedios de cada cuenca de parámetros químicos y fisiológicos analizados en *P. hypoleucites* recolectada en las cuencas CRP y CRV. Se observaron valores significativamente mayores en CRV para todos los parámetros cuantificados, a excepción de Clor. *b/a* y del contenido de MDA, que no mostraron diferencias significativas entre cuencas.

En la Tabla A-2.1, de la sección Anexo, se muestran los valores del contenido multielemental analizado *P. hypoleucites* recolectada en CRP. A partir de estos datos se realizó el análisis factorial (Tabla 2.8). De los resultados de este análisis se obtuvieron 3 factores que explicaron el 95,5% de la variabilidad de los datos. Considerando la contribución de las diferentes variables químicas en cada factor, es posible detectar diferentes asociaciones geoquímicas que dan cuenta del origen de las partículas interceptadas por el biomonitor. El factor 1 explicó el 65,01% y tuvo altas contribuciones de As, Ba, Br, Ce, Co, Cr, Cs, Eu, Fe, Hf, La, Lu, Na, Rb, Sb, Sc, Sm, Sr, Ta, Th y Yb. El factor 2 explicó el 16,26% de la variabilidad con contribuciones de Ca, Nd, Sr y U. El factor 3 explicó el 14,25 % de la variabilidad de los datos, con S y Zn como las variables de mayor peso. Los sitios se separaron principalmente por el factor 1, siendo el sitio P2, más cercano al proyecto minero, el que menores valores de este factor presentó. El factor 2 mostró los mayores valores en el sitio P4, seguido por P7 y con los valores más bajos en P2 y P5. El sitio P7, más cercano a la salida de la cuenca tuvo los valores más altos del factor 3. (Fig. 2.3).

Tabla 2.8. Resultados del análisis factorial en *P. hypoleucites* recolectada en los sitios de monitoreo de CRP. n=8. Se consideran elevados los autovalores $\geq 0,7$ resaltados en negrita.

	Comunalidades	Componentes		
		1	2	3
As	0,925	0,792	0,518	-0,172
Ba	0,954	0,860	0,330	0,325
Br	0,990	0,926	0,005	0,364
Ca	0,916	0,190	0,933	0,103
Ce	0,980	0,979	0,107	0,099
Co	0,984	0,959	0,202	0,153
Cr	0,981	0,896	0,394	0,147
Cs	0,996	0,879	0,259	0,394
Eu	0,995	0,976	0,162	0,129
Fe	0,991	0,984	0,149	0,032
Hf	0,997	0,667	0,391	0,631
La	0,991	0,986	0,113	0,082
Lu	0,988	0,891	0,363	0,247
Na	0,960	0,828	-0,175	0,493
Nd	0,946	0,185	-0,905	0,303
Rb	0,983	0,990	-0,034	-0,036
Sb	0,899	0,874	0,319	0,184
Sc	0,997	0,980	0,141	0,130
Sm	0,968	0,901	0,299	0,259
Sr	0,719	-0,314	-0,766	-0,182
Ta	0,963	0,918	0,126	0,323
Th	0,926	0,786	0,203	0,517
U	0,883	0,445	0,689	0,459
Yb	0,983	0,881	0,369	0,267
Zn	0,953	0,136	0,093	-0,962
S	0,970	0,520	0,184	0,816
% Varianza		65,01	16,26	14,25

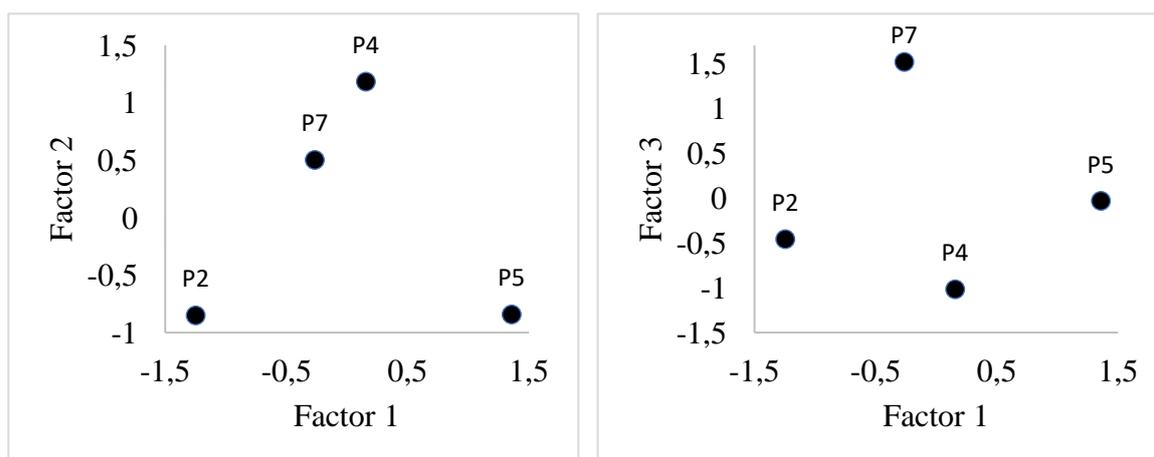


Figura 2.3. Diagrama de dispersión mostrando los sitios de muestreo. Los ejes corresponden a los tres primeros factores, luego de la rotación de los componentes principales obtenidos mediante ACP.

En la Tabla A-2.2, de la sección Anexo, se muestran los valores del contenido multielemental analizado *P. hypoleucites* recolectada en CRV. A partir de estos datos se realizó el análisis factorial (Tabla 2.9). De los resultados de este análisis se obtuvieron 3 factores que explicaron el 98,1% de la variabilidad de los datos. El factor 1 explicó el 71,63% y presentó contribuciones de la mayoría de los elementos (As, Ba, Ca, Ce, Co, Cr, Cs, Eu, Fe, Hf, La, Lu, Na, Rb, Sb, Sc, Se, Sm, Ta, Th, U y Yb). El factor 2, que explicó el 18,27% y se asoció a Br, S y Zn. El factor 3 explicó el 8,21% de la variabilidad de los datos con Tb como la variable de peso principal. Los sitios se separaron principalmente por el factor 1, siendo el sitio V8, más alejado de la mina y cercano a la salida de la cuenca, el que mayores valores de este factor presentó. El sitio V2, más cercano a la mina, presentó los mayores valores del factor 2 y el factor 3 mostró mayores valores en el sitio V6, el cual se encuentra ubicado en la cuenca media (Fig. 2.4).

Tabla 2.9. Resultados del Análisis factorial en *P. hypoleucites* recolectada en los sitios de monitoreo de CRV. n=8. Se consideran elevados los autovalores $\geq 0,7$ resaltados en negrita.

	Comunalidades	Componentes		
		1	2	3
As	0,978	0,754	0,561	0,307
Ba	0,983	0,969	0,204	0,052
Br	0,979	0,152	0,964	0,161
Ca	0,967	0,887	0,218	-0,364
Ce	0,996	0,880	0,420	0,213
Co	0,996	0,981	0,157	0,089
Cr	0,994	0,985	0,069	0,134
Cs	0,999	0,935	0,311	0,170
Eu	0,989	0,754	0,621	0,188
Fe	1,000	0,972	0,223	0,068
Hf	0,996	0,992	0,101	0,036
La	0,995	0,910	0,392	0,117
Lu	0,993	0,956	0,276	0,060
Na	0,994	0,988	0,117	0,064
Rb	0,999	0,965	0,179	0,189
Sb	0,969	0,662	0,657	0,314
Sc	1,000	0,973	0,213	0,088
Se	0,994	0,936	0,126	0,318
Sm	0,993	0,771	0,378	0,506
Ta	0,999	0,961	0,220	0,167
Tb	0,954	0,098	0,159	0,959
Th	0,992	0,974	0,204	0,042
U	0,996	0,978	0,179	0,086
Yb	0,968	0,914	0,183	0,316
Zn	0,972	0,224	0,906	0,319
S	0,815	0,023	0,870	-0,239
% Varianza		71,63	18,27	8,21

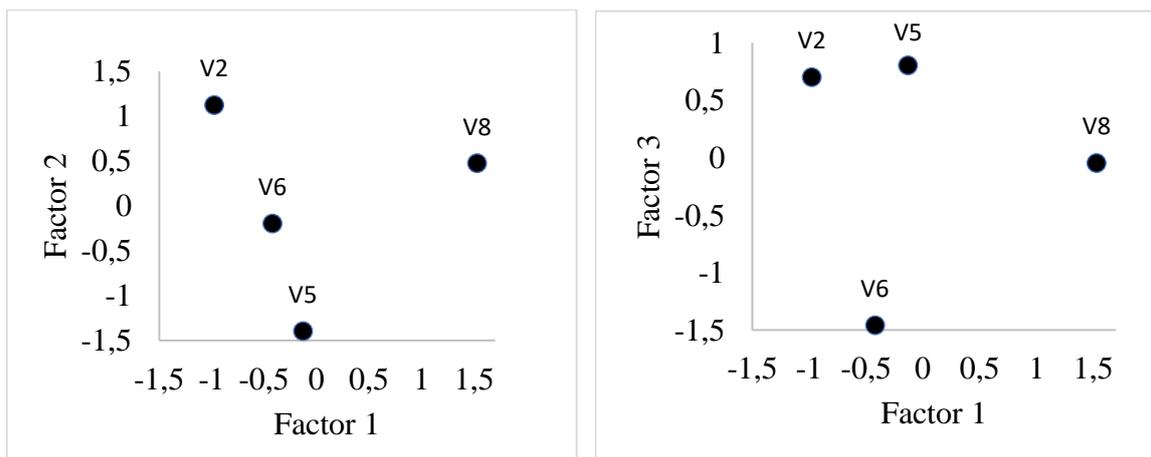


Figura 2.4. Diagrama de dispersión mostrando los sitios de muestreo. Los ejes corresponden a los tres primeros factores, luego de la rotación de los componentes principales obtenidos mediante ACP.

En la Tabla A-2.3, de la sección Anexo, se muestran los valores del contenido multielemental analizado *P.reticulatum* recolectada en CAC. A partir de estos datos se realizó el análisis factorial (Tabla 2.10). De los resultados de este análisis se obtuvieron 4 factores que explicaron el 96,7% de la variabilidad de los datos. El factor 1 explicó el 57,03% y presentó contribuciones de la mayoría de los elementos analizados (Ba, Br, Ce, Co, Cr, Cs, Eu, Fe, Gd, Hf, La, Lu, Na, Rb, Sc, Se, Sm, Ta, Tb, Th, U y Yb). El factor 2, que explicó el 17,54%, se asoció a As y Sb. El factor 3 explicó el 13,47% de la variabilidad de los datos y tuvo contribuciones de Ca y Zn. El factor 4 explicó el 8,69 y se asoció al contenido de S. Los sitios se separaron principalmente por el factor 1. Los sitios C1 y C3 presentaron los mayores valores de este factor, luego le siguieron en orden decreciente C2 y C4. El factor 2 mostró menores valores en C4 respecto de los otros sitios. El factor 3 mostró los mayores valores en C1 y seguidos en orden decreciente por C2, C4 y C3. El factor 4 exhibió menores valores en C2, respecto de los otros sitios (Fig. 2.5).

Tabla 2.10. Resultados del análisis factorial en *P. reticulatum* recolectada en los sitios de monitoreo de CAC. n=8. Se consideran elevados los autovalores $\geq 0,7$ resaltados en negrita.

	Comunalidades	Componentes			
		1	2	3	4
As	0,985	-0,181	-0,654	0,550	-0,471
Ba	0,991	0,851	0,346	0,295	0,243
Br	0,980	0,814	0,429	0,108	-0,349
Ca	0,921	0,533	-0,012	0,794	-0,082
Ce	0,950	0,921	0,036	0,187	0,256
Co	0,988	0,773	0,378	0,447	0,219
Cr	0,999	0,788	0,483	0,292	0,244
Cs	0,990	0,798	0,501	0,287	0,137
Eu	0,993	0,877	0,443	0,164	0,027
Fe	0,992	0,797	0,442	0,328	0,232
Gd	0,935	0,641	0,399	0,559	0,229
Hf	0,997	0,807	0,455	0,171	0,332
La	0,947	0,853	0,183	0,327	0,280
Lu	0,985	0,868	0,477	0,061	0,000
Na	0,991	0,733	0,395	0,497	0,224
Rb	0,989	0,820	0,392	0,222	0,338
Sb	0,946	-0,339	-0,906	0,019	-0,098
Sc	0,996	0,796	0,477	0,297	0,217
Se	0,966	0,764	0,472	0,312	0,251
Sm	0,959	0,951	0,220	0,066	-0,021
Ta	0,974	0,748	0,536	0,294	0,202
Tb	0,907	0,878	0,115	-0,021	-0,350
Th	0,957	0,861	0,015	0,195	0,422
U	0,992	0,920	0,311	-0,087	0,204
Yb	0,978	0,813	0,551	0,061	-0,098
Zn	0,990	-0,007	0,001	0,995	-0,030
S	0,814	-0,131	-0,154	0,051	-0,878
% Varianza		57,03	17,54	13,47	8,69

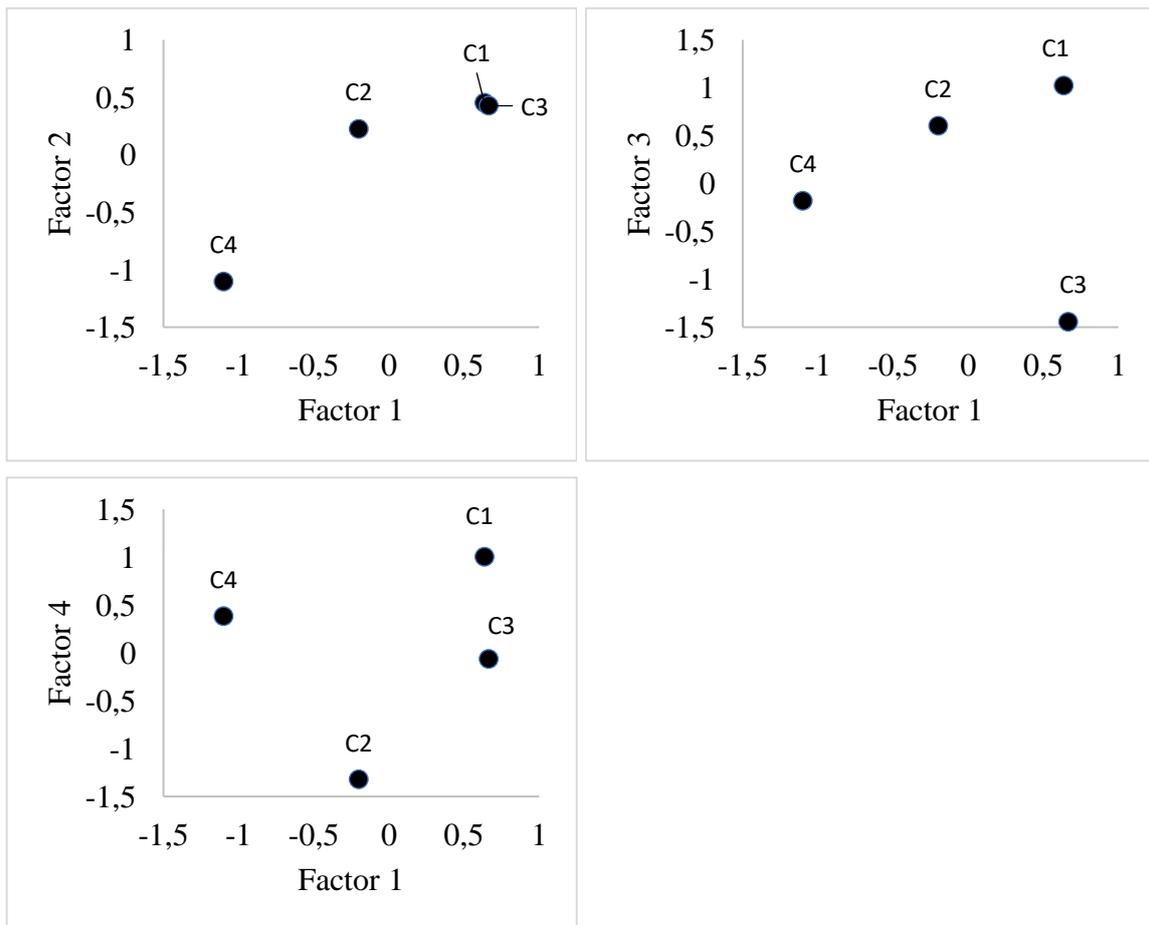


Figura 2.5. Diagrama de dispersión mostrando los sitios de muestreo. Los ejes corresponden a los cuatro primeros factores, luego de la rotación de los componentes principales obtenidos mediante ACP.

En la Tabla 2.11 se muestra el contenido multi-elemental promedio por cuenca analizado en *P. hypoleucites* en las cuencas CRP y CRV. Se observaron valores significativamente mayores en CRV de todos los elementos excepto el Ca, el cual no presentó diferencias significativas.

Tabla 2.11. Media (D.E.) del contenido elemental ($\mu\text{g/g}$ Peso Seco) medido en *P. hypoleucites* comparando los valores medios de 4 sitios de CRP y 4 sitios de CRV. Incluye resultados del Test T entre cuencas. *: diferencias significativas a un $p < 0,05$. N.S.: diferencias no significativas.

Variable	Cuencas		Test T
	CRP	CRV	
As	1,9 (0,4)	3,2 (0,5)	*
Ba	38 (7)	51 (17)	*
Br	3,5 (0,3)	7 (1)	*
Ca	38202 (8376)	31638 (16036)	N.S.
Ce	7 (1)	13 (2)	*
Co	0,9 (0,1)	1,5 (0,4)	*
Cr	4,2 (0,6)	7 (2)	*
Cs	1,1 (0,2)	1,8 (0,5)	*
Eu	0,10 (0,01)	0,22 (0,04)	*
Fe	2535 (442)	4472 (1399)	*
Hf	0,37 (0,08)	0,7 (0,3)	*
La	3,3 (0,5)	7 (1)	*
Lu	0,04 (0,01)	0,08 (0,02)	*
Na	1150 (163)	1863 (765)	*
Rb	13 (2)	18 (2)	*
Sb	0,09 (0,02)	0,20 (0,04)	*
Sc	0,90 (0,15)	1,57 (0,13)	*
Sm	0,64 (0,11)	1,31 (0,21)	*
Ta	0,11 (0,02)	0,17 (0,02)	*
Th	1,05 (0,21)	2,06 (0,57)	*
U	0,40 (0,09)	0,73 (0,21)	*
Yb	0,25 (0,04)	0,47 (0,08)	*
Zn	22,4 (1,9)	35 (5)	*

2.6. Discusión

Como se detalló anteriormente, se utilizó la especie epífita *P. hypoleucites* para evaluar calidad de aire en las Cuencas CRP y CRV. Si bien CRV está en contacto con Bajo la Alumbraera (mina a cielo abierto con más de 25 años de explotación) y CRP con Agua Rica (proyecto minero en etapa previa a la explotación a cielo abierto), ambas tienen diferencias fitogeográficas y climáticas, como se describió en el área de estudio, que influyen también en la respuesta química y fisiológica de los líquenes. Los mayores valores encontrados en CRV respecto de CRP en casi todos los parámetros analizados tanto de contenido elemental, como de los parámetros fisiológicos muestran las diferencias ambientales a la que están expuestos los líquenes de ambas cuencas. Por lo tanto, asociar estas diferencias solo a las condiciones que derivan de las distintas etapas de actividad minera en ambas cuencas no sería acertado. Sin embargo, teniendo en cuenta la cercanía de CRV a Bajo la Alumbraera, es probable que la diferente respuesta de los líquenes esté indicando el impacto producido por su actividad. Trabajos anteriores con líquenes trasplantados a Bajo la Alumbraera y alrededores informaron que el líquen *P. austrosinense* presentó mayor estrés oxidativo dentro de mina (Mohaded et al., 2008), a su vez, que la acumulación de elementos en la misma especie estaría relacionada con la contaminación atmosférica de origen minero (Cañas et al., 2017; Mohaded et al., 2010).

En cuanto al contenido elemental analizado en CRP podemos decir que hay diferentes fuentes que aportan a la composición elemental en los talos de *P. hypoleucites* en CRP. La principal que, tiene altas contribuciones de As, Ba, Br, Ce, Co, Cr, Cs, Eu, Fe, Hf, La, Lu, Na, Rb, Sb, Sc, Sm, Sr, Ta, Th y Yb puede asignarse a elementos litogénicos, lo que indicaría que el suelo y las rocas son la principal fuente de metales y oligoelementos en el aire. El Co, el Cr y el Fe están asociados a las rocas silicomagnesianas ultrabásicas y a los gabros presentes en el área de estudio. Las tierras raras y sus asociados naturales, son normales en ciertos tipos de granitoides y exhiben niveles geoquímicamente anómalos en granitos radiactivos como los encontrados en el complejo volcánico farallón negro (incluye el área de estudio) (Cañas et al., 2017; Jasan et al., 2011). Se trata de una especialización geoquímica regional. Los gabros son rocas ígneas plutónicas intrusivas. El Ba y Na, corresponden a elementos litófilos (Palomeque, 2008; Rankama y Sahama, 1954); es decir elementos que están presentes en la corteza terrestre superior y tienen gran afinidad por el oxígeno. Estos elementos

son una asociación característica en las mineralizaciones hidrotermales, abundantes en la región. Normalmente están presentes en las rocas granitoides. El Ba (15-100 ppm) está presente como sustituto en el feldespato potásico.

Otra fuente con altas contribuciones de Ca, Nd, Sr y U, puede estar relacionada con el suelo y roca presente en el área de estudio. Los granitos radiactivos presentes en la región tienen U asociado a tierras raras como el Nd (Jasan et al., 2011).

También habría otra fuente que aporta al contenido de zinc (Zn), que podría tener origen en los altos valores geoquímicos naturales de Zn encontrados en los sedimentos de corriente en Andalgalá, que probablemente vengan de la dispersión producida por el río Potreros, originada por el yacimiento porfirico de cobre “Agua rica”, todavía no explotado (Cañas et al., 2017). Esto no excluye que, en CRP, el Zn pueda tener origen antropogénico en el tránsito vehicular debido al movimiento de máquinas y camiones para el trazado de caminos. En un estudio previo realizado con el líquen *Ramalina celastri* en la región central de Argentina se encontró que el contenido de Zn está aparentemente asociado al tránsito vehicular (Pignata et al., 2007). La concentración de azufre (S) muestra un gradiente, aumentando en los sitios más cercanos a la salida de la cuenca hacia el Bolsón del Pipanaco. Por tanto, el contenido de S en *P. hypoleucites* recolectada en CRP tendría un origen diferente a la mayoría de los elementos analizados. El gradiente de concentración del mismo podría estar asociado al material particulado proveniente del Bolsón del Pipanaco. Líquenes estudiados en esta zona han mostrado responder al material particulado a través de la acumulación de azufre (Palomeque, 2008). La cuenca del Bolsón de Pipanaco corresponde a una llanura de agradación, con sedimentos Terciarios y Cuaternarios cubriendo el Basamento Cristalino. A su vez, en la zona ha ocurrido un paulatino incremento de la superficie deforestada, que permite explicar la formación de médanos, comunes en la región. También el aumento en la frecuencia e intensidad de los vientos, los que al tener mayor oportunidad de contacto con el suelo y al estar éste cada vez más expuesto (por disminución de la cobertura herbácea) se traducen en tormentas de polvo y arena (Morlans, 1995, 1997; Palomeque, 2008). Además, la cuenca y por lo tanto los sitios de recolección están ubicados en la dirección Norte - Sur, lo que, teniendo en cuenta la topografía de las misma, favorecería el flujo predominante del aire en estas direcciones, y justificaría el gradiente observado en la concentración.

En CRV, en función del contenido elemental analizado podemos decir que hay diferentes fuentes que aportan a la composición elemental en los talos de *P.*

hypoleucites. La principal, con altas contribuciones de As, Ba, Ca, Ce, Co, Cr, Cs, Eu, Fe, Hf, La, Lu, Na, Rb, Sb, Sc, Se, Sm, Ta, Th, U y Yb, indicaría que el suelo y las rocas son la principal fuente de metales y oligoelementos en el aire (Cañas et al., 2017; Jasan et al., 2011; Palomeque, 2008). Otra fuente que aporta S, Br y Zn estaría reflejando el origen en la actividad minera presente en el área de estudio. Los valores significativamente más altos de S se encontraron en V2, el sitio más cercano a Bajo la Alumbreira. La evaluación del contenido de S en los líquenes proporciona una buena estimación de la concentración atmosférica de SO₂ en lugares rurales, suburbanos y urbanos (Garty et al., 1985). Teniendo en cuenta que los principales minerales del yacimiento Bajo la Alumbreira son sulfuros (pirita y calcopirita) (Gutiérrez, et al., 2006), el contenido de S en los líquenes recolectados en V2 podría tener diversos aportes, tales como el aporte de material rocoso particulado producto de las voladuras, de los vientos que entran en contacto con zonas de acopio de material, y con la emisión de SO₂ producto de la calcinación del mineral para concentrar el oro y la combustión del transporte automotor que opera en el área de la mina. En un estudio con *R. ceslastris in situ* en la región central de Argentina se encontró que (Zn y Br) están aparentemente asociados a fuentes de emisión urbanas antropogénicas (Pignata et al., 2007). El contenido de azufre en los líquenes se relaciona generalmente con las fuentes de emisión del tránsito vehicular (Carreras & Pignata, 2002; González et al., 2003). Por lo cual, la asociación entre S, Br y Zn estarían reflejando el origen minero de los mismos a partir del transporte automotor pesado que opera en el área de la mina, principalmente en el dique de colas, sector de la mina más cercano al sitio V2. Cabe resaltar que al momento del estudio se observó mucha actividad de transporte de tierra y material rocoso en camiones con el objetivo de levantar la cota del paredón del dique de colas.

En CRP, las diferencias encontradas entre sitios en el contenido de clorofilas y feofitinas en *P. hypoleucites* parecen estar asociadas a factores ambientales decisivos como son la luz, la temperatura y el grado de hidratación del talo que, teniendo en cuenta el carácter poiquilohídrico de los líquenes, en este ambiente estarían influenciados principalmente por la altitud y la cobertura de vegetación (Pirintsos et al., 2011). Si bien el menor contenido de estos pigmentos se encontró en el sitio P2, más cercano al proyecto minero (vale recordar que esta mina al momento del estudio todavía se encontraba en etapa de factibilidad con poca o nula labor), no podemos asociar estos menores contenidos a la influencia de la actividad minera. En P2, los menores

contenidos de pigmentos podrían estar relacionados a la cobertura de vegetación del sitio. En otras especies líquénicas se han observado ecotipos de sol y de sombra, los cuales difieren en sus contenidos de pigmentos y, por ende, en su capacidad fotosintética. El complejo fotosintético PSII o fotosistema II es altamente sensible al estrés lumínico y al aunar con el carácter poiquilohídrico de los líquenes, se deduce que estos organismos son altamente susceptibles a la variación lumínica ambiental (Heber et al., 2006; Jairus et al., 2009). Los líquenes han demostrado en muchos experimentos que pueden adaptar su metabolismo a las condiciones ambientales (Pintado et al., 2005). En CRV los valores de clorofila *a* y feofitina *a* significativamente mayores en el sitio V2, más cercano a mina, respecto de los sitios más alejados, podrían estar respondiendo a factores ambientales que dependen de la altitud, probablemente a un incremento de la actividad fotosintética bajo condiciones de alta incidencia de luz. Pirintsos et al. (2011) observaron una depresión general del rendimiento fotosintético a lo largo de un gradiente altitudinal en la zona árida del Mediterráneo. Los carotenoides mostraron un patrón similar al de los otros pigmentos, lo cual puede interpretarse como un mecanismo de protección para las clorofilas del alga en respuesta a las altas intensidades luminosas a las que son expuestos los talos (Pirintsos et al., 2011). Si bien tanto en CRV como en CRP asociamos las diferencias en el contenido de pigmentos a factores ambientales, en CRP no se observa la misma dependencia con la altitud. Como se mencionó anteriormente, los líquenes de CRP crecen en bosques serranos y pueden estar más o menos expuestos a la radiación solar dependiendo de la cantidad de vegetación que evite el paso de la luz. En CRV el clima es más seco y con mucho menos vegetación. Por lo tanto, la exposición a la radiación solar va a depender exclusivamente de la altitud.

En CRV los valores significativamente más altos de MDA, cuantificados en *P. hypoleucites* en el sitio V2 (sitio de muestreo más cercano a Bajo la Alumbarrera), estarían indicando cierto grado de estrés en este sitio. En varios trabajos se han señalado la presencia de daños significativos en las membranas celulares líquénicas, como resultado de la exposición a contaminantes atmosféricos. En relación a MDA, algunos autores señalaron un aumento en sus contenidos en relación a la incorporación de metales pesados y azufre (Carreras et al., 2005; González & Pignata, 1994; Mateos & González, 2016). Teniendo en cuenta los valores significativamente más altos de S medidos en los talos recolectados en el Sitio V2 y la asociación encontrada entre Br, S y

Zn, podríamos inferir que el mayor estrés oxidativo en *P. hypoleucites* recolectada en V2 estaría asociado a estos elementos.

Para *P. hypoleucites* sólo los índices Feof. *a*/Clor. *a* y Clor. *b/a* mostraron cocientes señal/ruido muy bajos en las dos cuencas analizadas con esta especie. Los bajos valores del cociente señal/ruido para los parámetros antes mencionados estarían indicando que los mismos se ven poco afectados por factores ambientales. Esto podría señalarlos como parámetros potencialmente marcadores del efecto de contaminantes atmosféricos en estudios con trasplante, ya que cualquier diferencia observada en algunos de ellos podría atribuirse al efecto de contaminantes sobre las especies estudiadas, más que a diferencias en otros factores ambientales (radiación, temperatura, por ejemplo) entre sitios de trasplante (Cañas, 2001). Dado que podría considerarse a CRP como prístina por las características de la misma, sería adecuado incluir MDA, PST y carotenoides al listado anterior, ya que estos parámetros presentaron cocientes señal/ruido muy bajos en esta cuenca. Por el contrario, aquellos parámetros caracterizados por cocientes señal/ruido altos (clorofila *a*, feofitina *a*, PST, MDA y S) serían los adecuados para estimar diferencias ambientales (contaminación entre ellas), cuando esta especie sea utilizada en trabajos de biomonitoreo/bioindicación mediante el empleo de líquenes in situ.

En CAC se trabajó con la especie *P. reticulatum*, que en el área de estudio crece sobre rocas y sobre musgos ubicados entre las mismas. A diferencia de las otras cuencas, los sitios presentan características ambientales muy similares y la altitud casi no varía entre sitios. En función del contenido elemental analizado puede decirse que hay diferentes fuentes que aportan a la composición elemental en los talos de *P. reticulatum* en CAC. Las altas contribuciones de Ba, Br, Ce, Co, Cr, Cs, Eu, Fe, Gd, Hf, La, Lu, Na, Rb, Sc, Se, Sm, Ta, Tb, Th, U y Yb, indicarían que el suelo y las rocas son la principal fuente de metales y oligoelementos en el aire (Cañas et al., 2017; Jasán et al., 2011; Palomeque, 2008). Otras fuentes, que aportan As, Ca, S, Sb y Zn, tendrían un origen en la actividad minera, debido a las labores que exponen a la superficie los minerales del yacimiento y a los procesos de movilización geoquímica. La mineralización es, principalmente, de Cu, Pb y Zn, con As, Sb, Au y Ag, como elementos accesorios (Márquez-Zavalía, 2002). En cuanto a la influencia de la mina en el contenido elemental en los diferentes sitios los resultados no manifestaron tendencias claras en cuanto a la cercanía a la mina y al DAM. Sin embargo, las mayores concentraciones de los elementos asociados al factor 1, observadas en los sitios C1 y C3, podrían estar asociadas a emisiones de

material particulado proveniente de boca de mina. A su vez los mayores valores de Zn en C1 y C2, y de As y S en C2, podrían estar indicando una influencia del DAM sobre el contenido elemental en líquenes.

En cuanto a la respuesta fisiológica, el menor contenido de clorofilas y feofitinas en C4, sitio más cercano a la mina, indicaría una disminución del rendimiento fotosintético de los talos recolectados en este sitio. Sin embargo, en este sitio se observó el mayor contenido de carotenoides en *P. reticulatum*, lo cual estaría indicando una respuesta protectora frente a contaminantes atmosféricos (Cañas, 2001) de esta especie. El mayor contenido de MDA observado en los talos de *P. reticulatum* en los sitios C2 y C3 respecto de C1 y C4, indica mayor estrés oxidativo en estos sitios debido a contaminantes atmosféricos. A su vez la diferente acumulación elemental que mostraron C2 y C3 discutida anteriormente, indicaría que no se puede asociar los mayores valores de MDA a una fuente en particular. Sin embargo, en C2 el contenido de MDA podría estar relacionado a los altos valores de As y S encontrados en los talos recolectados en este sitio. Esto fue observado previamente por algunos autores que señalaron un aumento en sus contenidos de MDA en relación a la incorporación de S (González & Pignata, 1994; Mateos & González, 2016). El sitio C4 que también tiene altos valores de As presentó los valores más bajos de MDA, junto con C1. Esto puede deberse al efecto protector de los carotenoides, que fueron los más altos en este sitio.

2.7. Conclusiones

En el presente capítulo se evaluó la capacidad de dos especies liquénicas *in situ* como biomonitoras de acumulación y de respuesta en relación con la actividad minera en tres áreas de altura de la provincia de Catamarca. A su vez, se identificaron los parámetros químicos y fisiológicos más adecuados como biomarcadores del efecto producido por contaminantes de este origen.

Los resultados mostraron en las tres cuencas estudiadas que los líquenes responden, a través del contenido multielemental, al material particulado en el aire y que la fuente principal de estos elementos es el suelo y roca característicos de la zona. Debido a las condiciones topográficas de CRP y CRV, estas zonas se ven afectadas por el polvo en suspensión proveniente del Bolsón del Pipanaco, verificándose mayor incidencia de elementos litogénicos. En CRV el contenido de algunos elementos en el sitio más cercano a la mina podría estar indicando la influencia de actividades mineras asociadas

a polución de origen vehicular, por la circulación de camiones y máquinas de gran porte dentro del establecimiento minero. La asociación encontrada del contenido de algunos elementos en *P. reticulatum* en CAC indicaría el origen de los mismos en el material particulado del aire producido por las voladuras y el DAM que exponen a la superficie elementos característicos del yacimiento de Capillitas.

En cuanto a la respuesta fisiológica de *P. hypoleucites* en CRP y CRV, se observa que la misma está condicionada por factores ambientales, como la altitud y la cobertura de vegetación, lo cual se evidencia en el mayor contenido de pigmentos fotosintéticos en los sitios más altos en CRV y en CRP, con valores bajos de pigmentos fotosintéticos en sitios con mayor cobertura de vegetación en CRP. En CRV se pudo determinar que esta especie sufre cierto grado de estrés debido al mayor contenido de MDA en el sitio más cercano a Bajo la Alumbreira.

En CAC la respuesta fisiológica de *P. reticulatum* podría atribuirse a la influencia de contaminantes de origen minero, lo cual se evidenció principalmente a partir de los menores contenidos de clorofila *a* y feofitina *a* y mayores contenido de carotenoides en el sitio más cercano a la mina.

Teniendo en cuenta, por tanto, que el material particulado del aire produjo un efecto mensurable en las poblaciones de *P. hypoleucites* y *P. reticulatum* en el área de estudio, se recomienda el empleo de estas especies para trabajos de biomonitorio de polución por polvo en suspensión, en áreas mineras. Continuar con el estudio de las variables químicas y fisiológicas en las poblaciones de estas especies en sitios dentro y fuera de la mina en un rango altitudinal acotado permitirán aclarar mejor el impacto de la mina sobre estas variables.

Considerando la ausencia de información sobre la respuesta química y fisiológica de líquenes *in situ* en la provincia, y particularmente en relación con la minería, estos estudios sientan las bases para realizar futuras investigaciones sobre el impacto de la actividad minera en la respuesta químico-fisiológica de líquenes en la región oeste de Catamarca. A su vez, en el área próxima a Agua Rica, estos estudios pueden tomarse como líneas de base que dan cuenta del estatus químico-fisiológico de líquenes previo a la etapa de explotación minera.

CAPÍTULO 3

Análisis químicos y fisiológicos en *P.*
hypoleucites trasplantada a Bajo la
Alumbrera y tres localidades cercanas

3.1. Introducción

Las técnicas de trasplante se han utilizado para controlar la contaminación atmosférica en zonas donde los líquenes son escasos o están ausentes (Adamo et al., 2003; Bergamaschi et al., 2007; Sorbo et al., 2008). Entre ellas, la técnica de trasplante en bolsas (Adamo et al., 2003) se ha utilizado habitualmente para monitorear la contaminación atmosférica urbana en Argentina (Bermúdez et al., 2009; Carreras & Pignata, 2002; Córdoba et al., 2012). El monitoreo de calidad de aire a partir de la medición del contenido elemental, utilizando la técnica de trasplante es una metodología ampliamente usada para evaluar calidad de aire en zonas urbanas y rurales donde los líquenes son escasos o están ausentes (Giordano et al., 2005; Jasan et al., 2011; Ocampo et al., 2009; Petrova et al., 2015; Tretiach et al., 2007). En Argentina se han realizado diversos estudios del contenido elemental empleando líquenes trasplantados. En las zonas serranas de la provincia de Córdoba uranio y plomo se asociaron a la minería (Pignata et al., 2007) y a la composición de las rocas graníticas características de los materiales parentales encontrados (Pignata et al., 2002). Recientemente, también se ha empleado la técnica de trasplante para realizar estudios de biomonitoreo magnético, para evaluaciones espaciales y temporales (Chaparro, 2020; Marié et al., 2020). En estudios de calidad de aire realizados por Mohaded Aybar et al. (2008, 2010, 2011) en el yacimiento minero Bajo la Alumbreira y su área de influencia, se detectó una elevada acumulación multielemental en el líquen *Parmotrema austrosinense* (Zahlbr.) Hale, empleado como biomonitor activo. Por otro lado, la evaluación sistemática de la calidad atmosférica a partir de la respuesta fisiológica de líquenes constituye también una metodología ampliamente desarrollada. Para evaluar el efecto de contaminantes atmosféricos sobre líquenes se emplean numerosos parámetros biomarcadores de efectos tóxicos y de estrés oxidativo por polución en líquenes (contenido de pigmentos fotosintéticos, malondialdehído y polifenoles solubles totales). El rol de estos parámetros en la bioindicación de calidad atmosférica empleando líquenes ya se han detallado en la sección 2.1. No obstante a los fines del biomonitoreo es importante conocer la amplitud de la respuesta, entendiéndose por esta la cantidad de parámetros que varían por efecto de contaminantes atmosféricos, lo cual da cuentas del grado de disrupción sufrido a nivel del metabolismo líquénico. Por ello es necesario indagar acerca de nuevos parámetros que puedan emplearse como biomarcadores en *P.*

hypoleucites. Los líquenes contienen gran cantidad de compuestos fenólicos, los cuales poseen distintas actividades biológicas altamente comprobadas. Sin embargo, pocas investigaciones se han referido a la capacidad antioxidante que poseen los mismos (Rankovic et al., 2010a, 2010b; Silva et al., 2010; Kosanić et al., 2011; Manojlovic et al., 2012); así como a los posibles roles (Valencia-Islas et al., 2007) y/o cambios en la concentración que puedan surgir como respuesta a contaminación (Cuny et al., 2002). Debido a que los mismos juegan un papel en la adaptación de líquenes a su entorno, así como en interacciones ecológicas, son candidatos adecuados para la detección de cambios perjudiciales en los ecosistemas causados por la contaminación (Jeziński et al., 1999; Caviglia et al., 2001). Atento a la naturaleza fenólica del ácido lecanórico (Jayaprakasha & Rao, 2000) y que es el metabolito secundario mayoritario en *P. hypoleucites* (Brodo et al., 2003) es un parámetro de suma importancia para evaluar la respuesta ante un estrés por contaminación atmosférica en esta especie. Córdoba et al. (2012) observaron una disminución en el contenido de ácido lecanórico en *P. austrosinense* trasplantada a sitios contaminados de San Fernando del Valle de Catamarca. A su vez la actividad antioxidante o de poder reductor de los extractos líquénicos puede deberse a la presencia de polifenoles que pueden actuar donando electrones y reaccionando con los radicales libres para convertirlos en productos más estables y eliminar las reacciones en cadena (Sasikumar et al., 2010). Se considera que la acción inhibitoria de radicales libres es uno de los diversos mecanismos antioxidantes (Bhoyar et al., 2011), siendo ampliamente utilizado como prueba preliminar, que proporciona información sobre la reactividad de compuestos puros o extractos puestos a prueba con un radical libre estable. La capacidad antioxidante equivalente a Trolox (TEAC) utilizando el radical ABTS^{•+} se mide a partir de la capacidad de los extractos líquénicos para inhibir este radical a un tiempo determinado de exposición, en relación con Trolox. Este parámetro se ha utilizado en líquenes, y particularmente como biomarcador de estrés oxidativo producido por contaminación atmosférica (Kumar et al., 2014; Weissman, et al., 2006). No obstante, no ha sido cuantificado aún en especies empleadas como bioindicadoras de la calidad de aire en áreas mineras. Otro parámetro muy importante y fácil de medir para estimar la actividad metabólica o la vitalidad de los líquenes es la capacidad de reducir el cloruro de 2,3,5-trifeniltetrazolio (TTC) a trifenílformazán (TPF). Dado que esta conversión de un compuesto incoloro soluble en agua a un producto rojo insoluble en agua es impulsada por sistemas de deshidrogenasas, la reducción de TTC se ha utilizado durante mucho tiempo para indicar el funcionamiento normal de las semillas y otros

tejidos vegetales a través de la disminución de la producción de formazán (Chang et al., 1999; de Ronde et al., 2001; Mugai et al., 2000; Ruf et al., 2003). Dado que la reducción de la TTC se lleva a cabo mediante deshidrogenasas respiratorias (Towill y Mazur, 1975), el grado de producción de formazán en líquenes es un reflejo de la actividad metabólica. Sin embargo, hasta ahora la reducción de la TTC para evaluar el debilitamiento de los líquenes existentes sometidos a estrés ambiental, no es común en la bibliografía. Es bien sabido que la contaminación debido a la exposición a SO₂ (Haffner et al., 2001), metales pesados (Takács et al., 1999), la hidratación y la temperatura (Palmqvist & Sundberg 2000) afectan a la respiración de los líquenes, pero los efectos no se han expresado en términos de reducción de TTC.

En el presente capítulo se evalúa cómo se modifican los patrones químicos y fisiológicos en líquenes trasplantados a Mina Alumbraera y localidades cercanas en relación a la actividad de la misma. Además con la incorporación de nuevos parámetros, tales como el contenido de ácido lecanórico, TEAC, la reducción de TTC y el contenido de elementos indicadores de mina, se espera que los resultados obtenidos, complementados con análisis de correlación con datos del contenido elemental en el material particulado sedimentable (MPS), permitan profundizar en el conocimiento de *P. hypoleucites* como bioindicadora de la calidad de aire en relación con la actividad minera para su eventual empleo en futuros estudios de calidad de aire a gran escala en la región. Además, se aplica un índice de polución (I.P.) propuesto por Gonzalez y Pignata (1994) en el que se relacionan diferentes parámetros de respuesta químico-fisiológica y el contenido de azufre como parámetro de acumulación. El I.P. ha sido muy útil para establecer niveles de calidad de aire en áreas remotas del oeste de Catamarca empleando *P. austrosinense* como bioindicador (Palomeque, 2008; Mohaded Aybar et al., 2010). Se espera, por tanto, que el mismo permita establecer comparativamente grados de respuesta de la especie estudiada en función de la diferente exposición a la actividad minera.

3.2. Hipótesis

Algunos procesos mineros, tales como generación de material particulado y emisión de gases de combustión por fuentes fijas y móviles provocan alteraciones a nivel químico y fisiológico en líquenes trasplantados a Bajo la Alumbreira y tres localidades cercanas. Estas perturbaciones incluyen bioacumulación de algunos metales, no metales y/o metaloides, estrés oxidativo, respuesta antioxidante y degradación de pigmentos fotosintéticos; las cuales pueden asociarse a las características del material particulado atmosférico generado en una mina a cielo abierto.

3.3. Objetivos

Los objetivos del presente capítulo fueron: a) Evaluar parámetros químicos y fisiológicos en talos de *P. hypoleucites* trasplantados a Bajo la Alumbreira y localidades cercanas, analizando la respuesta de este líquen en relación con la actividad minera; b) Determinar el grado de correlación entre el contenido elemental en líquenes y en el material particulado sedimentable (MPS) a los fines de seleccionar, a partir de los parámetros analizados aquellos biomarcadores e índices que mejor reflejen la composición del material particulado del aire, producto de las emisiones de origen minero.

3.4. Materiales y métodos

3.4.1. Ubicación de los sitios de muestreo

A través de un convenio firmado con la Secretaría de Estado de Minería de Catamarca se logró realizar estudios dentro de la concesión minera del emprendimiento a cielo abierto “Bajo la Alumbreira”. Los sitios de trasplante son los mismos sitios donde la empresa realiza sus monitoreos mensuales de aire mediante muestreadores de material particulado sedimentable-MPS, de manera de coincidir en espacio y tiempo ambas metodologías para la posterior comparación. En la Figura 3.1 se muestra una imagen

satelital con la ubicación de los sitios de monitoreo. Los mismos se ubicaron en 4 zonas: la mina “Bajo la Alumbraera” y las 3 poblaciones mas cercanas (Amanao, Los Nacimientos y Hualfín). Además se ubico un sitio testigo (sitio considerado prístino con respecto a la actividad minera).

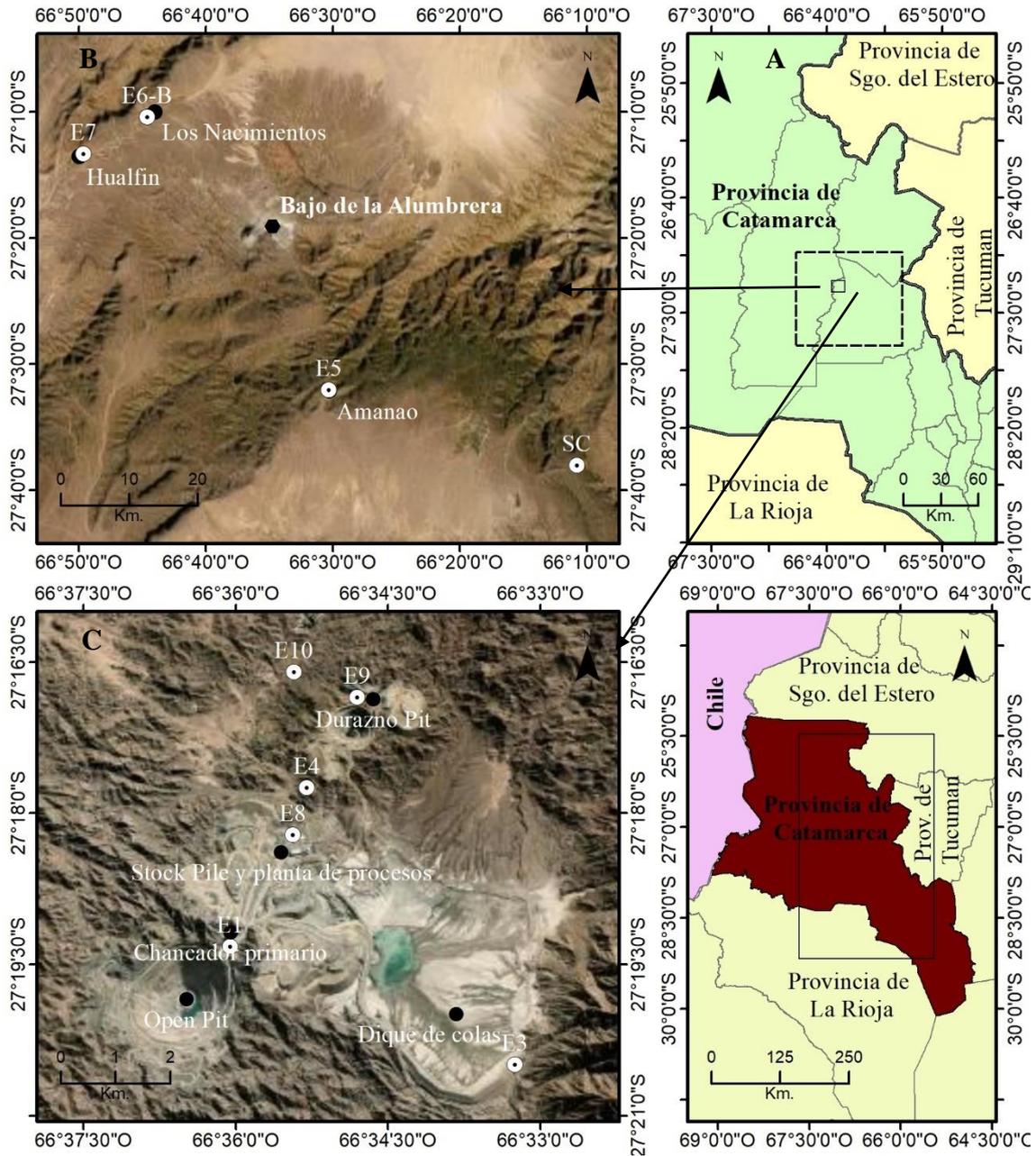


Figura 3.1. A- Mapa de la Provincia de Catamarca indicando la ubicación de la zona estudiada (rectángulo negro). B- Ubicación de los sitios de trasplante fuera de la mina “Bajo la Alumbraera” abarcando las poblaciones más cercanas (E5: Amanao; E6: Los Nacimientos; E7: Hualfín) y el sitio testigo (T: La Chilca). C- Ubicación de los sitios de trasplante dentro “Bajo la Alumbraera” indicando las fuentes de emisión de material particulado (Durazno Pit, Open Pit, Dique de colas, Chancador primario, Stock pile y planta de procesos).

3.4.2. Recolección y trasplante

En base a los estudios previos realizados *in situ* se seleccionó el líquen *Punctelia hypoleucites* para el trasplante aplicando el método descrito por Gonzalez & Pignata (1994). Se recolectaron talos liquénicos de *P. hypoleucites* un sitio considerado prístino (sitio testigo), tomándolos al azar en un número de 10 a 20 talos (generalmente de distintos tamaños) por forófito. Esto asegura, de alguna manera, la obtención de material liquénico representativo de todos los estados (etéreos, fisiológicos, etc.) presentes en el área de recolección.

Luego éste se distribuyó en 33 bolsas de tul (unidades experimentales), 5 gramos por bolsa, de las cuales 3 se separaron directamente para las determinaciones analíticas (muestra control). Las restantes, se trasplantaron a 10 sitios ($n = 3$ para cada sitio) con la ayuda de dispositivos diseñados para soportar las bolsas (Fig. 3.2) de manera que resistan las condiciones ambientales (fuertes vientos y precipitaciones). Seis sitios se ubicaron dentro de mina (E1, E3, E4, E8, E9, E10) y 4 sitios fuera de los límites de la empresa en tres localidades cercanas (E5 en Amanao, E6 en Los Nacimientos y E7 en Hualfín). Además, se trasplantaron líquenes al sitio testigo (mismo sitio donde se recolectaron los talos). Como se ha demostrado que, en ambientes áridos, comenzar un experimento de trasplante durante un período seco y caluroso puede causar una disminución en la vitalidad de los líquenes trasplantados (Freitas & Pacheco, 2004; Vieira et al., 2017) se trasplantó en el periodo otoñal del 15 de marzo al 15 de junio. Luego de tres meses de exposición, las muestras correspondientes a los 10 sitios fueron recuperadas. El periodo de trasplante fue de tres meses debido a que más tiempo puede causar disminución en la vitalidad de los talos (Loppi et al., 1998; Mikhailova, 2002). En el laboratorio, parte del material liquénico fue separado para la determinación del contenido de agua. Otra fracción se almacenó en recipientes de plástico a -15°C en completa oscuridad, para su empleo en las determinaciones químicas y fisiológicas.



Figura 3.2. A- Recolección de los talos de *P. hypoleucites* en el sitio Testigo. B- Limpieza de los talos en el laboratorio. C- Dispositivos diseñados para contener 3 pools de talos liquénicos. D-Trasplante de los líquenes a los sitios junto a los muestreadores de material particulado y estación meteorológica.

3.4.3. Análisis químico-fisiológicos

Las determinaciones químico-fisiológicas se realizaron en tres muestras independientes por cada sitio, extraídas de las unidades experimentales (bolsa liquénica). Al igual que en los análisis *in situ* se analizaron pigmentos fotosintéticos, malondialdehído (MDA), polifenoles solubles totales (PST), contenido de azufre y contenido multielemental. La correspondiente descripción metodológica puede consultarse en la sección 2.2.2. Así mismo se analizaron otros parámetros, a partir de técnicas que se describen a continuación.

3.4.3.1. Ácido lecanórico

El ácido lecanórico es un metabolito secundario mayoritario en *Punctelia hypoleucites* (Cantón et al., 2020). La concentración del mismo se analizó de acuerdo a la técnica propuesta por Cañas (2001). A partir de 50 mg de talos secos, se realizó una extracción con 10 ml de etanol al 96 % durante 3 h mediante agitación continua. Los extractos fueron filtrados y diluidos a fin de registrar su absorbancia a 270 nm con un espectrofotómetro UV-Visible marca Perkin Elmer. El coeficiente de extinción molar $\log \epsilon = 4,30$ (Culberson, 1969) La concentración se expresó en milimoles por gramo de peso seco (mmol/g PS).

3.4.3.2. Actividad antioxidante (TEAC)

La técnica de determinación de actividad antioxidante se realizó según Re et al. (1999). Se preparó la solución de stock un día previo a la medición pesando la cantidad suficiente para obtener una solución de ABTS 7 mM y persulfato de potasio 2,45 mM. Luego se incubó en oscuridad a temperatura ambiente durante 12 a 16 h. La solución de trabajo se preparó agregando agua bidestilada a la solución stock un momento antes de realizar las mediciones, hasta obtener una absorbancia de 0,70 (0,02 a 734 nm (aproximadamente 250 ml). Por último, se mezclaron 0,3 ml del extracto liquénico con 2,7 ml de la solución de trabajo de ABTS y se midió la absorbancia a $\lambda=734\text{nm}$ a los 6 minutos con un espectrofotómetro UV-Visible marca Perkin Elmer. La curva estándar se preparó a partir de soluciones patrones por triplicado de Trolox en el rango de 0 a 25 μM (0-2,5-5,0-10,0-15,0-25,0). Los resultados se expresaron en micromoles de Trolox equivalente (TE) por gramo de peso seco ($\mu\text{mol TE/g PS}$).

3.4.3.3. Reducción de TTC (RTTC)

La determinación de la actividad de deshidrogenasas, por el método de reducción de TTC, se realizó según Bačkor & Fahselt (2005). Se pesaron 30 mg de cada muestra en tubos Falcon de 15 ml y se añadieron 2 ml de TTC al 0,6% en buffer fosfato 0,05 M (pH 6,8) y Triton X-100 al 0,005%. Los tubos cerrados se incubaron en la oscuridad a temperatura ambiente durante 20 h para permitir la producción de TPF. Las muestras se enjuagaron en agua bidestilada hasta que dejaron de producir burbujas de Triton X-100. La extracción de TPF insoluble en agua se realizó según Paoli et al. (2015). Para ello se agregó 6 ml de etanol a cada tubo e incubó a 65 °C durante 1 h. Luego se agitó con un vórtex durante 2 min. Por último, se centrifugó a 620 rcf durante 15 min y se midió la

absorbancia a 492 nm (Lin et al., 2001) con un espectrofotómetro UV-Visible marca Perkin Elmer. Los resultados se expresaron en unidades de absorbancia (UA) por gramo de peso seco (UA/g PS).

3.4.3.4. Metales indicadores de mina

A las determinaciones realizadas mediante INAA, se agregaron las mediciones de algunos metales (Pb, Cu, Mo, Mn y Cd) que no estaban incluido en el análisis multielemental. Las concentraciones de estos metales no pueden determinarse por INAA, por lo cual se midieron por espectroscopia de emisión por acoplamiento de plasma inductivo (ICP-OES) con un espectrofotómetro Perkin Elmer Optima 8300. Para el análisis de metales pesados, 0,5 g de material líquénico fresco fue reducido a cenizas a 600 °C durante 4h. Estas se sometieron a digestión ácida con una mezcla de HCl 18 % v/v con HNO₃ concentrado (10:2 por vol.) a calor moderado. El residuo sólido fue posteriormente eliminado por filtración en caliente y la solución resultante fue diluida con agua tridestilada y desionizada hasta un volumen final de 25 ml. La precisión del análisis fue estimada mediante la desviación estándar relativa de cuatro réplicas, siendo del 5-10 % para los cinco elementos estudiados. Los resultados se expresaron en microgramos por gramo de peso seco (µg/g PS).

3.4.4. Índice de polución (IP)

Los valores de IP se calcularon según González & Pignata (1994) utilizando la siguiente ecuación:

$$IP = \left[\left(\frac{Feof.a}{Clor.a} + \frac{S}{S_c} \right) * \left(\frac{MDA}{MDA_c} \right) \right]$$

donde Feof. *a* es la concentración de feofitina *a*, Clor. *a* es la concentración de clorofila *a*, S es el contenido de azufre y MDA es la concentración de malondialdehído. Los parámetros con subíndice *c* representan la concentración media analizada en la muestra control o basal.

3.4.5. Material particulado atmosférico (MPA)

Como se describió en el área de estudio del biomonitoreo activo, la empresa minera realiza estudios de calidad de aire con métodos tradicionales que miden el material particulado en el aire: PM10 (material particulado menor a 10 μm), PTS (Material particulado total en suspensión) y MPS (material particulado sedimentable). Tanto en la fracción de MPS como en el PTS se miden el contenido de algunos parámetros indicadores de mina. Los datos de estos parámetros analizados en el periodo de trasplante de *P. hypoleucites* fueron aportados por el Ministerio de Minería de Catamarca a partir de un convenio realizado con el mismo en el marco de una cooperación interinstitucional. Los datos de material particulado atmosférico son informados al organismo por Minera Alumbraera trimestralmente. Para el PM10 y el TPS el periodo de muestreo fue de 24 hs. y se realizó un muestreo por mes durante el periodo de trasplante de los líquenes, contando solo con 3 datos para los 3 meses. Estas fracciones de material particulado en el aire se colectaron mediante muestreadores automáticos. Para el MPS el periodo de muestreo fue de 30 días, y se colectaron 3 datos mensuales de esta fracción de polvo para 3 meses de muestreo abarcando completamente el periodo de trasplante. De los datos de los tres tipos de material particulado que se miden periódicamente, se tomó el MPS para realizar los análisis comparativos, ya que la metodología empleada para el análisis de esta fracción de material particulado coincide en espacio y tiempo con el monitoreo de líquenes para la posterior comparación. Los mismos corresponden a mediciones de MPS durante el período de estudio. En el MPS se mide en la fracción soluble la concentración de sulfato- SO_4^{2-} y nitrato- NO_3^- y en la fracción insoluble el contenido de As, Pb, Fe, Cu, Mo, Mn, Sr, Zn y Cd. Además la empresa aportó datos de velocidad y dirección de los vientos tomados por un estación meteorológica ubicada dentro del complejo minero. A partir de los mismos se armó una rosa de vientos (Fig. 3.3). En la misma se muestra la frecuencia relativa de la velocidad y dirección del viento en el interior de mina Alumbraera en el periodo de muestreo Marzo-Junio-2018. Las direcciones de viento predominantes se observaron en el sector noroeste y sureste. Los vientos del Sureste y del noroeste fueron los más comunes, con una frecuencia de ocurrencia del 27,7 y el 24,3 %, respectivamente. Los vientos del suroeste y del noreste tuvieron la menor frecuencia de ocurrencia. A partir del patrón de viento observado, es evidente que la orografía afecta al flujo de aire. En las direcciones sureste y este se presentan mayor frecuencia de vientos fuertes.

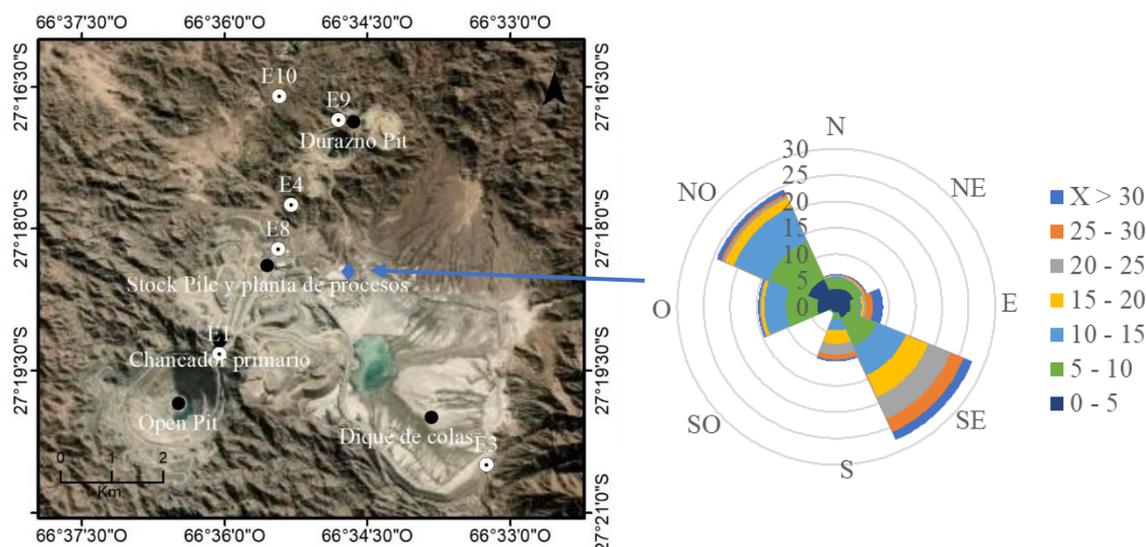


Figura 3.3. Ubicación de la estación meteorológica con datos de Frecuencia relativa y velocidad de vientos en Bajo la Alumbraera en el periodo Abril-Junio 2018. X: Velocidad del viento. Elaboración propia en baso a los datos aportados por minera Alumbraera.

3.4.6. Análisis de los datos

Los datos fisiológicos se analizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA). Cuando el ANOVA indicó efectos significativos ($p < 0,05$), se realizó una comparación de medias utilizando la prueba de la mínima diferencia significativa (LSD) de Fisher. Este análisis se realizó para evaluar diferencias entre: (a) la muestra control y las muestras trasplantados al sitio testigo (C vs. T); (b) entre los talos trasplantados en los diferentes sitios (Entre sitios); (c) entre los talos trasplantados al sitio testigo y al resto de los sitios (T vs. Otros); (d) entre los talos en las diferentes zonas (Bajo la Alumbraera, las localidades de Amanao, Hualfín y Los Nacimientos).

A partir de los datos del contenido elemental se realizó un análisis factorial preliminar para reducir la información inicial a través de una combinación lineal de variables, utilizando, como método de extracción, el análisis de Componentes Principales y Varimax con normalización de Kaiser como método de rotación, a fin de identificar asociaciones multivariadas.

Luego para cada sitio, se calculó la relación entre la concentración de cada elemento en los talos después de la exposición y la de la muestra control antes de la exposición (relación expuesto/control, relación EC) según Frati et al. (2005). Las concentraciones normales de oligoelementos muestran variaciones bastante grandes debido a la

influencia de muchos factores diferentes (Markert, 1992) incluso en líquenes recolectados en la misma zona remota. La acumulación de metales no sólo depende de la disponibilidad ambiental de elementos, sino también de las características del organismo (especie, edad, estado de salud, tipo de reproducción, etc.) y de otros parámetros como la temperatura, la disponibilidad de humedad y las características del sustrato (Baker, 1983). Por lo tanto, en Frati et al. (2005) asumen una desviación de 25% de EC igual a 1, la cual considera que la concentración de un elemento está en niveles normales en una muestra expuesta. Como regla general, esta desviación debería dar cuenta de las fluctuaciones naturales de las concentraciones de elementos traza en el biomonitor (Loppi et al., 2002b). Sobre la base de observaciones previas (Palomeque, 2008) y de las realizadas en este estudio, la desviación propuesta se considera razonable para *P. hypoleucites* en condiciones naturales, por lo que se ha elegido una escala interpretativa de 5 clases para la explicación de los ratios EC, siguiendo el criterio de Frati et al. (2005): (a) $0 \leq EC \leq 0,25$ (pérdida severa); (b) $0,25 < EC \leq 0,75$ (pérdida); (c) $0,75 < EC \leq 1,25$ (normal); (d) $1,25 < EC \leq 1,75$ (acumulación); (e) $1,75 < EC$ (acumulación severa).

Por último, se realizaron análisis de correlación para evaluar el grado de asociación de las variables fisiológicas con el contenido multielemental en el biomonitor. A su vez, de estas últimas, solo con las variables Cd, Cu, Fe, Mn, Mo, Pb, Sr y Zn (son las mismas que se miden en el MPS y consideradas indicadoras de mina) se realizaron análisis de correlación con las mismas variables cuantificadas en el MPS en los distintos sitios de monitoreo para evaluar el grado de ajuste entre el contenido elemental de los talos y la composición del MPS en cada sitio de monitoreo. Se utilizaron los software Infostat, su interfase con R (Di Rienzo et al., 2017a) y PASW Statistics 18 (SPSS Inc.) para la realización de todos los análisis.

3.5. Resultados

El contenido de pigmentos fotosintéticos (clorofilas *a* y *b*, feofitinas *a* y *b* y carotenoides), los índices Clor *b/a*, Feof. *a/Clor. a*, la concentración de polifenoles solubles totales (PST) y ácido lecanórico, la capacidad antioxidante equivalente a Trolox (TEAC), la reducción de trifeniltetrazolium (RTTC), el contenido de malondialdehído (MDA) y el índice de polución (IP) analizados en *P. hypoleucites*, en

la muestra control y en las muestras trasplantadas a los distintos sitios dentro y fuera de mina, se muestra en la Tabla 3.1. El contenido de clorofilas y feofitinas, no mostraron diferencias significativas entre zonas. Se observó un efecto trasplante en clorofila *a* debido a un contenido significativamente menor en el sitio testigo respecto de la muestra control. A su vez también se encontró una concentración significativamente menor en el sitio testigo respecto de los sitios de monitoreo (T vs. Otros).

El contenido de carotenoides y los índices *Clor. b/a* y *Feof. a/Clor. a* (índice de feofitinización) no mostraron efecto trasplante (C vs. T). Para el contenido de carotenoides se observaron valores significativamente más bajos en el sitio testigo respecto de los otros sitios de monitoreo. A su vez, también se encontraron valores significativamente más bajos de carotenoides en Bajo la Alumbreira respecto de las localidades fuera de mina (Los Nacimientos y Hualfín) El índice *Clor. b/a* presentó valores significativamente más bajos en el sitio testigo respecto de los otros sitios trasplantados. A su vez también se observaron valores significativamente más altos de este parámetro en los líquenes trasplantados a Bajo la Alumbreira respecto de Hualfín. El índice *Feof. a/Clor. a* no mostró diferencias significativas para ninguna de las fuentes de variación planteadas.

El contenido de polifenoles solubles totales, el contenido de ácido lecanórico y la actividad antioxidante equivalente a Trolox no mostraron diferencias significativas para ninguna de las fuentes de variación planteadas. PST y ácido lecanórico mostraron contenido significativamente menores en los sitios E1 y E3 (dentro de mina) respecto de los otros sitios. La reducción de TTC mostró valores significativamente mayores en la muestra control respecto del sitio testigo (efecto trasplante). A su vez este parámetro fue significativamente mayor en la mina respecto de Amanao y los Nacimientos y no se observaron diferencias significativas entre el sitio testigo y los otros sitiostrasplantados. Cabe resaltar que no se contaron con datos de la reducción de TTC en los sitios E7 (Hualfín) y E8 (dentro de mina), por ello no se informan. MDA no mostró efecto trasplante ni diferencias significativas entre zonas. Sin embargo, se observaron valores significativamente más bajos en el sitio testigo respecto de los otros sitios de trasplante. Los sitios E8 (dentro de mina) y E7 (Hualfín) mostraron los mayores valores de MDA. El IP no mostró efecto trasplante ni diferencias significativas entre zonas. Sin embargo, se observaron valores significativamente más bajos en el sitio testigo respecto de los otros sitios de trasplante. Los sitios E1, E8 y E10 (dentro de mina) mostraron los mayores valores del IP.

Tabla 3.1. Media (D.E.) por sitio de parámetros químico-fisiológicos medidos en *P. hypoleucites* trasplantada a los sitios de monitoreo y al sitio testigo (T) y en la muestra control (C). Pigmentos fotosintéticos (mg/g PS), Clor *b/a*, Feof. *a*/Clor. *a*, PST (mmol PE/g PS), ácido lecanórico (mmol/g PS), TEAC (μ mol TE/g PS), RTTC (UA/g PS), MDA (μ mol/g PS) y IP. Incluye los resultados del ANOVA. *: diferencias significativas a un $p < 0,05$. N.S.: diferencias no significativas. B: Bajo la Alumbarrera. A: Amanao. N: Los Nacimientos. H: Hualfín. n=3.

(A) Concentración					
Zonas	Sitios	Clorofila <i>a</i>	Clorofila <i>b</i>	Feofitina <i>a</i>	Feofitina <i>b</i>
	C	0,57 (0,09)	0,20 (0,05)	0,51 (0,09)	0,15 (0,04)
	T	0,46 (0,05)	0,19 (0,02)	0,43 (0,04)	0,13 (0,02)
B	E1	0,52 (0,07)	0,20 (0,04)	0,47 (0,06)	0,16 (0,03)
	E3	0,56 (0,10)	0,20 (0,06)	0,50 (0,09)	0,17 (0,05)
	E4	0,53 (0,10)	0,19 (0,04)	0,47 (0,09)	0,16 (0,03)
	E8	0,60 (0,08)	0,21 (0,05)	0,54 (0,08)	0,18 (0,03)
	E9	0,68 (0,08)	0,23 (0,03)	0,61 (0,07)	0,20 (0,02)
	E10	0,52 (0,06)	0,19 (0,03)	0,46 (0,06)	0,16 (0,02)
A	E5	0,65 (0,12)	0,22 (0,07)	0,59 (0,11)	0,21 (0,06)
N	E6	0,68 (0,06)	0,23 (0,03)	0,61 (0,05)	0,21 (0,02)
H	E7	0,55 (0,06)	0,17 (0,04)	0,50 (0,06)	0,16 (0,02)
(B) Análisis de la Varianza					
C vs. T		*	N.S.	N.S.	N.S.
T vs. Otros		*	N.S.	*	*
Entre Zonas		N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
(C) Comparación de medias: LSD-Fisher test					
C vs. T		C>T			
T vs. Otros		Otros>T		Otros>T	Otros>T

Tabla 3.1. (Continuación)

(A) Concentración				
Zonas	Sitios	Carotenoides	Clor. <i>b/a</i>	Feof. <i>a/Clor. a</i>
	C	0,044 (0,019)	0,35 (0,06)	0,90 (0,03)
	T	0,043 (0,009)	0,41 (0,04)	0,91 (0,02)
D	E1	0,053 (0,016) ^e	0,39 (0,09)	0,92 (0,03)
	E3	0,071 (0,020) ^{cd}	0,36 (0,07)	0,89 (0,01)
	E4	0,071 (0,012) ^{cd}	0,37 (0,04)	0,89 (0,03)
	E8	0,069 (0,007) ^{cd}	0,34 (0,05)	0,90 (0,02)
	E9	0,076 (0,014) ^{abc}	0,34 (0,04)	0,89 (0,02)
	E10	0,064 (0,006) ^{de}	0,37 (0,03)	0,89 (0,01)
A	E5	0,074 (0,017) ^{bcd}	0,34 (0,07)	0,90 (0,02)
N	E6	0,086 (0,012) ^a	0,33 (0,04)	0,89 (0,01)
H	E7	0,084 (0,012) ^{ab}	0,31 (0,05)	0,90 (0,01)
(B) Análisis de la varianza				
C vs. T		N.S.	N.S.	N.S.
T vs. Otros		*	*	N.S.
Entre Zonas		*	*	N.S.
(C) Comparación de medias: LSD-Fisher test				
T vs. Otros		Sitios>T	T>Sitios	
Entre Zonas		N,H>B	B>H	

Tabla 3.1. (Continuación)

(A) Concentración				
Zonas	Sitios	PST	Ácido lecanórico	TEAC
	C	0,092 (0,014)	0,095 (0,017)	0,88 (0,16)
	T	0,095 (0,011)	0,100 (0,014)	0,93 (0,11)
B	E1	0,093 (0,009) ^{bc}	0,085 (0,035) ^b	0,89 (0,09)
	E3	0,079 (0,011) ^c	0,085 (0,012) ^b	0,97 (0,19)
	E4	0,100 (0,011) ^{ab}	0,103 (0,015) ^a	0,97 (0,07)
	E8	0,109 (0,010) ^{ab}	0,103 (0,012) ^a	0,84 (0,18)
	E9	0,106 (0,009) ^{ab}	0,103 (0,012) ^a	0,83 (0,18)
	E10	0,093 (0,015) ^{bc}	0,107 (0,005) ^a	0,85 (0,13)
A	E5	0,116 (0,017) ^a	0,103 (0,015) ^a	0,92 (0,25)
N	E6	0,104 (0,022) ^{ab}	0,107 (0,013) ^a	0,86 (0,04)
H	E7	0,103 (0,016) ^{ab}	0,111 (0,009) ^a	0,74 (0,11)
(B) Análisis de la Varianza				
C vs. T		N.S.	N.S.	N.S.
T vs. Otros		N.S.	N.S.	N.S.
Entre Zonas		N.S.	N.S.	N.S.

Tabla 3.1. (Continuación)

(A) Concentración				
Zonas	Sitios	RTTC	MDA	IP
	C	10,7 (0,7)	0,094 (0,007)	1,90 (0,13)
	T	7,5 (0,8)	0,103 (0,003)	1,93 (0,04)
B	E1	7,7 (0,7) ^{bc}	0,130 (0,002) ^{abc}	2,64 (0,17) ^a
	E3	8,5 (0,4) ^{ab}	0,111 (0,006) ^e	2,07 (0,10) ^{cd}
	E4	7,7 (0,7) ^{bc}	0,124 (0,008) ^{bcd}	2,29 (0,17) ^{bc}
	E8	-	0,140 (0,006) ^a	2,75 (0,22) ^a
	E9	8,3 (0,8) ^{ab}	0,113 (0,004) ^{de}	2,09 (0,04) ^{cd}
	E10	9,1 (0,7) ^a	0,130 (0,010) ^{abc}	2,48 (0,26) ^{ab}
A	E5	7,0 (0,4) ^c	0,118 (0,012) ^{cde}	1,98 (0,17) ^d
N	E6	7,6 (1,0) ^{bc}	0,132 (0,007) ^{ab}	2,32 (0,16) ^{bc}
H	E7	-	0,136 (0,005) ^{ab}	2,34 (0,14) ^{bc}
(B) Análisis de la Varianza				
C vs. T		*	N.S.	N.S.
T vs. Otros		N.S.	*	*
Entre Zonas		*	N.S.	N.S.
(C) Comparación de medias: LSD-Fisher test				
C vs T		C>T		
T vs Otros		Sitios>T		Sitios>T
Entre Zonas		B>A, N	B>N>A	B, N, H>A

La Tabla 3.2 muestra la media aritmética, la desviación estándar (DE), el mínimo y el máximo y el coeficiente de variación ($CV = SD/media$), para cada elemento determinado en *P. hypoleucites* trasplantada a la zona de estudio. Cabe resaltar que la mayoría de los elementos presentaron concentraciones levemente más altas en los talos trasplantados a los sitios de monitoreo respecto de la muestra control (sin trasplantar). Solo Pb (un poco menos del doble) y Cu y Mo (más del doble) mostraron concentraciones muy diferentes de las muestras control. Se obtuvieron altos valores de CV para los elementos Cd, Cr y Pb y más elevados aún para Cu y Mo.

Tabla 3.2. Media (D.E.) del contenido elemental en $\mu\text{g/g}$ PS analizada en *P. hypoleucites* trasplantada a los sitios del área de estudio. Incluye el rango (mínimo-máximo), el coeficiente de variación (CV) y la Media (D.E.) de la muestra control.

	<i>Media (D.E.)</i>	<i>Rango (Mín – Máx)</i>	<i>CV</i>	<i>Control</i>
As	4,21 (0,63)	(3,11 – 5,70)	0,15	4,08 (0,17)
Br	6,5 (1,1)	(4,8 – 8,5)	0,17	5,5 (0,2)
Ca	53458 (7807)	(42100 – 72700)	0,15	44767 (247)
Ce	16,2 (2,2)	(12,0 – 21,5)	0,14	14,5 (1,6)
Cd	0,38 (0,14)	(0,22 – 0,88)	0,36	0,37 (0,16)
Co	2,01 (0,29)	(1,53 – 2,58)	0,14	1,63 (0,11)
Cr	44,9 (19,9)	(11,0 – 94,3)	0,44	35,5 (2,5)
Cs	2,13 (0,32)	(1,46 – 2,85)	0,15	1,65 (0,18)
Cu	19,1 (19,0)	(6,4 – 104,3)	0,99	8,5 (2,6)
Eu	0,24 (0,04)	(0,18 – 0,34)	0,18	0,19 (0,02)
Fe	5591 (878)	(4161 – 7920)	0,16	4606 (466)
Hf	0,90 (0,16)	(0,62 – 1,35)	0,18	0,76 (0,14)
La	7,8 (1,2)	(5,4 – 10,3)	0,15	6,4 (1,0)
Lu	0,09 (0,02)	(0,07 – 0,15)	0,17	0,08 (0,01)
Mn	79,6 (12,8)	(51,7 – 111,9)	0,16	57,4 (8,6)
Mo	2,1 (2,0)	(0,7 – 8,7)	0,96	0,8 (0,2)
Na	2133 (448)	(1520 – 3250)	0,21	1747 (225)
Pb	4,4 (1,7)	(2,2 – 8,3)	0,38	2,9 (1,2)
Rb	21,8 (4,2)	(15,5 – 36,3)	0,19	18,4 (2,2)
S	1691 (219)	(1283 – 2061)	0,13	1979 (34)
Sb	0,22 (0,04)	(0,16 – 0,31)	0,20	0,18 (0,02)
Sc	1,96 (0,29)	(1,44 – 2,74)	0,15	1,63 (0,17)
Se	0,65 (0,11)	(0,49 – 1,00)	0,16	0,55 (0,01)
Sm	1,60 (0,37)	(1,11 – 2,67)	0,23	1,24 (0,21)
Sr	103,6 (18,4)	(73,0 – 150,0)	0,18	90,3 (8,5)
Ta	0,24 (0,04)	(0,18 – 0,32)	0,16	0,21 (0,04)
Tb	0,19 (0,04)	(0,14 – 0,27)	0,19	0,18 (0,02)
Th	2,54 (0,41)	(1,80 – 3,64)	0,16	2,14 (0,31)
U	0,97 (0,23)	(0,57 – 1,56)	0,24	0,89 (0,11)
Yb	0,55 (0,09)	(0,40 – 0,86)	0,17	0,45 (0,05)
Zn	43,2 (5,3)	(36,2 – 55,3)	0,12	39,4 (2,2)

Tabla 3.3. Resultados del Análisis factorial en *P. hypoleucites* trasplantada a los sitios de monitoreo. n=33. Se consideran elevados los autovalores $\geq 0,7$ resaltados en negrita.

	Comunalidades	Componentes					
		1	2	3	4	5	6
As	0,850	0,841	0,091	0,078	-0,257	-0,229	-0,096
Br	0,793	-0,079	0,069	-0,322	0,279	0,745	0,212
Ca	0,887	-0,009	0,200	-0,017	0,277	0,166	0,861
Cd	0,888	0,243	0,176	0,854	0,161	-0,185	0,088
Ce	0,932	0,919	0,108	0,233	0,114	-0,089	0,019
Co	0,970	0,943	0,271	0,038	0,013	0,063	-0,031
Cr	0,929	0,819	0,383	-0,128	-0,057	-0,010	-0,303
Cs	0,922	0,924	0,170	-0,034	-0,063	0,079	0,170
Cu	0,851	0,244	0,870	0,124	-0,138	0,022	0,006
Eu	0,956	0,852	0,384	0,069	0,279	0,021	0,052
Fe	0,983	0,937	0,298	0,008	0,021	0,083	-0,092
Hf	0,931	0,832	0,398	-0,161	0,202	0,081	-0,081
La	0,971	0,911	0,188	0,287	0,108	0,053	0,091
Lu	0,950	0,908	0,036	0,293	0,099	0,018	0,171
Mn	0,815	0,287	0,628	0,172	0,527	0,016	0,174
Mo	0,884	0,222	0,858	0,196	-0,210	0,119	0,043
Na	0,891	0,461	0,777	0,041	-0,115	0,244	0,461
Pb	0,878	-0,048	-0,117	0,007	0,905	0,138	0,154
Rb	0,895	0,854	0,253	0,252	-0,196	0,018	0,111
S	0,899	-0,083	0,351	0,637	-0,503	-0,035	-0,331
Sb	0,912	0,570	0,706	-0,136	-0,146	0,220	0,570
Sc	0,988	0,963	0,221	0,026	0,050	0,081	-0,041
Se	0,880	0,871	0,007	-0,166	-0,096	-0,226	0,184
Sm	0,977	0,892	-0,063	0,275	-0,028	-0,182	0,260
Sr	0,667	0,176	0,601	-0,377	0,229	-0,074	0,272
Ta	0,892	0,933	0,064	-0,024	-0,056	-0,013	0,119
Tb	0,917	0,534	-0,481	0,175	-0,211	-0,376	0,429
Th	0,975	0,984	0,032	0,055	0,042	0,033	-0,026
U	0,969	0,593	-0,422	0,474	-0,301	-0,272	0,222
Yb	0,840	0,791	0,053	0,414	0,067	0,169	0,084
Zn	0,755	0,723	0,229	0,141	-0,279	0,278	0,075
Varianza (%)		50,73	14,02	7,80	6,85	5,43	5,11

En la Tabla A-3.1, de la sección Anexo, se muestran los valores del contenido multielemental analizado *P. hypoleucites* en la muestra control y en las muestras trasplantadas en los sitios de Bajo la Alumbreira y en los sitios fuera (sitio testigo y las localidades Amanao, Los Nacimientos y Hualfín) . A partir de estos datos se realizó el análisis factorial (Tabla 3.3). De los resultados de este análisis surgieron un total de cinco factores que representaron aproximadamente el 90% de la varianza total. El factor 1 tiene altas contribuciones de As, Ce, Co, Cr, Cs, Eu, Fe, Hf, La, Lu, Rb, Sc, Se, Ta, Th e Yb. El factor 2 tiene altas contribuciones de Cu y Mo y en menor medida de Mn, Na, Sb y Sr. En el factor 3 se asocian Cd y S. El factor 4 tiene alta contribución de Pb. El factor 5 tiene contribución principal de Br. El factor 6 tiene altas contribuciones de Ca.

En la Tabla 3.4 se muestran los valores de la relación sitios expuestos/control (EC) calculados para As, Br, Ca, Cd, Ce, Co, Cr, Cs, Cu, Eu, Fe, Hf, La, Lu, Mn, Mo, Na, Pb, Rb, S, Sb, Sc, Se, Sm, Sr, Ta, Tb, Th, Yb, U y Zn analizados en talos de *P. hypoleucites*. Teniendo en cuenta la escala para las interpretaciones de las relaciones EC se observa que As mostró valores normales en todos los sitios. En el sitio testigo (T) Br, Ca, Mo, Na, S, Sb y Zn presentaron valores normales y el resto de los elementos acumulación. Dentro de mina, *Punctelia hypoleucites* presentó acumulación de la mayoría de los elementos en al menos 1 sitio, a excepción de As, Br y S que presentaron valores normales. De estos, Cu, Mo y Mn se acumularon en los 6 sitios dentro de mina (acumulación severa de Mo en 5 sitios, de Cu en 4 sitios y de Mn en 1 solo sitio):Co, Cr, Cs, Eu, Fe, La, Rb, e Yt se acumularon en los talos trasplantados a 5 sitios dentro de mina, de los cuales solo el Cr presento acumulación severa en 1 sitio; Sc se acumuló en 4 sitios dentro del complejo minero; Lu, Sb, Se, Sm, Sr, Na y Pb se acumularon en 3 sitios dentro de mina, de los cuales Sm presentó acumulación severa en 1 sitio. Cabe destacar que no se contaron con datos de concentración de Sb y Na en E9 y E10 (sitios ubicados dentro de mina; Ca, Hf, U, y Zn solo presentaron acumulación en 2 sitios dentro mina y Cd y Tb se acumularon en 1 solo sitio dentro mina.

Fuera de mina, *P. hypoleucites* presentó acumulación solo en 10 de los 31 elementos analizados en al menos 1 sitio. De estos, Mn y Pb se acumularon en los tres sitios fuera de mina. La acumulación de Pb fue severa en los 3 sitios; Br se acumuló en 2 de los 3 sitios fuera de mina (E6 y E7); Ca, Cr y Cs presentaron acumulación en E5; Cr y Sb en E6 y Cu en E7; Cd y S mostraron pérdida en los sitios E5 y E7 y U en E7.

Se destacan, con las mayores tasas de acumulación del contenido multielemental, los sitios dentro de mina E1(Σ sitios: 45,5) y E8 (55,6). Los elementos que mayor tasa de acumulación presentaron fueron el Mo (Σ el.: 27,88) y el Cu (Σ el.: 24,91).

Tabla 3.4. Relación sitios expuestos/control (EC) para el contenido de As, Br, Ca, Cd, Ce, Co, Cr, Cs, Cu, Eu, Fe, Hf, La, Lu, Mn, Mo, Na, Pb, Rb, S Sb Sc, Se, Sm, Sr, Ta, Tb, Th, Yb, U y Zn analizado en talos de *P. hypoleucites* trasplantados a los 9 sitios del área de estudio y al sitio testigo. D: Sitios dentro de mina, F: Sitios fuera de mina. n=3. Valores resaltados en gris claro: acumulación; en gris oscuro: acumulación severa; subrayados: pérdida. Σ el.: Sumatoria de los EC de todos los sitios para cada elemento. Σ sitios: Sumatoria de los EC de todos los elementos para cada sitio.

Sitios	Zona	As	Br	Ca	Cd	Ce	Co	Cr	Cs	Cu	Eu	Fe
C		1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
T		1,15	0,96	1,11	1,65	1,27	1,36	1,52	1,35	1,02	1,41	1,34
E1		0,95	1,18	1,23	1,52	1,08	1,26	1,25	1,30	4,24	1,30	1,25
E3		1,04	1,17	1,00	0,93	1,10	1,28	1,38	1,31	1,32	1,27	1,28
E4	D	0,85	1,22	1,11	0,92	0,90	1,03	0,48	1,12	1,61	1,04	0,99
E8		1,19	1,18	1,20	1,13	1,30	1,46	1,85	1,49	7,73	1,56	1,47
E9		1,20	-	1,35	0,99	1,23	1,33	1,54	1,47	2,46	1,37	1,33
E10		1,20	-	1,49	0,87	1,20	1,33	1,54	1,48	1,95	1,33	1,26
E5		0,94	1,05	1,26	0,72	1,07	1,16	0,99	1,31	1,10	1,20	1,14
E6	F	0,93	1,34	1,20	0,83	1,07	1,18	1,31	1,24	1,22	1,25	1,18
E7		0,90	1,46	1,19	0,74	1,01	1,13	1,05	1,13	1,25	1,23	1,13
Σ el.		11,34	-	13,14	11,31	12,24	13,53	13,92	14,19	24,91	13,97	13,35

Tabla 3.4. (Continuación).

Sitios	Zona	Hf	La	Lu	Mn	Mo	Na	Pb	Rb	S	Sb
C		1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
T		1,29	1,40	1,31	1,34	1,05	1,12	1,72	1,29	0,84	1,11
E1		1,14	1,28	1,16	1,40	5,86	1,64	1,57	1,28	0,99	1,47
E3		1,13	1,27	1,15	1,30	1,66	1,28	1,38	1,28	0,87	1,35
E4	D	0,97	1,05	1,02	1,32	2,48	1,17	1,43	0,92	0,84	1,19
E8		1,51	1,42	1,30	1,78	8,40	1,62	1,23	1,33	0,95	1,64
E9		1,32	1,34	1,49	1,54	2,35	-	1,15	1,45	0,85	-
E10		1,18	1,30	1,29	1,53	1,85	-	0,90	1,33	0,90	-
E5		1,11	1,17	1,14	1,26	1,20	1,01	1,97	1,07	0,68	1,01
E6	F	1,24	1,17	1,16	1,45	1,00	1,23	2,05	1,09	0,76	1,31
E7		1,19	1,06	0,99	1,32	1,04	1,05	1,99	0,96	0,72	1,10
Σ el.		13,09	13,45	13,01	15,25	27,88	-	16,39	13,00	9,40	-

Tabla 3.4. (Continuación).

Sitios	Zona	Sc	Se	Sm	Sr	Ta	Tb	Th	Yb	U	Zn	Σsitios
C		1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	31,0
T		1,34	1,27	1,46	1,31	1,29	1,31	1,36	1,35	1,42	1,09	39,8
E1		1,22	1,04	1,20	1,10	1,11	0,93	1,14	1,27	1,05	1,07	45,5
E3		1,25	1,10	1,23	1,10	1,16	1,04	1,21	1,31	1,15	1,03	37,3
E4	D	1,00	1,05	1,06	0,93	1,01	1,01	0,97	1,00	0,95	1,05	33,7
E8		1,42	1,30	1,47	1,30	1,34	1,15	1,38	1,36	0,99	1,18	55,6
E9		1,33	1,47	1,77	1,36	1,33	1,24	1,35	1,46	1,32	1,27	39,7
E10		1,27	1,34	1,68	1,46	1,38	1,29	1,28	1,33	1,32	1,34	37,6
E5		1,14	1,18	1,25	1,07	1,19	1,24	1,14	1,09	1,10	0,98	34,9
E6	F	1,18	1,11	1,12	0,97	1,14	0,98	1,17	1,17	0,90	1,05	36,0
E7		1,12	0,98	0,99	1,03	1,02	0,82	1,04	1,00	0,68	1,00	33,3
Σ el.		13,27	12,84	14,23	12,62	12,97	12,02	13,03	13,35	11,88	12,06	

Tabla 3.5. Resultados del análisis de correlación (coeficientes de Pearson) entre los parámetros fisiológicos y el contenido elemental analizado en *P. hypoleucites* en los 9 sitios de monitoreo, el sitio testigo y la muestra control. Se resaltan en negrita las correlaciones significativas a un $p < 0,05$. $n = 33$.

	Clor. <i>a</i>	Clor. <i>b</i>	Feof. <i>a</i>	Feof. <i>b</i>	Carot.	Clor. <i>b/a</i>	Feof <i>a/Clor. a</i>
As	0,03	0,13	0,02	-0,03	-0,21	0,17	-0,13
Br	0,35	0,18	0,33	0,34	0,58	-0,30	-0,17
Ca	0,21	0,21	0,20	0,27	0,12	-0,03	-0,13
Cd	-0,41	-0,15	-0,39	-0,33	-0,66	0,47	0,29
Ce	-0,02	0,10	-0,03	-0,04	-0,19	0,20	-0,05
Co	-0,03	0,05	-0,05	-0,02	-0,04	0,14	-0,10
Cr	0,07	0,11	0,06	0,03	-0,05	0,06	-0,06
Cs	0,07	0,15	0,05	0,10	0,07	0,11	-0,20
Cu	-0,02	-0,15	-0,02	-0,04	-0,01	-0,21	-0,01
Eu	0,03	0,05	0,02	0,04	0,01	0,05	-0,06
Fe	0,03	0,12	0,02	0,03	-0,03	0,14	-0,10
Hf	0,14	0,14	0,12	0,09	0,08	-0,02	-0,16
La	-0,04	0,12	-0,05	0,00	-0,18	0,27	-0,06
Lu	0,17	0,27	0,14	0,14	-0,08	0,17	-0,22
Mn	0,00	-0,06	-0,01	0,03	0,19	-0,08	-0,10
Mo	-0,05	-0,09	-0,04	-0,07	-0,05	-0,06	0,11
Na	-0,11	0,03	-0,10	-0,04	-0,07	0,18	0,03
Pb	0,14	0,08	0,16	0,11	0,27	-0,11	0,24
Rb	0,07	0,23	0,05	0,07	-0,15	0,26	-0,13
S	-0,45	-0,29	-0,45	-0,44	-0,63	0,29	0,07
Sb	-0,01	0,06	-0,02	0,02	0,08	0,07	-0,10
Sc	0,03	0,12	0,01	0,03	-0,04	0,15	-0,12
Se	0,19	0,26	0,17	0,14	0,01	0,11	-0,22
Sm	0,07	0,18	0,04	0,07	-0,11	0,19	-0,22
Sr	0,03	0,18	0,01	0,02	-0,21	0,23	-0,13
Ta	0,01	0,13	-0,02	0,05	-0,07	0,18	-0,26
Tb	0,01	0,16	-0,01	0,04	-0,21	0,26	-0,12
Th	0,04	0,15	0,02	0,02	-0,07	0,18	-0,16
U	-0,08	0,15	-0,10	-0,04	-0,39	0,40	-0,16
Yb	0,09	0,23	0,06	0,12	-0,13	0,23	-0,21
Zn	-0,04	0,04	-0,07	-0,06	-0,07	0,14	-0,25

Tabla 3.5. (Continuación)

	Ac. Lec.	PST	MDA	TEAC	RTTC
As	0,01	-0,06	-0,11	0,20	0,30
Br	0,21	0,12	0,55	-0,03	-0,07
Ca	0,33	0,36	0,32	0,05	-0,12
Cd	-0,23	-0,18	-0,20	0,11	-0,05
Ce	-0,06	-0,03	0,03	0,19	0,00
Co	-0,07	-0,09	0,20	0,15	-0,15
Cr	0,09	-0,17	0,11	-0,02	0,03
Cs	-0,01	0,02	0,25	0,18	-0,16
Cu	-0,04	0,17	0,47	-0,06	-0,17
Eu	0,04	0,03	0,29	0,11	-0,24
Fe	-0,05	-0,08	0,17	0,16	-0,12
Hf	0,11	0,09	0,23	0,03	-0,14
La	-0,13	-0,10	0,08	0,25	-0,19
Lu	-0,03	0,10	0,01	0,26	-0,09
Mn	0,14	0,24	0,57	-0,15	-0,36
Mo	-0,24	0,13	0,47	0,01	-0,17
Na	-0,31	-0,25	0,37	0,04	-0,21
Pb	0,16	0,15	0,07	-0,09	-0,59
Rb	-0,18	-0,10	0,01	0,25	0,03
S	-0,43	-0,41	-0,14	0,06	0,50
Sb	-0,22	-0,28	0,41	0,07	-0,16
Sc	-0,04	-0,06	0,15	0,18	-0,11
Se	0,19	0,15	0,02	0,10	-0,04
Sm	0,01	0,07	0,02	0,22	0,02
Sr	0,04	0,03	0,00	0,20	0,14
Ta	0,04	-0,05	0,05	0,25	-0,02
Tb	-0,07	0,13	-0,19	0,37	0,13
Th	-0,06	-0,02	0,05	0,25	-0,07
U	-0,19	-0,06	-0,32	0,43	0,10
Yb	-0,24	-0,06	0,01	0,28	-0,03
Zn	0,09	-0,04	0,19	0,14	0,15

En la Tabla 3.5 se muestra los resultados del análisis de correlación de Pearson entre los parámetros fisiológicos y el contenido elemental analizado en *P. hypoleucites*. En general se observaron correlaciones significativas entre ambos tipos de variables. MDA mostró correlaciones positivas con el contenido de Br, Cu, Mn, Mo y Cu. Bromo además presentó correlaciones positivas con carotenoides. Cadmio y S mostraron correlaciones negativas con clorofila *a*, feofitina *a*, feofitina *b* y carotenoides. Cadmio también correlacionó positivamente con Clor. *b/a*. A su vez, S correlacionó negativamente con ácido lecanórico y PST y positivamente con TTC. Además, la reducción de TTC mostró correlación negativa con Pb. Uranio correlacionó negativamente con carotenoides y positivamente con Clor. *b/a*. Por último, Ca mostró correlaciones positivas con PST.

Tabla 3.6. Resultados del análisis de correlación (coeficientes de Pearson) entre la cantidad de MPS ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) y el contenido elemental ($\mu\text{g}/\text{g}$ PS) analizados en *P. hypoleucites* en los 9 sitios de monitoreo. Se resaltan en negrita las correlaciones significativas a un *p*-valor $< 0,05$.

Variables		n	Coef. Pearson	<i>p</i> -valor
MPS	<i>P. hypoleucites</i>			
	S	9	0,44	0,2403
	Pb	9	-0,25	0,5150
	Fe	9	0,69	0,0399
	Cu	9	0,93	0,0003
MPS	Mo	9	0,87	0,0025
	Mn	9	0,78	0,0135
	Sr	9	0,22	0,0635
	Zn	9	0,22	0,5783
	Cd	9	0,35	0,3523

En las Tablas A-3.2 y A-3.3, de la sección anexo, se muestran los valores del contenido total de MPS, el contenido de sulfatos y nitratos medidos en la fracción soluble del MPS y el contenido de metales (S, Pb, Fe, Cu, Mo, Mn, Sr, Zn, Cd) analizados en la fracción insoluble del MPS. A partir de estos datos se realizó un análisis de correlación de Pearson entre los parámetros medidos en el MPS y el contenido de los elementos equivalentes medidos en los talos de *P. hypoleucites*. Se observó que el contenido MPS correlacionó positiva y significativamente con el contenido de Fe, Cu, Mo, Mn y Sr

(Tabla 3.6). También se observó correlaciones significativas y positivas para el contenido de S, Fe, Cu, Mo y Mn de ambas matrices (Liquen y MPS). Pb, Sr, Zn y Cd no presentaron correlaciones significativas (Tabla 3.7).

Tabla 3.7. Resultados del análisis de correlación (coeficientes de Pearson) entre el contenido elemental analizado en el MPS ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) y el contenido elemental ($\mu\text{g}/\text{g}$ PS) analizado en *P. hypoleucites* en los 9 sitios de monitoreo. Se resaltan en negrita las correlaciones significativas a un p -valor < 0,05.

Variables		N	Coef. Pearson	p -valor
MPS	<i>P. hypoleucites</i>			
SO ₄ ²⁻	S	9	0,68	0,0448
Pb	Pb	9	0,46	0,2155
Fe	Fe	9	0,67	0,0477
Cu	Cu	9	0,97	<0,0001
Mo	Mo	9	0,86	0,0031
Mn	Mn	9	0,78	0,0128
Sr	Sr	9	0,22	0,0701
Zn	Zn	9	0,20	0,6026
Cd	Cd	9	0,30	0,4257

3.6. Discusión

En este estudio se evaluó la respuesta fisiológica de *P. hypoleucites* y capacidad de bioacumulación frente a la exposición a contaminantes de origen minero que se generan a partir de la emisión de material particulado al aire. Si bien ya se han realizado algunos estudios previos con líquenes trasplantados en la misma zona de estudio (Cañas et al., 2017; Mohaded et al., 2008 y 2011), este estudio, con la incorporación de nuevos parámetros fisiológicos y el análisis de elementos indicadores de mina, permitió profundizar en el conocimiento de los líquenes como bioindicadores de la calidad de aire relacionada a la actividad minera. A su vez, los análisis de correlación del contenido de elementos indicadores de mina analizados en *P. hypoleucites* con los mismos elementos analizados en el MPS permitieron la validación del biomonitoreo de calidad de aire en áreas mineras con explotación a cielo abierto mediante líquenes, para su eventual empleo en futuros estudios a gran escala en la región. Además, ajustar esta

metodología nueva para estudios de calidad de aire relacionados a explotación minera a cielo abierto y nueva para Catamarca, permitirá optimizar el esfuerzo y los costos de muestreo asociados a los monitoreos de calidad de aire tradicionales.

En trabajos previos realizados en áreas cercanas por otros autores (Jasan et al., 2011; Mohaded et al., 2011) con trasplantes de la misma duración que el realizado en esta tesis (3 meses), emplearon el líquen *Parmotrema austrosinense*, especie con características similares a *P. hypoleucites* (ambas pertenecen a la familia Parmeliaceae, son foliosas, corticícolas y tienen una química similar con ácido lecanórico como metabolito secundario mayoritario). Comparando el contenido elemental analizado en estos estudios con el analizado en el presente trabajo se observó que los valores de concentración de los elementos analizados (As, Br, Ce, Co, Cr, Cs, Fe, Hf, K, La, Lu, Rb, Sc, Se, Sm, Ta, Th U) en *P. hypoleucites* fueron similares a los reportados por Mohaded et al. (2011) para *P. austrosinense* en la misma zona de estudio. Jasan et al. (2011) reportaron valores similares en el contenido elemental analizado en *P. austrosinense* en una zona muy cercana y con características ambientales similares. Sin embargo, los valores de As, Cr, Sc y U resultaron más altos en el presente estudio. Cabe resaltar que los valores promedio de la mayoría de los elementos analizados en *P. hypoleucites* trasplantada a los sitios de monitoreo presentan valores similares a las muestras control (sin trasplantar). Sin embargo, el contenido de Cu y Mo en los sitios de monitoreo mostró valores promedio de más del doble que en las muestras control. Los altos valores de CV para los elementos Cd, Cr, Cu, Mo y Pb sugieren la incorporación de estos elementos en partículas más grandes que las que contienen el resto de los elementos determinados. De acuerdo con Garty et al. (1996), el análisis CV puede proporcionar información sobre la manera en que los elementos se encuentran absorbidos/acumulados en el talo líquénico. Así, diferentes CV indican diferencias en la dispersión de partículas metálicas; es decir, los CV pequeños indican una baja variación en el aire debido a una suspensión de partículas diminutas, mientras que, en contraste, los CV altos indican la deposición de partículas gruesas.

A partir de análisis factorial se han podido identificar diferentes fuentes para el contenido multielemental analizado en los talos de *P. hypoleucites*. El factor 1, que tiene altas contribuciones de As, Ce, Co, Cr, Cs, Eu, Fe, Hf, La, Lu, Rb, Sc, Se, Ta, Th e Yb puede asignarse a elementos litogénicos, lo que indicaría que el suelo y las rocas son la principal fuente de metales y oligoelementos en el aire. El Co, el Cr y el Fe están asociados a las rocas silico-magnesianas ultrabásicas y a los gabros presentes en el área

de estudio. Las tierras raras y sus asociados naturales, son normales en ciertos tipos de granitoides y exhiben niveles geoquímicamente anómalos en granitos radiactivos como los encontrados en el complejo volcánico farallón negro (incluye el área de estudio) (Cañas et al., 2017; Jasan et al., 2011). *Punctelia hypoleucites* presenta acumulación de la mayoría de estos elementos en los sitios dentro de mina y en el sitio testigo y valores normales en los sitios fuera. Por lo tanto, su amplia acumulación en líquenes dentro del área de estudio podría estar relacionada a la contaminación de fondo por material particulado atmosférico proveniente de la erosión de suelo (Jasan et al., 2011, Cañas et al., 2017). En el área de explotación podría sumarse a esto el aporte de material rocoso proveniente de las labores mineras. Por lo tanto se puede asociar este factor al material particulado proveniente de fuentes de emisión de polvo. El factor 2 tiene contribuciones importantes de Cu, Mn, Mo, Na, Sb y Sr. Estos elementos se corresponden con las características geoquímicas de los yacimientos Bajo la Alumbreira y Bajo el durazno (Gutiérrez et al., 2006), por lo que se puede asociar este factor al material particulado proveniente de fuentes de emisión de polvo, debido a la exposición y disgregación de las rocas producida en la mina. A su vez teniendo en cuenta que *P. hypoleucites* mostró bioacumulación severa de Cu y Mo en todos los sitios dentro de mina, y valores normales en los sitios fuera de mina, incluso en el sitio testigo, se podrían señalar como elementos exclusivamente indicadores de mina en el área de estudio. Al tratarse de una mina de cobre, oro y molibdeno es de esperar que los líquenes expuestos a diversas actividades mineras (chancado, voladuras, transporte y acopio de material) acumulen mayores cantidades de estos elementos en los sitios dentro de mina sumado a fenómenos naturales, como el viento, que generan material particulado en el aire.

El factor 3 tiene altas contribuciones de Cd y S. En *P. hypoleucites* se observaron mayores contenidos de Cd y S en los sitios dentro de Alumbreira respecto de los sitios fuera. Estos resultados probablemente estén reflejando el origen minero de estos elementos presentes en el área de estudio. La principal fuente de cadmio en el aire en la actualidad está relacionada con emisiones de transporte vehicular (Hayat et al., 2019) y, por tanto, el contenido de Cd en los talos de *P. hypoleucites* podría estar reflejando la circulación de camiones y máquinas que operan dentro de mina. La evaluación del contenido de S en los líquenes proporciona una buena estimación de la concentración atmosférica de SO₂ en lugares rurales, suburbanos y urbanos (Garty et al., 1985). Teniendo en cuenta que los principales minerales explotados en Bajo la Alumbreira son sulfuros (Pirita y Calcopirita) (Gutiérrez et al., 2006), el contenido de S en los talos

trasplantados en el interior de mina podría tener diversos aportes, tales como el aporte de material rocoso particulado producto de las voladuras de roca, de los vientos que entran en contacto con zonas de acopio de material, y la emisión de SO₂ producto de la calcinación del mineral para concentrar el oro y la combustión del transporte automotor que opera en el área de la mina.

El factor 4 tiene contribución de Pb. Los líquenes son acumuladores muy eficientes de Pb, a través de los aerosoles. El Pb se une a sitios aniónicos insolubles, se acumula extracelularmente y se concentra en la médula. Una vez unido, no se elimina fácilmente con la lluvia o el viento. A pesar de los combustibles sin plomo, este sigue siendo uno de los principales metales emitidos por la circulación de vehículos (Monaci et al., 2000). Teniendo en cuenta esto, la acumulación de Pb encontrada en algunos sitios dentro de mina tendría, al igual que el Cd, origen en el transporte pesado que opera dentro de mina. Sin embargo, la acumulación severa de Pb encontrada solo en los sitios fuera de mina indicaría diversas fuentes de este elemento en la zona de estudio. El factor 5 tiene contribución de Br, cuya presencia en líquenes está aparentemente asociada a fuentes de emisión antropogénicas (Pignata et al., 2007). El factor 6 tiene altas contribuciones de Ca y, a su vez, *P. hypoleucites* mostró bioacumulación de Ca en los sitios E9 y E10, los que se ubican muy próximos al yacimiento “Bajo del Durazno”, por lo que el aporte de Ca en estos sitios podría estar asociado a la mineralización presente, caracterizada por abundantes minerales de sulfatos y presentando mayor diseminación el yeso (CaSO₄) (Alderete, 1999; Allison, 1986; Gutiérrez et al., 2006).

Las correlaciones positivas encontradas en el contenido de Cu, Fe, Mo, Mn y S analizados en *P. hypoleucites* y en el MPS muestra una asociación para el contenido elemental de ambas matrices. Esto indica que esta especie reflejaría el contenido de material particulado generado por las emisiones de mina.

Del análisis de los datos meteorológicos, en especial el correspondiente a los vientos, se pudo observar que en el período de muestreo las zonas más expuestas al material particulado proveniente de Minera Alumbraera fue la región situada hacia el noroeste, siendo Hualfín y Los Nacimientos las poblaciones más representativas de este sector, y la región situada hacia el sureste. Teniendo en cuenta que en la zona de estudio el factor orográfico es un factor físico muy importante en la dirección y velocidad de los vientos (Cabral & Bastons, 2016), la localidad de Amanao, ubicada a la salida de la quebrada de Vis Vis al sur de Alumbraera, también estaría expuesta al material particulado de la mina. La ligera acumulación de Cu en Hualfín y de Mo en Amanao (ambos elementos

indicadores exclusivos de mina), podría estar indicando la incidencia del material particulado proveniente de la mina en estas localidades.

Con relación a los pigmentos fotosintéticos, los menores valores en el contenido de clorofila *a* en el sitio testigo respecto de la muestra control, muestra un efecto trasplante, posiblemente debido al estrés de los talos al quitarlos del sustrato y someterlos a condiciones de micrositio diferentes. Sin embargo, esto no se manifiesta en los sitios de monitoreo ya que el contenido de clorofila *a* y feofitinas *a* y *b* fue significativamente superior en líquenes trasplantados a los mismos respecto del sitio testigo. Si bien muchos autores han reportado una disminución del contenido de pigmentos fotosintéticos en líquenes por efecto de contaminantes atmosféricos (González et al., 1996; Garty, 2001; Cañas & Pignata, 2003), otras investigaciones han mostrado un aumento en la concentración de estos compuestos en los talos cuando los niveles de polución urbana son bajos (von Arb & Brunold, 1990; von Arb et al., 1990), denotando una mejora del estatus fisiológico y nutricional del líquen (Ra et al., 2005). Más aún, se ha observado un aumento del contenido de pigmentos paralelo al incremento de los niveles de polución urbana (Carreras & Pignata, 2001), lo cual se atribuye al efecto fertilizante de algunos contaminantes atmosféricos (von Arb & Brunold, 1990). En cuanto al contenido de carotenoides, los líquenes trasplantados al sitio testigo presentó valores mas bajo que el resto de los sitios y no se observó un efecto trasplante. Estos compuestos forman parte del sistema antioxidante de defensa (Adams et al., 1993), y su incremento en los talos, tanto en los sitios dentro como en los sitios fuera de mina, podría interpretarse como un mecanismo protector frente a contaminantes atmosféricos (Cañas, 2001). Resultados similares se obtuvieron con *Parmotrema consors* (Nyl.) Krog & Swinscow trasplantada a sitios de monitoreo en la misma área de estudio, observándose cantidades elevadas de carotenoides en los sitios de monitoreo respecto de la muestra control (Mohaded Aybar et al., 2008). En condiciones leves o de bajo nivel de contaminación o corto tiempo de exposición se produce una inducción del sistema antioxidante. Sin embargo, tras una exposición prolongada o altos niveles de contaminación, los mecanismos de protección se ven desbordados y comienzan a acumularse daños en los componentes celulares. Esto se manifiesta en una disminución de los carotenoides (Weissman et al., 2006), lo que justifica los menores valores de carotenoides encontrados en Bajo la Alumbreira respecto de Los Nacimientos y Hualfin. La disminución de carotenoides asociado a polución atmosférica ha sido observada tanto en líquenes (Cañas & Pignata, 2003) como en plantas vasculares (Mikkelsen et al.,

1995; Carreras et al., 1996). Por otra parte, en cultivos del fotobionte liquénico *Trebouxia erici* el contenido total de carotenoides mostró ser sensible a la presencia de Cu (Bačkor et al., 2003). Las altas tasas de acumulación de Cu encontradas en los sitios dentro de mina podría estar influyendo en la disminución de carotenoides en los talos.

Los índices Clor. *b/a* y Feof. *a/Clor. a* han sido utilizados para evaluar estrés por contaminantes atmosféricos en otras especies liquénicas de la misma familia (Palomeque et al., 2007; Mohaded Aybar et al., 2008, Pignata et al., 2007). De estos índices, sólo Clor. *b/a* mostró diferencias significativas, indicando mayores niveles de estrés (valores elevados del índice) en líquenes trasplantados dentro de la mina Alumbreira respecto de Hualfin (localidad fuera de mina).

Weissman et al. (2006) informan que líquenes expuestos a altos niveles de contaminación, además de una disminución en el contenido de carotenoides, manifiestan un aumento de la relación Clor. *b/a* como síntoma de estrés oxidativo. Teniendo en cuenta el grado de acumulación multielemental encontrada en *P. hypoleucites* trasplantada a los sitios dentro mina, tanto el menor contenido de carotenoides como los mayores valores de Clor. *b/a* en estos sitios respecto de los sitios fuera de mina, se podría atribuir esta diferencia a la influencia de contaminantes de origen minero.

El aumento en el índice Clor. *b/a* podría estar asociado al efecto del Cu en los talos trasplantados dentro de mina. El estrés por Cu puede promover la conversión de clorofila *a* en clorofila *b* por oxidación del grupo metilo en el anillo II (Chettri et al. 1998), por lo que la clorofila total clorofila (*a+b*) permanece estable, mientras que la relación Clor. *b/a* aumenta. Sin embargo, los análisis de correlación en el presente trabajo muestran que la disminución de carotenoides podría estar relacionada al aumento principalmente de Cd y S y, en menor medida, de U, mientras que el aumento de Clor. *b/a*. estaría relacionado principalmente al aumento de Cd y U.

Tanto en el contenido de PST y ácido lecanórico se han observado resultados similares y el mismo comportamiento entre sitios. Atento a la naturaleza fenólica del ácido lecanórico (Jayaprakasha & Rao, 2000), y a que es el metabolito secundario mayoritario en *P. hypoleucites* (Brodo et al., 2003), es de esperar que el contenido del mismo sea un reflejo del contenido de PST. Los valores de TEAC se obtuvieron a partir de la capacidad de los extractos liquénicos para inhibir el radical ABTS^{•+} a los 6 min de exposición, en relación con Trolox. De acuerdo a los resultados obtenidos, la exposición

de *P. hypoleucites* a los diferentes sitios de monitoreo no manifiesta cambios en el efecto depurador sobre el radical ABTS^{•+}.

Dado que la reducción de TTC a TPF es mediada a través de las enzimas deshidrogenasas respiratorias, en *P. hypoleucites* los menores valores observados en el sitio testigo respecto del sitio control se interpreta como una baja en la actividad metabólica de los talos (BeGora & Fahselt, 2001) debido al trasplante. A su vez los mayores valores en los sitios dentro respecto de los sitios fuera de mina, incluido el sitio testigo, podría interpretarse como una disminución de la actividad metabólica por estrés por polución en los sitios fuera de mina incluido el sitio testigo o quizás a una recuperación de la actividad metabólica por exposición a contaminantes de origen minero y al efecto fertilizante que podrían tener los mismos. Esta recuperación metabólica podría, en parte, estar justificada por los mayores valores de pigmentos fotosintéticos encontrados en los sitios dentro de mina, respecto del sitio testigo. Como ya hemos visto en el Capítulo 2 la presencia de MDA en los sistemas biológicos puede estar relacionada con la peroxidación de lípidos de membrana (Turton et al., 1997). En este estudio, la concentración de MDA sugiere que contaminantes atmosféricos pueden haber causado daño a las membranas celulares en los talos de *P. hypoleucites* trasplantados a los sitios de monitoreo. Estos resultados coinciden con los de Mohaded et al. (2008), que documentaron un aumento de contenido de MDA en talos de *P. austrosinense* trasplantados a la misma área de estudio. A su vez la correlación encontrada con el contenido de Br, Cu, Mn, Mo y Sb muestra el efecto de los contaminantes de origen minero sobre este parámetro.

Con relación al I.P., en *P. hypoleucites* se observaron los valores más elevados de este índice en tres sitios dentro de mina (E8, E1 y E10) y en dos sitios fuera de mina (E6 y E7) respecto de los demás sitios. El I.P. ha mostrado ser un buen parámetro para detectar el efecto de contaminantes atmosféricos en áreas urbano industriales (González & Pignata, 1994) y rurales (Palomeque et al., 2008) y podría, por tanto, estar indicando niveles elevados de estrés en líquenes, no tan solo en aquellos expuestos a contaminantes de origen minero sino también a otras fuentes de polución atmosférica. El I.P. ha sido también muy útil para establecer niveles de calidad de aire en áreas remotas del oeste de Catamarca empleando *P. austrosinense* como bioindicador (Palomeque, 2008; Mohaded et al., 2010).

3.7. Conclusiones

En el presente capítulo se evaluaron parámetros químicos y fisiológicos en talos de *P. hypoleucites* trasplantados a Bajo la Alumbreira y localidades cercanas, analizando la respuesta del líquen en relación con la actividad minera. Así mismo, se evaluó el grado de correlación entre el contenido elemental en líquenes y en el material particulado sedimentable a los fines de seleccionar los parámetros que mejor reflejen la composición del material particulado del aire, producto de las emisiones de origen minero.

Los resultados del análisis del contenido multielemental en *P. hypoleucites* mostraron que el suelo y la roca son las principales fuentes de metales y elementos traza presentes en el material particulado del aire y que, en los sitios dentro de mina, el contenido multielemental, en esta especie, es producto de las actividades mineras que exponen a la superficie los minerales característicos del yacimiento y a procesos de movilización geoquímica, determinando así la calidad atmosférica del área de estudio. Sin embargo, no se descarta que puedan existir otras fuentes antropogénicas de contaminantes en la misma. Las correlaciones encontradas en el contenido elemental (Cu, Fe, Mo, Mn y S) analizado en *P. hypoleucites* y en el MPS indicarían la asociación en el contenido elemental de ambas matrices (Líquén y MPS). A su vez, la bioacumulación observada a partir de la relación E/C de la mayoría de los elementos, principalmente de Cu y Mo (elementos indicadores del yacimiento) en *P. hypoleucites* trasplantada a los sitios dentro de mina estaría reflejando la composición del material particulado en Bajo la Alumbreira. Por otro lado, los altos valores de Pb encontrados en los talos trasplantados en los sitios fuera de mina tendrían un origen diferente de la mina.

La respuesta fisiológica de *P. hypoleucites* permite detectar diferencias entre sitios de trasplante dentro del área de estudio, así como también determinar que esta especie sufre cierto grado de estrés relacionado a la actividad minera de Bajo la Alumbreira. Esto se evidencia principalmente con una disminución en la actividad antioxidante mediada por carotenoides y un aumento en el índice $\text{chl. } b/a$ como síntoma de estrés oxidativo por exposición a contaminantes de origen minero. A su vez también se detecta estrés oxidativo, a través del contenido de MDA, en algunos sitios dentro de mina, lo que estaría relacionado a la acumulación de elementos indicadores de mina, principalmente el Cu.

La composición de elementos indicadores de mina analizados en *P. hypoleucites* reflejaron el contenido del MPS y los elementos que mejor asociación entre ambas matrices presentaron son el Cu, Fe, Mo, Mn y S. Por tanto, estos resultados deberán considerarse como punto de partida o referencia en futuros trabajos de monitoreo para la calibración con datos de muestreadores automáticos asociados a la actividad minera a cielo abierto.

Discusión general

La mayoría de los estudios ambientales que utilizan líquenes como bioindicadores/biomonitores activos o pasivos, atienden específicamente alguno de los aspectos de su biología, ya sea a nivel ecológico (estudio de poblaciones, comunidades y ecosistemas), o al nivel de la respuesta del organismo (a través de los cambios químicos y fisiológicos, entre otros). Sin embargo, son muy escasos los trabajos que involucran más de un nivel de análisis, abarcando un mayor número de respuestas posibles ante los disturbios o las emisiones antropogénicas (Baipai et al., 2010; Paoli et al., 2011, 2015) y no se han registrado trabajos asociados a la minería (Abas, 2021).

La minería es la principal actividad económica de Catamarca, con proyectos extractivos en marcha y proyectos en construcción. Asimismo, existen en la provincia áreas de reservas geológica-mineras con potencialidades para la exploración, desarrollo y eventual explotación de los depósitos que se detecten.

Dado que la minería es una de las actividades productivas que generan mayor impacto en el ambiente, cada empresa minera posee su propio sistema de gestión ambiental, que en algunos casos incluyen la monitorización continua de material particulado atmosférico. Sin embargo, esto se realiza en unos pocos sitios, en determinados períodos de tiempo y de manera no simultánea, de modo tal que la información recabada se circunscribe a áreas cercanas a la mina, sin considerar que el impacto producido por la actividad puede observarse en sitios alejados y hasta remotos. Es, por tanto, necesario extender el monitoreo a toda el área potencialmente afectable por la actividad minera, aunque resulta poco factible considerando los altos costos y dificultades técnicas que implica la instalación de numerosas estaciones de muestreo. Una alternativa de fácil ejecución y que permite ampliar al área de estudio es el biomonitoreo con líquenes. Sin embargo, esta metodología necesita de estudios bases para seleccionar los niveles biológicos de respuesta que mejor reflejen la exposición a contaminantes de origen minero. Estos estudios implican: determinar las especies más adecuadas como bioindicadoras de calidad de aire; seleccionar los biomarcadores que mejor respondan a los contaminantes de origen minero y, a su vez, que permitan calibrar la respuesta de los biomonitores con los datos de material particulado atmosférico; y por último, ajustar la metodología más apropiada para el empleo de líquenes como biomonitores pasivos (líquenes *in situ*) y activos (líquenes trasplantados).

Ya se han implementado programas sistemáticos de monitoreo con líquenes como bioindicadores de la calidad de aire, alternativa y complementariamente a los monitoreos tradicionales en áreas urbanas, industriales y forestales. Hay antecedentes previos principalmente en Europa y Estados Unidos (Asta et al., 2002; Lawrey, 2011; Root et al., 2015) y en menor medida a nivel regional, como por ejemplo en la ciudad de Córdoba (DM N° 2243-2010-DIA-MC, 2010).

A partir de los resultados de esta tesis, que incluyen un amplio rango de la respuesta de los líquenes ante alteraciones ambientales, se establecen las bases para futuros trabajos que permitirán el seguimiento y control simultáneo de toda el área potencialmente afectable por fenómenos de contaminación relacionados a la minería metalífera. También se posibilita la implementación de biomonitoreos sistemáticos que puedan reflejar los niveles de contaminación en el material particulado del aire y detectar indirectamente el riesgo ambiental y sanitario de las poblaciones dispersas en la región.

Con relación a lo anterior, en la presente tesis se evaluaron las comunidades de líquenes como biomonitores pasivos de la calidad de aire, a dos niveles de respuesta: a partir de cambios en la composición y diversidad de especies, y desde las variaciones químico-fisiológicas.

Los estudios de diversidad de líquenes saxícolas mostraron que las características de estas comunidades responden a factores ambientales que actúan como filtros a diferentes escalas. Una de estas variables fue la altitud y otras a escala de micrositio. Además, teniendo en cuenta el diseño de muestreo empleado resultó difícil asociar cambios en la riqueza y la composición de especies a la actividad minera. Sin embargo, los muy bajos valores de riqueza encontrados en CRV (cuenca asociada al yacimiento Bajo la Alumbreira) indican que la minería de cobre a cielo abierto podría tener influencia en la composición de líquenes. Por ello, estudios ecológicos más profundos que analicen las comunidades de líquenes dentro y fuera de la mina en un rango altitudinal acotado permitirán aclarar mejor el impacto de la mina sobre estas variables.

Los estudios ecológicos permitieron, además, seleccionar aquellas especies que por su forma de crecimiento y abundancia son adecuadas para analizar el impacto de la actividad minera a partir de la respuesta químico-fisiológica de líquenes.

En los estudios químicos con líquenes *in situ*, los resultados mostraron que tanto, *Punctelia hypoleucites* como *Parmotrema reticulatum* respondieron, a través del contenido multielemental, al material particulado en el aire y que la fuente principal de estos elementos es el suelo y roca característico de la zona y producto de las labores

mineras que exponen al aire elementos característicos de los yacimientos. *Punctelia hypoleucites* respondió fisiológicamente, por un lado a factores ambientales a partir del aumento de pigmentos fotosintéticos a mayores altitudes y disminución de los mismos en sitios con mayor cobertura de vegetación, y por otro lado a la polución de origen minero a partir de un aumento de MDA y disminución en el contenido de PST. A su vez, otros factores como la polución de fondo a partir del polvo fugitivo característico del área de estudio también influiría en un mayor contenido de MDA y menor contenido de PST en esta especie.

En CAC, teniendo en cuenta que los sitios presentan características ambientales muy similares, y se ubican muy cerca de las fuentes de material particulado de origen minero, las diferencias en la respuesta fisiológica de *P. reticulatum* se asociaron a voladuras y a pasivos ambientales presentes en el área (Drenaje Ácido de Mina), que exponen a la superficie elementos característicos del yacimiento de Capillitas. Sin embargo, los resultados fisiológicos no mostraron una correlación clara o asociación con el contenido elemental analizado en los líquenes. Por lo cual, se precisan más análisis que permitan estimar con mayor certeza los contaminantes atmosféricos de origen minero que influyen sobre los mismos.

Considerando los antecedentes previos en estudios de biomonitoreo activo con líquenes realizados en la misma región (Cañas et al., 2017; Jasán et al., 2011, Mohaded Aybar et al., 2008, 2010, 2011; Ocampo et al., 2009), la ubicación de varios sitios de monitoreo cercanos a distintas fuentes de material particulado al aire dentro de mina, y, a su vez, que el monitoreo coincidió en tiempo y espacio con las mediciones realizadas a partir de estaciones de monitoreo de material particulado, la información de la respuesta química y fisiológica con líquenes trasplantados obtenida en este trabajo aportó información muy valiosa para optimizar el biomonitoreo de calidad de aire asociado a la minería a cielo abierto.

A partir de los altos valores del índice E/C se pudo identificar que los talos de *P. hypoleucites* trasplantados a los sitios dentro de mina fueron los más afectados por el material particulado en el aire. A su vez, las principales fuentes de material particulado dentro de mina se asociaron a labores mineros como las voladuras y el chancado y el material particulado que se dispersa producto de los fuertes vientos predominantes en el área que inciden sobre los sectores de acopio de material (stock pile y botaderos). Los altos índices de bioacumulación de Cu y Mo que mostraron los talos trasplantados a los

sitios dentro de mina respecto de los sitios fuera, permiten seleccionar estos elementos como indicadores exclusivos de este yacimiento.

A partir de estos estudios se determinó que la composición de algunos elementos indicadores de mina analizados en los talos trasplantados de *P. hypoleucites* reflejaron el contenido del MPS. Estos resultados contribuyen a la calibración y puesta a punto del biomonitoreo empleando líquenes. El monitoreo de las diferentes fracciones de material particulado en el aire, incluido el MPS, es ampliamente utilizado para evaluar calidad de aire en minería (Lee, 2020). A su vez, la Organización Mundial de la Salud estableció niveles guía para estos parámetros (World Health Organization, 2006), para los cuales en Argentina, a partir de la ley 20.224/73 se establecieron tres niveles de concentración de estos parámetros (Alerta, Alarma y Emergencia) que activan diferentes medidas de un plan de prevención.

Por último, *P. hypoleucites* respondió fisiológicamente a la actividad minera indicando mayores niveles de estrés (menores contenidos de carotenoides y valores elevados de Clo *b/a*) en líquenes trasplantados dentro de la mina Alumbreira respecto de los sitios fuera de la misma. Sin embargo, esta respuesta puede considerarse moderada teniendo en cuenta los altos índices de bioacumulación multielemental encontrada dentro de mina.

Conclusiones generales

- 1- Los parámetros comunitarios medidos en las tres cuencas estudiadas variaron en función de la altura sobre el nivel del mar y algunas variables de micrositio (principalmente el tipo de cobertura de suelo alrededor de las rocas). La composición de especies fue, principalmente, uno de los parámetros que permitió asociar algunos de estos cambios a la presencia de la actividad minera.
- 2- Por otra parte, se describieron las características de las comunidades de líquenes saxícolas para que puedan ser incluidas en otros estudios, relevamientos de biodiversidad o línea de base para nuevos estudios.
3. Existe en las cuencas analizadas una diversidad importante de líquenes, con una mayoría de especies sin registrar para la región.

4. Los parámetros de bioacumulación fueron los que mejor respondieron a las actividades de mina, indicando las diferentes fuentes de material particulado de origen minero.
5. Los parámetros fisiológicos y de acumulación que mejor respondieron a la presencia de la mina, dependieron de la metodología empleada y el tipo de yacimiento.
6. Tanto *Punctelia hypoleucites*, recolectada en CRV, como *Parmotrema reticulatum*, recolectada en CAC, respondieron, a través de diferencias en el contenido elemental, a algunas actividades de mina y pasivos ambientales (en CRV al transporte vehicular asociado a Bajo la Alumbreira y en CAC a las voladuras periódicas realizadas en la mina y a la exposición al DAM).
7. En *P. hypoleucites* trasplantada a mina Alumbreira la mayoría de los elementos analizados respondieron a las actividades de mina. Sin embargo, debido a las altísimas tasas de bioacumulación dentro de mina, el Cu y el Mo fueron los que mejor reflejaron las labores mineras.
8. El contenido de carotenoides y el índice Clor *b/a*. analizados en el biomonitoreo activo con *P. hypoleucites* y el contenido de MDA en el biomonitoreo pasivo fueron los parámetros que mejor reflejaron el daño liquénico en esta especie producto de la exposición a la mina.
9. El contenido de elementos indicadores de mina analizados en *P. hypoleucites* reflejaron el contenido de MPS, lo cual, contribuye a la calibración y puesta a punto del biomonitoreo empleando líquenes.
10. El biomonitoreo activo empleando *P. hypoleucites* fue la metodología más adecuada para evaluar el impacto de la minería sobre la calidad de aire.
11. Estos resultados permitieron establecer líneas de referencia ambiental en áreas mineras; así como contribuyeron al desarrollo de un sistema de biomonitoreo de calidad de aire para el área minera del oeste de Catamarca.

Bibliografía

- Abas, A. (2021). A systematic review on biomonitoring using lichen as the biological indicator: A decade of practices, progress and challenges. *Ecological Indicators*, 121: 107197.
- Adamo, P., Giordano, S., Vingiani, S., Cobianchi, R. C., & Violante, P. (2003). Trace element accumulation by moss and lichen exposed in bags in the city of Naples (Italy). *Environmental Pollution*, 122(1): 91-103.
- Adams, W. W., Demmig-Adams, B., & Lange, O. L. (1993). Carotenoid composition and metabolism in green and blue-green algal lichens in the field. *Oecologia*, 94(4): 576-584.
- Adler, M. T. (1992). Claves de los géneros y las especies de Parmeliaceae (Lichenes, Ascomycotina) de la Provincia de Buenos Aires. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 28 (1-4): 11-17.
- Ahmadjian, V. (1995). Lichens are more important than you think. *BioScience*, 45(3): 124-124.
- Alderete, M. C. (1999). Distrito Farallón Negro-Alto de la Blenda, Catamarca. *Recursos Minerales de la República Argentina, Instituto de Geología y Recursos Minerales SEGEMAR (Buenos Aires), Anales*, °35: 1637-1642.
- Allison, A. E. (1986). The geology of the Bajo el Durazno porphyry coppergold prospect, Catamarca province, Argentina: Unpublished M.Sc. thesis, Tucson, AZ, University of Arizona, 167 p.
- Asplund, J., & Wardle, D. A. (2017). How lichens impact on terrestrial community and ecosystem properties. *Biological Reviews*, 92(3): 1720-1738.
- Asta, J., Erhardt, W., Ferretti, M., Fornasier, F., Kirschbaum, U., Nimis, P. L., ... & Wirth, V. (2002). European guideline for mapping lichen diversity as an indicator of environmental stress. London. *British Lichen Society*.
- Autino, A. G., & Montero, R. (2012). Guía de Vertebrados de Bajo la Alumbreira

Catamarca, Argentina. *Minera Alumbreira Limited*. 1: 224.

- Avalo, E. M. (2021). El uso de especies vegetales endémicas de Ushuaia en biomonitoreos magnéticos de contaminantes atmosféricos. Tesis de Licenciatura en Tecnología Ambiental de la Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad Nacional de la Provincia de Buenos Aires.
- Báčkor, M., Fahselt, D., Davidson, R. D., & Wu, C. T. (2003). Effects of copper on wild and tolerant strains of the lichen photobiont *Trebouxia erici* (Chlorophyta) and possible tolerance mechanisms. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 45(2): 159-167.
- Báčkor, M., & Fahselt, D. (2005). Tetrazolium reduction as an indicator of environmental stress in lichens and isolated bionts. *Environmental and experimental botany*, 53(2): 125-133.
- Balzarini, M. G., Gonzalez, L., Tablada M., Casanoves, F., Di Rienzo, J. A., Robledo, C. W. (2008). Manual del Usuario, *Editorial Brujas*, Córdoba, Argentina.
- Baniya, C. B., Solhøy, T., Gauslaa, Y., & Palmer, M. W. (2010). The elevation gradient of lichen species richness in Nepal. *The Lichenologist*, 42(1): 83-96.
- Bässler, C., Cadotte, M. W., Beudert, B., Heibl, C., Blaschke, M., Bradtka, J. H., ... & Müller, J. (2016). Contrasting patterns of lichen functional diversity and species richness across an elevation gradient. *Ecography*, 39(7): 689-698.
- Beckett, R. P., Kranner, I., & Minibayeva, F. v. (2008). Stress physiology and the symbiosis. In T. H. Nash (Ed.), *Lichen Biology* (134-151). Cambridge University Press.
- BeGora M, Fahselt D. (2001). Photolability of secondary compounds in some lichen species. *Symbiosis*, 31: 3-22.
- Bergamaschi, L., Rizzio, E., Giaveri, G., Loppi, S., & Gallorini, M. (2007). Comparison between the accumulation capacity of four lichen species transplanted to a urban site. *Environmental Pollution*, 148(2): 468-476.

- Bermudez, G. M. A., Rodríguez, J. H., & Pignata, M. L. (2009). Comparison of the air pollution biomonitoring ability of three *Tillandsia* species and the lichen *Ramalina celastri* in Argentina. *Environmental Research*, 109(1): 6-14.
- Bielczyk, U., Jędrzejczyk-Korycińska, M., & Kiszka, J. (2013). Lichens of abandoned zinc-lead mines. *Acta Mycologica*, 44(2): 139-149.
- Bhojar, M., Mishra, G., Naik, P. & Srivastava, R. (2011). Estimation of antioxidant activity and total phenolics among natural populations of Caper (*Capparis spinosa*) leaves collected from cold arid desert of trans-Himalayas. *Aust J Crop Sci*, 5(7): 912-919.
- Boamponsem, L. K., Adam, J. I., Dampare, S. B., Nyarko, B. J. B., & Essumang, D. K. (2010). Assessment of atmospheric heavy metal deposition in the Tarkwa gold mining area of Ghana using epiphytic lichens. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, 268(9): 1492-1501.
- Boonpragob, L. K. (2002). Monitoring physiological change in lichens: total chlorophyll content and chlorophyll degradation. In *Monitoring with lichens—monitoring lichens* (323-326). Springer, Dordrecht.
- Boudreault, C., Bergeron, Y., Gauthier, S., & Drapeau, P. (2002). Bryophyte and lichen communities in mature to old-growth stands in eastern boreal forests of Canada. *Canadian Journal of Forest Research*, 32(6): 1080-1093.
- Brodo, I. M., Sharnoff S. D., & Sharnoff, S. (2003). Lichens of North America. *Int Microbiol*, 6: 149-150.
- Bruna Novillo, J. B. (2018). Geología y Génesis del Pórfido de Au-Cu de Bajo El Durazno, Provincia de Catamarca, República Argentina. *Ph D tesis*. University of Catamarca, Argentina (2018), p. 280.
- Büdel, B., & Scheidegger, C. (2008). Thallus morphology and anatomy. In T. H. Nash (Ed.), *Lichen Biology* (40-68). Cambridge University Press.

- Cabral, P. O., & Bastons, J. L. (2016). El régimen municipal de la provincia de Catamarca y la revisión judicial de su actividad. Catamarca , Argentina. *Abeledo Perrot*: 1259-1293.
- Cabrera, A. L. (1976). Regiones fitogeográficas argentinas. *Enciclopedia Argentina de Agricultura y Ganadería (2° ed.) Tomo II. Cap. I: VI*. Buenos Aires: ACME, 1-85.
- Calvelo, S., & Liberatore, S. (2002). Catálogo de los líquenes de la Argentina. *Kurtziana*: 29(2): 7-170.
- Cantón, N., Rodríguez, J. M., & Estrabou, C. (2020). La familia Parmeliaceae (Ascomycota liquenizados) en la provincia de La Rioja, Argentina. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 55(2): 1-10.
- Cañas, M. S. & Pignata, M. L. (1998). Temporal variation of pigments and peroxidation products in the lichen *Parmotrema uruguense* (Krempelh.) Hale transplanted to urban and non-polluted environments, *Symbiosis*, 24: 147-162.
- Cañas, M. S. (2001). Respuesta química de tres especies líquénicas a contaminantes atmosféricos. Selección de parámetros para bioindicación. Ph.D. Thesis, National University of Córdoba.
- Cañas, M. S. and Pignata, M.L. (2003). ‘Efecto de contaminantes atmosféricos urbano-industriales sobre el liquen *Parmotrema austrosinense* (Zahlbr.) Hale’, *Ciencia*, (1)1:87-100.
- Cañas, M. S., Jasan R. C., & Plá, R. R. (2017). Lichens as bioindicators of air quality in mining areas of Latin America, with special reference to Catamarca, Argentina. En: *Ecotoxicology in Latin America. Nova Science Publishers*, New York. 437-456.
- Carreras, H. A., Cañas, M. S., & Pignata, M. L. (1996). Differences in responses to urban air pollutants by *Ligustrum lucidum* Ait. and *Ligustrum lucidum* Ait. f. *tricolor* (Rehd.) Rehd. *Environmental Pollution*, 93(2): 211-218.
- Carreras, H. A., & Pignata, M. L. (2001). Comparison among air pollutants, meteorological conditions and some chemical parameters in the transplanted lichen *Usnea amblyoclada*. *Environmental Pollution*, 111(1): 45-52.

- Carreras, H. A., & Pignata, M. L. (2002). Biomonitoring of heavy metals and air quality in Cordoba City, Argentina, using transplanted lichens. *Environmental Pollution*, 117(1): 77–87.
- Carreras H. A., Wannaz E. D., Perez C. A., Pignata M. L. (2005). The role of urban air pollutants on the performance of heavy metal accumulation in *Usnea amblyoclada*. *Environ*, 97:50-57.
- Carreras, H. A., & Pignata, M. L. (2007). Effects of the heavy metals Cu²⁺, Ni²⁺, Pb²⁺, and Zn²⁺ on some physiological parameters of the lichen *Usnea amblyoclada*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 67(1): 59-66.
- Carrizo, J., & Córdoba, M. V. (2005). Flora de Bajo la Alumbreira, provincia de Catamarca, Argentina. *Boletín de La Sociedad Argentina de Botánica*, (40)122.
- Carrizo, J., & Esteban, G. (2014). *Guia de vegetación nativa: Bajo la Alumbreira. Minera Alumbreira*. <http://www.alumbreira.com.ar/files/investigaciones/Alumbreira-Guia-de-Vegetacion.pdf>.
- Caviglia, A. M., Nicora, P., Giordani, P., Brunialti, G., & Modenesi, P. (2001). Oxidative stress and usnic acid content in *Parmelia caperata* and *Parmelia soledians* (Lichenes). *Il Farmaco*, 56(5-7): 379-382.
- Chang, W. C., Chen, M. H., & Lee, T. M. (1999). 2, 3, 5-Triphenyltetrazolium reduction in the viability assay of *Ulva fasciata* (Chlorophyta) in response to salinity stress. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 40.
- Chaparro, M. A., Lavornia, J. M., Chaparro, M. A., & Sinito, A. M. (2013). Biomonitoring of urban air pollution: Magnetic studies and SEM observations of corticolous foliose and microfoliose lichens and their suitability for magnetic monitoring. *Environmental Pollution*, 172: 61-69.
- Chaparro, Marcos A. E. (2021). Airborne particle accumulation and loss in pollution-tolerant lichens and its magnetic quantification. *Environmental Pollution*, 288: 117807.

- Charak, S., Sheikh, M. A., Raina, A. K., & Upreti, D. K. (2009). Ecological impact of coal mines on lichens: A case study at Moghla coal mines Kalakote (Rajouri), J&K. In *Journal of Applied and Natural Science*, 1(1).
- Chettri, M. K., Cook, C. M., Vardaka, E., Sawidis, T., & Lanaras, T. (1998). The effect of Cu, Zn and Pb on the chlorophyll content of the lichens *Cladonia convoluta* and *Cladonia rangiformis*. *Environmental and Experimental Botany*, 39(1): 1-10.
- Clark A. H., Farrar E., Caelles J. C., Haynes S. J., Lortie R. B., McBride S. L., Quirt G. S., Robertson R. C. R. , Zentilli M. (1976). Longitudinal variations in the metallogenetic evolution of the Central Andes: a progress report. In: Strong DF (ed) Metallogeny and plate tectonics. *Geol Assoc Can Spec Paper*, 14: 23-58.
- Cleavitt, N. L., Clyne, A. B., & Fahey, T. J. (2019). Epiphytic macrolichen patterns along an elevation gradient in the White Mountain National Forest, New Hampshire1. *The Journal of the Torrey Botanical Society*, 146(1): 8-17.
- Comba, A. (2017). Problemática del área sur de Tucumán, Este de Catamarca y Río Hondo. Documento síntesis. 1(1): 276 pág..
- Conti, M. E., & Cecchetti, G. (2001). Biological monitoring: lichens as bioindicators of air pollution assessment — a review. *Environmental Pollution*, 114(3), 471–492.
- Córdoba, S. K., Ocampo, A.I., Moyano, R.G., & Cañas, M.S. (2012). Análisis del contenido de ácido lecanórico y pigmentos fotosintéticos en líquenes trasplantados a San Fernando del Valle de Catamarca. *Editorial Científica Universitaria-UNCa*. Pág. 87-94.
- Costas, S. M., Cantón, N., & Rodríguez, J. M. (2021). The relative effect of altitude and aspect on saxicolous lichen communities at mountain summits from central-west of Argentina. *Rodriguésia*, 72.
- Culberson, C. F. (1969). *Chemical and Botanical Guide to Lichen Products*. Chapel Hill: The University of North Carolina Press.
- Decreto municipal N° 2243 de 2010. [Dirección de Impacto Ambiental-Municipalidad de Córdoba (DIA-MC)]. Por el cual se crea el “Programa de Monitoreo del Aire a

través de líquenes como bioindicadores” complementario a otras metodologías establecidas en la Ordenanza n° 9976/1998 (Creación de la red de vigilancia de fuentes fijas de contaminación atmosférica). 20 de mayo de 2010.

De Ronde, J. A., Cress, W. A., & Van Staden, J. (2001). Interaction of osmotic and temperature stress on transgenic soybean. *South African journal of botany*, 67(4): 655-660.

Díaz Escandón, D., Soto Medina, E., Lücking, R., & Silverstone Sopkin, P. A. (2016). Corticolous lichens as environmental indicators of natural sulphur emissions near the sulphur mine El Vinagre (Cauca, Colombia). *The Lichenologist*, 48(2): 147–159.

Di Rienzo, J. A., Macchiavelli, R. E., Casanoves, F. (2011). Modelos lineales mixto: 1a. ed. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. Librodigital, PDF. URL www.infostat.com.ar.

Di Rienzo, J. A., Casanoves, F., Balzarini, M. G., Gonzalez, L., Tablada, M., Robledo, C. W. (2017a). InfoStat, versión 2017, Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL www.infostat.com.ar.

Di Rienzo, J. A., Macchiavelli, R. E., Casanoves, F. (2017b). Modelos lineales generalizados mixtos: aplicaciones en InfoStat. 1a edición especial. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. Libro digital, PDF. URL www.infostat.com.ar.

Dufrêne, M., & Legendre, P. (1997). Species assemblages and indicator species: the need for a flexible asymmetrical approach. *Ecological monographs*, 67(3): 345-366.

Elbert, W., Weber, B., Burrows, S., Steinkamp, J., Büdel, B., Andreae, M. O., & Pöschl, U. (2012). Contribution of cryptogamic covers to the global cycles of carbon and nitrogen. *Nature Geoscience*, 5(7): 459–462.

Ellis, C. J., Asplund, J., Benesperi, R., Branquinho, C., Di Nuzzo, L., Hurtado, P., ... & Giordani, P. (2021). Functional traits in lichen ecology: a review of challenge and opportunity. *Microorganisms*, 9(4): 766.

- Estévez, M., Morcuende, D., & Ventanas, S. (2008). Determination of oxidation. *Handbook of processed meat and poultry analysis*, 141-162.
- Estrabou, C. (1999). La familia Parmeliaceae (Ascomycetes Liqueñizados) sensu stricto de la provincia de Córdoba: estudio sistemático-biogeográfico. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de Córdoba. 133 pág.
- Estrabou, C., Rodríguez, J. M., Prieri, B., & Lijteroff, R. (2006). Contribución al conocimiento de los macrolíquenes del extremo Sur del Gran Chaco (Argentina). *Kurtziana*, 32(1-2): 25-43.
- Estrabou, C., Mohaded Aybar, C. B., Rodríguez, J. M., & Cañas, M. S. (2010). Lichen Diversity in Three Areas from Catamarca Province: Basis for the Environmental Changes Control. *Ciencia*, 5(12): 85–95.
- Estrabou, C., Filippini, E., Soria, J. P., Schelotto, G., & Rodríguez, J. M. (2011). Air quality monitoring system using lichens as bioindicators in Central Argentina. *Environmental Monitoring and Assessment*, 182(1-4): 375–383.
- Estrabou, C., Quiroga, C., & Rodríguez, J. M. (2014). Lichen community diversity on a remnant forest in south of Chaco region (Cordoba, Argentina). *Bosque (Valdivia)*, 35(1): 9-10.
- Filippini, E. R., Rodríguez, J. M., & Estrabou, C. (2014). Lichen community from an endangered forest under different management practices in central Argentina. *Lazaroa*, 35(0).
- Filippini, E., Rodríguez, J. M., Quiroga, G., & Estrabou, C. (2020a). Differential response of epiphytic lichen taxa to agricultural land use in a fragmented forest in central argentina. *Cernea*, 26: 272-278.
- Filippini, E., Cañas, M., Acosta, W. D., Plá, R. R., Jasan, R. C., Invernizzi, R., & Estrabou, C. (2020b). Physiological response and multi-elemental content in lichens growing on agricultural fences: A pilot study comparing no-tillage and organic cropping. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 105(2): 211-217.

- Frati, L., Brunialti, G., & Loppi, S. (2005). Problems related to lichen transplants to monitor trace element deposition in repeated surveys: a case study from central Italy. *Journal of Atmospheric Chemistry*, 52(3): 221-230.
- Frati, L., Brunialti, G., Gaudino, S., Pati, A., Rosamilia, S., & Loppi, S. (2011). Accumulation of nitrogen and changes in assimilation pigments of lichens transplanted in an agricultural area. *Environmental monitoring and assessment*, 178(1): 19-24.
- Freitas, M. C., & Pacheco, A. M. G. (2004). Bioaccumulation of cobalt in *Parmelia sulcata*. *Journal of Atmospheric Chemistry*, 49(1): 67-82.
- Garty, J. (2001). Biomonitoring Atmospheric Heavy Metals with Lichens: Theory and Application. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 20(4): 309-371.
- Garty, J., Ronen, R., & Galun, M. (1985). Correlation between chlorophyll degradation and the amount of some elements in the lichen *Ramalina duriaei* (De Not.) Jatta. *Environmental and Experimental Botany*, 25(1): 67-74.
- Garty, J., Kauppi, M. & Kauppi, A. 1996. Accumulation of air elements from vehicles in transplanted lichens in urban sites. *Journal of Environmental Quality* 25: 265-272.
- Giordano, S., Adamo, P., Sorbo, S., & Vingiani, S. (2005). Atmospheric trace metal pollution in the Naples urban area based on results from moss and lichen bags. *Environmental Pollution*, 136(3): 431-442.
- Glencore. (2017). Resources & reserves as at 31 december 2017. <https://www.glencore.com/dam/jcr:a2823ab5-5715-463d-83d2-a14ab0c0e8e3/GLEN-2017-Resources-Reserves-Report.pdf>
- Gombert, S., Asta, J., & Seaward, M. (2004). Assessment of lichen diversity by index of atmospheric purity (IAP), index of human impact (IHI) and other environmental factors in an urban area (Grenoble, southeast France). *Science of The Total Environment*, 324(1-3): 183-199.
- Gómez, R. Q., Chaparro, M. A.; Castañeda Miranda, A. G., Marié, D. C., Gargiulo, J. D., Böhnell, H. N., (2021). Magnetic biomonitoring using native lichens: spatial distribution of traffic-derived particles. *Water, Air, & Soil Pollution*. 232: 124.

- Gonzalez Bonorino, F. (1972). Descripción geológica Hoja 13 C, Fiambalá. (Provincia de Catamarca). Dirección Nacional de Geología y Minería. Buenos Aires, 73 pág.
- Gonzalez, C. M., & Pignata, M. L. (1994). The influence of air pollution on soluble proteins, chlorophyll degradation, MDA, sulphur and heavy metals in a transplanted lichen. *Chemistry and Ecology*, 9(2): 105-113.
- González, C. M., Casanovas, S. S., & Pignata, M. L., 1996: Biomonitoring of air pollutants from traffic and industries employing *Ramalina ecklonii* (spreng.) Mey. and Flot., *Environ. Pollut*, 91: 269-277.
- González, C. M., Pignata, M. L., & Orellana, L. (2003). Applications of redundancy analysis for the detection of chemical response patterns to air pollution in lichen. *Science of the total environment*, 312(1-3): 245-253.
- Gutierrez, A. A., Chong, D. G., & Espinoza, R. S. (2006). Niveles de exposición de yacimientos del distrito minero Agua de Dionisio (YMAD), Catamarca. *Revista de La Asociación Geológica Argentina*, 62(2): 269-278.
- Häffner, E., Lomský, B., Hynek, V., Hällgren, J. E., Batič, F., & Pfanz, H. (2001). Air pollution and lichen physiology. Physiological responses of different lichens in a transplant experiment following an SO₂-gradient. *Water, air, and soil pollution*, 131(1): 185-201.
- Harris, A. C., Bryan, S. E., & Holcombe, R. J. (2006). Entorno volcánico del depósito de pórfido Cu-Au del Bajo la Alumbreira, volcán Farallón Negro, noroeste de Argentina. *Geología económica*, 101 (1): 71-94.
- Hauck, M. (2010). Ammonium and nitrate tolerance in lichens. *Environmental Pollution*, 158(5): 1127-1133.
- Hawksworth, D. L. (1988). The variety of fungal-algal symbioses, their evolutionary significance, and the nature of lichens. In *Botanical Journal of the Linnean Society* (Vol. 96).

- Hawksworth, D. L., Iturriaga, T., & Crespo, A. (2005). Líquenes como bioindicadores inmediatos de contaminación y cambios medio-ambientales en los trópicos. *Revista Iberoamericana de Micología*, 22(2): 71-82.
- Hayat, M. T., Nauman, M., Nazir, N., Ali, S., & Bangash, N. (2019). Environmental hazards of cadmium: past, present, and future. *In Cadmium toxicity and tolerance in plants. Academic Press*, (pp. 163-183)..
- Heath, R. L., & Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of biochemistry and biophysics*, 125(1): 189-198.
- Heber, U., Bilger, W., & Shuvalov, V. A. (2006). Thermal energy dissipation in reaction centres and in the antenna of photosystem II protects desiccated poikilohydric mosses against photo-oxidation. *Journal of experimental botany*, 57(12): 2993-3006.
- Hollings, P., Cooke, D. R., & Walshe, J. L. (2004). The characteristics, distribution and controls of giant porphyry copper deposits. *The Gangue*, 82: 1-8.
- Jairus, K., Lõhmus, A., & Lõhmus, P. (2009). Lichen acclimatization on retention trees: a conservation physiology lesson. *Journal of applied ecology*, 46(4): 930-936.
- Jasan, R. C., Aybar, C. B. M., Ocampo, A. I., Palomeque, L. I. L., & Cañas, M. S. (2011). Elemental composition analysis in lichens transplanted to the western region of Catamarca, Argentina. *International Journal of Environment and Health*, 5(4): 304-317.
- Jayaprakasha, G. K., & Rao, L. J. (2000). Phenolic constituents from the lichen *Parmotrema stuppeum* (Nyl.) Hale and their antioxidant activity. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 55(11-12): 1018-1022.
- Jeziński, A., Bylińska, E., & Seaward, M. R. (1999). Electron paramagnetic resonance (EPR) investigations of lichens—1: effects of air pollution. *Atmospheric environment*, 33(28):4629-4635.
- Karlin, U. O., Karlin, M. S., Zapata, R. M., Coirini, R. O., Contreras, A. M., & Carnero,

- M. (2017). La Provincia Fitogeográfica del Monte: límites territoriales y su representación. *Multequina*, (26): 63-75.
- Kidron, G. J., & Temina, M. (2010). Lichen colonization on cobbles in the Negev Desert following 15 years in the field. *Geomicrobiology Journal*, 27(5): 455-463.
- Knudsen, K., Elix, J., & REEB, V. (2008). A preliminary study of the genera *Acarospora* and *Pleopsidium* in South America. *Opuscula Philolichenum*, 5: 1-22.
- Knudsen, K., & Flakus, A. (2016). The identity of *Acarospora xanthophana* (Fungi: Ascomycota) and a description of *A. congregata* sp. nov. to accommodate a widely distributed saxicolous species occurring in the higher elevations of South America. *Taxon*, 65(1): 146-151.
- Körner, C. H. (1995). Alpine plant diversity: a global survey and functional interpretations. In *Arctic and alpine biodiversity: Patterns, causes and ecosystem consequences* (pp. 45-62). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Körner, C. (2007). The use of 'altitude' in ecological research. *Trends in ecology & evolution*, 22(11): 569-574.
- Kosanić, M., Ranković, B., & Vukojević, J. (2011). Antioxidant properties of some lichen species. *Journal of food science and technology*, 48(5): 584-590.
- Kumar, J., Dhar, P., Tayade, A. B., Gupta, D., Chaurasia, O. P., Upreti, D. K., ... & Srivastava, R. B. (2014). Antioxidant capacities, phenolic profile and cytotoxic effects of saxicolous lichens from trans-Himalayan cold desert of Ladakh. *PloS one*, 9(6): e98696.
- Lawrey, J. D. (2011). A lichen biomonitoring program to protect resources in the National Capital Region by detecting air quality effects. *Natural Resource Program Center, Fort Collins, CO. NRTR NPS/NCRN/NRTR--2011/450*.
- Lavornia, J. M. (2009). *Las comunidades de líquenes de Tandil (Buenos Aires) como bioindicadores de la calidad del aire*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Humanas, UNICEN.

- Lavornia, J. M., Kristensen, M. J., & Rosato, V. (2012). Los líquenes de los roquedales de Tandil. Bioindicadores de la calidad del aire. *CINEA (eds.)*, 87-94.
- Lee, S. H. (2020). Review on Characteristics and Monitoring of Particulate Matter Emitted from Mining Operation. *J. Korean Soc. Miner. Energy Resour.*,57: 234-242.
- Lieber, W. (2000). Einmalige Tropfsteinbildungen aus Argentinien: Rhodochrosit-Stalaktiten. *Lapis*, 11: 13-20.
- Lin, C. H., Chen, B. S., Yu, C. W., & Chiang, S. W. (2001). A water-based triphenyltetrazolium chloride method for the evaluation of green plant tissue viability. *Phytochemical analysis*, 12(3): 211-213.
- Loppi, S., Pacioni, G., Olivieri, N., & Di Giacomo, F. (1998). Accumulation of trace metals in the lichen *Evernia prunastri* transplanted at biomonitoring sites in central Italy. *Bryologist*, 451-454.
- Loppi, S., Ivanov, D., & Boccardi, R. (2002a). Biodiversity of epiphytic lichens and air pollution in the town of Siena (Central Italy). *Environmental Pollution*, 116(1): 123–128.
- Loppi, S., Giordani, P., Brunialti, G., Isocrono, D., & Piervittori, R. (2002b). Identifying deviations from naturalness of lichen diversity for bioindication purposes. *In Monitoring with lichens—monitoring lichens* (pp. 281-284). Springer, Dordrecht.
- Lücking, R., & Matzer, M. (2001). High foliicolous lichen alpha-diversity on individual leaves in Costa Rica and Amazonian Ecuador. *Biodiversity & Conservation*, 10(12): 2139-2152.
- Lücking, R., Dal-Forno, M., Sikaroodi, M., Gillevet, P. M., Bungartz, F., Moncada, B., Yanez-Ayabaca, A., Chaves, J. L., Coca, L. F., & Lawrey, J. D. (2014). A single macrolichen constitutes hundreds of unrecognized species. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(30): 11091–11096.
- Lücking, R., Hodkinson, B. P., & Leavitt, S. D. (2017). The 2016 classification of lichenized fungi in the Ascomycota and Basidiomycota—Approaching one thousand genera. *The Bryologist*, 119(4): 361-416.

- Manojlović, N., Ranković, B., Kosanić, M., Vasiljević, P., & Stanojković, T. (2012). Chemical composition of three *Parmelia* lichens and antioxidant, antimicrobial and cytotoxic activities of some their major metabolites. *Phytomedicine*, 19(13): 1166-1172.
- Marié, D. C., Chaparro, M. A., Irurzun, M. A., Lavornia, J. M., Marinelli, C., Cepeda, R., Böhnelt, H. N., Castañeda-Miranda, A. G., & Sinito, A. M. (2016). Magnetic monitoring of air pollution in Tandil city using the lichen *Parmotrema Pilosum* as bioindicator. *Atmospheric Pollution Research*
- Marié, D. C., Chaparro, M. A., Lavornia, J. M., Sinito, A. M., Castañeda Miranda, A. G., Gargiulo, J. D., Chaparro, M. A., & Böhnelt, H. N. (2018). Atmospheric pollution assessed by in situ measurement of magnetic susceptibility on lichens. *Ecological Indicators*, 95: 831-840.
- Marié, D. C.; Chaparro, M. A., Sinito, A. M., & Lavat, A. (2020). Magnetic biomonitoring of airborne particles using lichen transplants over controlled exposure periods. *SN Appl. Sci.* 2: 104.
- Markert, B. (1992). Presence and significance of naturally occurring chemical elements of the periodic system in the plant organism and consequences for future investigations on inorganic environmental chemistry in ecosystems. *Vegetatio*, 103(1): 1-30.
- Márquez-Zavalía, M. F. (2002). Minas Capillitas, un depósito epitermal del noroeste argentino. *En IANIGLA, 30 Años de investigación básica y aplicada en ciencias ambientales*, editado por D. T. Trombotto y R. Villalba, pp. 249-253. Instituto Argentino de Nivología, Glaciología y Ciencias Ambientales, Mendoza.
- Márquez-Zavalía M. F. (2008). La rodocrosita de Mina Capillitas “Piedra” Nacional Argentina – Rosa del Inca. Sitios de Interés Geológico de la República Argentina. *In: CSIGA (ed) Instituto de Geología y Recursos Minerales. Servicio Geológico Minero Argentino - SEGEMAR. Anales* 46(I):85-98.
- Mateos, A. C., & Gonzalez, C. M. (2016). Physiological response and sulfur accumulation in the biomonitor *Ramalina celastri* in relation to the concentrations of SO₂ and NO₂ in urban environments. *Microchemical Journal*, 125: 116-123.

- McCune, B., & Mefford, M. J. (1999). PC-ORD: multivariate analysis of ecological data; Version 4 for Windows. *MjM software design*.
- McCune, B., Grace, J. B., & Urban, D. L. (2002). Analysis of ecological communities (Vol. 28). Glenden Beach, OR: *MjM software design*.
- Mikhaylov, A. (2020). Lichens as indicators of atmospheric pollution in urban ecosystems. *Israel Journal of Ecology and Evolution*, 67(1-2): 60-68.
- Mikhailova, I. (2002). Transplanted lichens for bioaccumulation studies. *In Monitoring with lichens—monitoring lichens* (pp. 301-304). Springer, Dordrecht.
- Mikkelsen, T. N., Dodell, B., & Lütz, C. (1995). Changes in pigment concentration and composition in Norway spruce induced by long-term exposure to low levels of ozone. *Environmental Pollution*, 87(2): 197-205.
- Mohaded Aybar, C. B., Ocampo, A. I., Villegas, R. L., & Cañas, M. S. (2008). Comparación de la respuesta química de dos especies liquénicas transplantadas a la región minera del oeste de Catamarca. *Investigaciones En Facultades de Ingeniería Del NOA*, 1(3): 71-75.
- Mohaded, C. B., Ocampo, A. I., Palomeque, L. I., & Cañas, M. S. (2010). Determinación del contenido de azufre y un índice de polución en dos especies liquénicas transplantadas a la región minera del oeste de Catamarca. *Investigaciones En Facultades de Ingeniería Del NOA*, 201-205.
- Mohaded, C. B., Jasan, R. C., Ocampo, A. I., Moyano, R. G., Coronel, R. J., Plá, R. R., & Cañas, M. S. (2011). Evaluación de la calidad del aire a través de la composición multielemental del liquen Parmotrema austrosinense transplantado a la zona minera del oeste de Catamarca (Argentina). *Actas Del 7º Encuentro Del “International Center of Earth Sciences”*, E-ICES 7, 215-221.
- Monaci, F., Moni, F., Lanciotti, E., Grechi, D., & Bargagli, R. (2000). Biomonitoring of airborne metals in urban environments: new tracers of vehicle emission, in place of lead. *Environmental Pollution*, 107(3): 321-327.

- Morlans, M.C. (1995). Regiones naturales de Catamarca: Provincias Geológicas y Provincias Fitogeográficas. *Revista de Ciencia y Técnica UNCa* 2(2): 1-42.
- Morláns, M. C. (2005). Introducción a la Ecología del Paisaje. Área ecológica. Catamarca: *Editorial Científica Universitaria*, Universidad Nacional de Catamarca.
- Mugai, E. N., Agong, S. G., & Matsumoto, H. (2000). Aluminium tolerance mechanisms in *Phaseolus vulgaris* L.: citrate synthase activity and TTC reduction are well correlated with citrate secretion. *Soil Science and Plant Nutrition*, 46(4): 939-950.
- Nash, T. H., & Gries, C. (2002). Lichens as bioindicators of sulfur dioxide. *Symbiosis*, 33: 1-21.
- Nash III, T. H. (2008a). Lichen sensitivity to air pollution. In T. H. Nash (Ed.), *Lichen Biology* (pp. 299–314). Cambridge University Press.
- Nash III, T. H. (2008b). Nutrients, elemental accumulation, and mineral cycling. In T. H. Nash (Ed.), *Lichen Biology* (pp. 234–251). Cambridge University Press.
- Nguyen, K. H., Chollet-Krugler, M., Gouault, N., & Tomasi, S. (2013). UV-protectant metabolites from lichens and their symbiotic partners. *Natural product reports*, 30(12): 1490-1508.
- Nimis P. L., Scheidegger C., & Wolseley P. A. (2002). Monitoring with Lichens — Monitoring Lichens. In P. L. Nimis, C. Scheidegger, & P. A. Wolseley (Eds.), *The Bryologist*, 105(3). Springer Netherlands.
- Nordstrom, D. K. (2011). Hydrogeochemical processes governing the origin, transport and fate of major and trace elements from mine wastes and mineralized rock to surface waters. *Applied Geochemistry*, 26(11): 1777-1791.
- Ocampo, A. I., Jasan, R. C., Mohaded Aybar, C. B., Palomeque, L. I., Plá, R. R., & Cañas, M. (2009). Análisis de la variabilidad químico-fisiológica de *Parmotrema austrosinense* transplantada a Belén (Catamarca). *Investigaciones en Facultades de Ingeniería del NOA*. V Jornadas de Ciencia y Tecnología de las Facultades de Ingeniería del NOAA, 1 (3): 1-5.

- Palmqvist, K., & Sundberg, B. (2000). Light use efficiency of dry matter gain in five macro-lichens: relative impact of microclimate conditions and species-specific traits. *Plant, Cell & Environment*, 23(1) 1-14.
- Palmqvist, K., Dahlman, L., Jonsson, A., & Nash, T. H. (2008). The carbon economy of lichens. In *Lichen Biology, Second Edition* (pp. 182–215). Cambridge University Press.
- Palomeque, L. I., Jasan, R. C., Ocampo, A. I., Mohaded Aybar, C. B., Fuentes, G. D. C., Moyano, R. G., ... & Cañas, M. S. (2007). Análisis preliminar de las respuesta química y fisiológica de *P. austrosinense* transplantada a un área del oeste catamarqueño. *Investigaciones en Facultades de Ingeniería del NOA*, SM de Tucumán, 6: 41-46.
- Palomeque, L. I. (2008). Evaluación de la calidad del aire en el centro-oeste catamarqueño (Belén) mediante el empleo de líquenes como biomonitores, Tesis de Maestría en Conservación y Gestión Ambiental, Universidad Nacional de Catamarca.
- Paoli, H. P. (2003). Aprovechamiento de los recursos hídricos y tecnología de riego en el altiplano Argentino. Recursos Hídricos de la Puna, Valles y Bolsones Áridos del Noroeste Argentino. EEA-INTA Salta.
- Paoli, L., Pisani, T., Guttová, A., Sardella, G., & Loppi, S. (2011). Physiological and chemical response of lichens transplanted in and around an industrial area of south Italy: relationship with the lichen diversity. *Ecotoxicology and environmental safety*, 74(4): 650-657.
- Paoli, L., Munzi, S., Guttová, A., Senko, D., Sardella, G., & Loppi, S. (2015). Lichens as suitable indicators of the biological effects of atmospheric pollutants around a municipal solid waste incinerator (S Italy). *Ecological Indicators*, 52: 362-370.
- Perazzo, A., & Rodríguez, J. (2019). Impacto del fuego sobre la vegetación no vascular del suelo: un caso de estudio en los bosques de *Polylepis australis* (Rosaceae) del centro de Argentina. *Lilloa*, 56(2): 67-80.
- Perea M. V. (2011). Relevamiento de Cactáceas en la provincia de Catamarca. *Consejo Fed. De Inversiones*, Buenos Aires, Argentina. 198 pp.

- Perélló, J., Rojas, N., Devaux, C., Fava, L., Etchart, E. y Harman, P., 1998. Discovery of the Agua Rica porphyry CuMo-Au deposit, Catamarca Province, northwestern Argentina, Part II: Geology, in Porter, T. M. (ed.) *Porphyry and hydrothermal copper and gold deposits, a global perspective: Glenside, South Australia, Australian Mineral Foundation*, Symposium, Perth, Western Australia, p. 117-132.
- Petrova, S. P., Yurukova, L. D., & Velcheva, I. G. (2015). Lichen bags as a biomonitoring technique in an urban area. *Appl Ecol Environ Res*, 13: 915-923.
- Pignata, M. L., Gudiño, G. L., Wannaz, E. D., Plá, R. R., González, C. M., Carreras, H. A., & Orellana, L. (2002). Atmospheric quality and distribution of heavy metals in Argentina employing *Tillandsia capillaris* as a biomonitor. *Environmental Pollution*, 120(1): 59-68.
- Pignata, M. L., González, C. M., Wannaz, E. D., Carreras, H. A., Gudiño, G. L., & Martínez, M. S. (2004). Biomonitoring of air quality employing in situ *Ramalina celastri* in Argentina. *International Journal of Environment and Pollution*, 22(4): 409-429.
- Pignata, M. L., Pla, R. R., Jasan, R. C., Martinez, M. S., Rodríguez, J. H., Wannaz, E. D., Gudino, G. L., Carreras, H. A., & Gonzalez, C. M. (2007). Distribution of atmospheric trace elements and assesment of air quality in Argentina employing the lichen, *Ramalina celastri*, as a passive biomonitor: detection of air pollution emission sources. *International Journal of Environment and Health*, 1(1): 29.
- Pinho, P., Augusto, S., Branquinho, C., Bio, A., Pereira, M. J., Soares, A., & Catarino, F. (2004). Mapping Lichen Diversity as a First Step for Air Quality Assessment. *Journal of Atmospheric Chemistry*, 49(1-3): 377-389.
- Pintado, A., Sancho, L. G., Green, T. A., Blanquer, J. M., & Lázaro, R. (2005). Functional ecology of the biological soil crust in semiarid SE Spain: sun and shade populations of *Diploschistes diacapsis* (Ach.) Lumbsch. *The Lichenologist*, 37(5): 425-432.
- Pirintsos, S. A., Paoli, L., Loppi, S., & Kotzabasis, K. (2011). Photosynthetic performance of lichen transplants as early indicator of climatic stress along an altitudinal gradient in the arid Mediterranean area. *Climatic change*, 107(3): 305-328.

- Port, R. K., Käffer, M. I., & Schmitt, J. L. (2018). Morphophysiological variation and metal concentration in the thallus of *Parmotrema tinctorum* (Despr. ex Nyl.) Hale between urban and forest areas in the subtropical region of Brazil. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(33): 33667-33677.
- Proffett, J. M. (2003). Geology of the Bajo la Alumbreira porphyry copper-gold deposit, Argentina. *Economic Geology*, 98(8): 1535-1574.
- Ra, H. S., Geiser, L.H., & Crang, R. F. (2005). Effects of season and low-level air pollution on physiology and element content of lichens from the U.S. Pacific Northwest, *Science of the Total Environment* 343: 155-167.
- Ramos, V. A. (1999). Las provincias geológicas del territorio argentino. *Geología Argentina*, 29(3): 41-96.
- Rankama, K., & Sahama, T. G. (1954). *Geoquímica*, Aguilar, Madrid.
- Rankovic, B., Rankovic, D., & Maric, D. (2010a). Antioxidant and antimicrobial activity of some lichen species. *Microbiology*, 79(6): 809-815.
- Rankovic, B., Rankovic, D., Kosanic, M., & Maric, D. (2010b). Antioxidant and antimicrobial properties of the lichens *Anaptychia ciliaris*, *Nephroma parile*, *Ochrolechia tartarea* and *Parmelia centrifuga*. *Central European Journal of Biology*, 5(5): 649-655.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, 26(9-10): 1231-1237.
- Rodríguez, J. M., Estrabou, C., Fenoglio, R., Robbiati, F., Salas, M. C., & Quiroga, G. (2009). Recuperación post-fuego de la comunidad de líquenes epífitos en la provincia de Córdoba, Argentina. *Acta Botanica Brasilica*, 23(3): 854-859.
- Rodríguez, J. M., Hernandez, J. M., Filippini, E., Cañas, M., & Estrabou, C. (2016). Nuevas citas de macrolíquenes para Argentina y ampliaciones de distribución en el centro del país. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 51(3): 405-417.
- Rodríguez, J. M., Renison, D., Filippini, E., & Estrabou, C. (2017). Small shifts in

- microsite occupation could mitigate climate change consequences for mountain top endemics: a test analyzing saxicolous lichen distribution patterns. *Biodiversity and Conservation*, 26(5): 1199-1215.
- Rojas, N., Perélló, J., Harman, P., Cabello, J., Devaux, C., Fava, L., & Etchart E. (1998). Discovery of the Agua Rica porphyry Cu–Mo–Au deposit, Catamarca province, northwestern Argentina, Part I: exploration and discovery. *Australian Mineral Foundation Symposium, Perth, Western Australia, Proceedings*, pp 111–117.
- Root, H. T., Geiser, L. H., Jovan, S., & Neitlich, P. (2015). Epiphytic macrolichen indication of air quality and climate in interior forested mountains of the Pacific Northwest, USA. *Ecological Indicators*, 53: 95-105.
- Ruf, M., & Brunner, I. (2003). Vitality of tree fine roots: reevaluation of the tetrazolium test. *Tree physiology*, 23(4): 257-263.
- Sasikumar, J. M., Mathew, G. M., & Teepica, P. D. (2010). Comparative studies on antioxidant activity of methanol extract and flavonoid fraction of *Nyctanthesarbortristis* leaves. *Electron J Environ Agric Food Chem*, 9: 227-233.
- Sasso A. M. (1997). Geological evolution and metallogenetic relationships of the Farallón Negro Volcanic Complex, NW Argentina. Thesis, Queen's University, Kingston, 842 p (unpublished).
- Sasso, A. M.; Clarck, A. H. (1998). El grupo Farallón Negro: evolución magmática, hidrotermal y tectónica e implicancias para la metalogenia de cobre-oro en el retroarco andino, Catamarca.
- Scheidegger, U., Groner, C., & Keller, S. (2002). Biodiversity Assessment Tools — Lichens. In *Monitoring with Lichens - Monitoring Lichens*, Pier Luigi Nimis, Christoph Scheidegger, Patricia A. Wolseley. *NATO Science*, 4: 359-365.
- Scutari, N. C. (1992). Estudios sobre Pyxinaceae foliosas (Lecanorales, Ascomycotina) de la Argentina, IV: Claves de los géneros y las especies de la provincia de Buenos Aires. *Médula*, 3(4).

- Silva, J. A., Bomfim, R. R., Estevam, C. S., Antonioli, A. R., Araújo, A. A., & Thomazzi, S. M. (2010). Pharmacological properties of lichen *Cladonia clathrata*. *Pharm Biol*, 48:745-752.
- Seggiaro, R. E., Caffè, P. J., Becchio, R. A., Galli, C. I., Arnosio, J. M., & Da Poián, G. (2014). Evolución tectónica andina entre las sierras de Hualfín, Capillitas y extremo sur de Aconquija, provincia de Catamarca. Recursos Minerales de la República Argentina (Ed. E. O. Zappettini), Instituto de Geología y Recursos Minerales, SEGEMAR, *Anales*, 35: 1437-1450.
- Slinkard, K., & Singleton, V. L. (1977). Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. *American journal of enology and viticulture*, 28(1), 49-55.
- Solhaug, K. A., & Gauslaa, Y. (2004). Photosynthates stimulate the UV-B induced fungal anthraquinone synthesis in the foliose lichen *Xanthoria parietina*. *Plant, Cell & Environment*, 27(2): 167-176.
- Sorbo, S., Aprile, G., Strumia, S., Cobianchi, R. C., Leone, A., & Basile, A. (2008). Trace element accumulation in *Pseudevernia furfuracea* (L.) Zopf exposed in Italy's so called Triangle of Death. *Science of the Total Environment*, 407(1): 647-654.
- Soriano A, Pallarés S, Pardo F, Vicente A B, Sanfeliu T, Bech J (2012). Deposition of heavy metals from particulate settleable matter in soils of an industrialised area. *Journal of Geochemical Exploration*, 113: 36-44.
- Steinnes, E. (1989). Biomonitoring of Air Pollution by Heavy Metals. In *Control and Fate of Atmospheric Trace Metals* (pp. 321–338). Springer Netherlands.
- Syers, J. K., & Iskandar, I. K. (1973). Pedogenetic significance of lichens. In *The Lichens* (pp. 225–248).
- Takács, Z., Csintalan, Z., & Tuba, Z. (1999). Responses of the lichen *Cladonia convoluta* to high CO₂ level and heavy metal treatment. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 54(9-10): 797-801.

- Towill, L. E., & Mazur, P. (1975). Studies on the reduction of 2, 3, 5-triphenyltetrazolium chloride as a viability assay for plant tissue cultures. *Canadian Journal of Botany*, 53(11): 1097-1102.
- Tretiach, M., Adamo, P., Bargagli, R., Baruffo, L., Carletti, L., Crisafulli, P., ... & Pittao, E. (2007). Lichen and moss bags as monitoring devices in urban areas. Part I: Influence of exposure on sample vitality. *Environmental Pollution*, 146(2): 380-391.
- Turton, H. E., Dawes, I. W., & Grant, C. M. (1997). *Saccharomyces cerevisiae* exhibits a yAP-1-mediated adaptive response to malondialdehyde. *Journal of bacteriology*, 179(4): 1096-1101.
- Ulrich, T., & Heinrich, C. A. (2002). Geology and alteration geochemistry of the porphyry Cu-Au deposit at Bajo la Alumbreira, Argentina. *Economic Geology*, 97(8): 1865-1888.
- Ulrich, T., Günther, D., & Heinrich, C. A. (2002). The evolution of a porphyry Cu-Au deposit, based on LA-ICP-MS analysis of fluid inclusions: Bajo la Alumbreira, Argentina. *Economic Geology*, 97(8): 1889-1920.
- van Ek, R., & Draaijers, G. P. J. (1991). Atmospheric deposition in relation to forest stand structure. *IRO report*, 1991-01 AD, Department of Physical Geography, Utrecht, The Netherlands, p. 97.
- Velasco, P. (1999). The mineral industry of Argentina. In *Minerals Yearbook, Volume III. Area Reports: International 1997, Latin America and Canada, B1-B11*. US Department of the Interior, US geological Survey Washington.
- Vetaas, O. R., Paudel, K. P., & Christensen, M. (2019). Principal factors controlling biodiversity along an elevation gradient: Water, energy and their interaction. *Journal of Biogeography*, 46(8): 1652-1663.
- Vieira, B. J., Freitas, M. C., & Wolterbeek, H. T. (2017). Vitality assessment of exposed lichens along different altitudes. Influence of weather conditions. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(13): 11991-11997.
- Vittoz, P., Bayfield, N., Brooker, R., Elston, D. A., Duff, E. I., Theurillat, J. P., &

- Guisan, A. (2010). Reproducibility of species lists, visual cover estimates and frequency methods for recording high-mountain vegetation. *Journal of Vegetation Science*, 21(6): 1035-1047.
- von Arb, C., Mueller, C., Ammann, K., & Brunold, C. (1990). Lichen physiology and air pollution: II. Statistical analysis of the correlation between SO₂, NO₂, NO and O₃, and chlorophyll content, net photosynthesis, sulphate uptake and protein synthesis of *Parmelia sulcata* Taylor. *New Phytologist*, 115(3): 431-437.
- von Arb, C. V., & Brunold, C. (1990). Lichen physiology and air pollution. I. Physiological responses of in situ *Parmelia sulcata* among air pollution zones within Biel, Switzerland. *Canadian Journal of Botany*, 68(1): 35-42.
- Wannaz, E. D., Carreras, H. A., Pérez, C. A., & Pignata, M. L. (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(1-3), 267-278.
- Weissman, L., Fraiberg, M., Shine, L., Garty, J., & Hochman, A. (2006). Responses of antioxidants in the lichen *Ramalina lacera* may serve as an early-warning bioindicator system for the detection of air pollution stress. *FEMS Microbiology Ecology*, 58(1): 41-53.
- Westberg, M., Frödén, P., & Wedin, M. (2009). A monograph of the genus *Placomaronea* (Ascomycota, Candelariales). *The Lichenologist*, 41(5): 513-527.
- White, F. J., & James, P. W. (1985). A new guide to microchemical techniques for the identification of lichen substances. *British Lichen Soc. Bull.* 57: 1-41.
- Wolterbeek, H. T., Bode, P., & Verburg, T. G. (1996). Assessing the quality of biomonitoring via signal-to-noise ratio analysis. *Science of the total environment*, 180(2): 107-116.
- World Health Organization. (2006). *Air quality guidelines: global update 2005: particulate matter, ozone, nitrogen dioxide, and sulfur dioxide*. World Health Organization.
- Xstrata Copper-Minera Alubrera. (2011). *Minera Alubrera. Informe de*

sostenibilidad 2011. *Xstrata Copper*, Ed. Chiappini + Becker Comunicación Visual, Buenos Aires, 87p. <http://www.alumbrera.com.ar/files/informes/Informe-Sostenibilidad-2011.pdf>

Xstrata Copper-Minera Alumbrera. (2015). Minera Alumbrera. Informe de sostenibilidad 2015. *Xstrata Copper*, Ed. Chiappini + Becker Comunicación Visual, Buenos Aires, 122p. http://www.alumbrera.com.ar/files/informes/informe_alumbrera_2015_04082016.pdf.

Yadav, S., Kumar, A., Raj, H., & Bora, H. R. (2018). Lichen diversity in coal mining affected areas of Makum coalfield, Magherita, Assam. *Tropical Plant Research*, 5(2): 243-249.

Zambrano García, A., Nash, T. H., & Herrera-Campos, M. A. (2000). Lichen decline in Desierto de los Leones (Mexico City). *Bryologist*, 103(3), 428–441.

Anexo

Tabla A-2.1. Valores del contenido elemental (mg/gPS) medido en *P. hypoleucites* correspondientes a los sitios de muestreo de la CRP. n: 2.

	Sitios							
	P2		P4		P5		P7	
As	1,38	1,27	2,24	2,26	2,07	2,14	2,02	1,53
Ba	29,2	28,1	41,9	37,5	46,0	41,0	46,0	35,5
Br	3,09	3,07	3,43	3,44	3,99	3,78	3,67	3,55
Ca	27656	29283	46788	49047	33075	32647	47354	39765
Ce	5,00	5,48	6,87	6,67	8,51	7,20	6,96	6,15
Co	0,671	0,679	0,927	0,870	1,053	0,986	0,959	0,785
Cr	3,10	3,62	4,45	4,37	4,80	4,62	4,68	3,86
Cs	0,75	0,80	1,06	1,07	1,28	1,20	1,26	1,05
Eu	0,08	0,09	0,11	0,11	0,13	0,12	0,11	0,10
Fe	1884	1950	2732	2620	3182	2966	2586	2363
Hf	0,234	0,256	0,371	0,351	0,416	0,411	0,495	0,402
La	2,50	2,66	3,49	3,33	4,24	3,68	3,46	3,06
Lu	0,032	0,031	0,048	0,044	0,049	0,045	0,047	0,040
Na	961	958	1072	1036	1402	1317	1208	1246
Nd	3,89	2,90	2,27	2,29	4,18	3,20	3,03	3,16
Rb	10,5	11,4	13,6	13,2	16,5	15,4	13,0	12,0
Sb	0,078	0,065	0,094	0,108	0,116	0,101	0,109	0,088
Sc	0,669	0,698	0,934	0,920	1,122	1,051	0,958	0,840
Sm	0,478	0,505	0,679	0,650	0,786	0,693	0,760	0,579
Sr	110,0	67,4	63,4	66,1	75,0	75,0	66,0	63,5
Ta	0,080	0,078	0,110	0,108	0,132	0,135	0,121	0,110
Th	0,692	0,790	0,994	1,043	1,319	1,149	1,208	1,219
U	0,254	0,345	0,452	0,409	0,414	0,389	0,588	0,359
Yb	0,174	0,209	0,267	0,254	0,291	0,284	0,288	0,239
Zn	21,91	23,64	23,77	25,28	23,44	21,84	19,03	20,52

Tabla A-2.2. Valores del contenido elemental (mg/gPS) medido en *P. hypoleucites* correspondientes a los sitios de muestreo de la CRV. n: 2.

	Sitios							
	V2		V5		V6		V8	
As	2,76	3,26	2,96	2,43	2,45	2,73	3,73	3,43
Ba	34,9	36,4	46,0	35,2	37,2	39,2	82,2	63,4
Br	6,58	7,41	5,27	4,45	5,42	5,85	6,92	6,37
Ca	16200	16200	17900	17800	28400	33300	53200	57300
Ce	11,32	12,52	11,97	10,61	9,97	11,46	16,69	14,83
Co	1,04	1,21	1,50	1,12	1,09	1,29	2,20	1,95
Cr	4,44	4,84	6,97	4,90	4,44	5,63	9,74	8,41
Cs	1,34	1,56	1,66	1,27	1,19	1,45	2,68	2,20
Eu	0,200	0,210	0,190	0,151	0,166	0,187	0,269	0,236
Fe	3017	3520	4096	3148	3081	3698	6760	5760
Hf	0,379	0,462	0,677	0,496	0,474	0,562	1,21	0,946
La	5,66	6,13	6,00	5,28	5,11	6,06	8,69	7,60
Lu	0,060	0,068	0,074	0,059	0,061	0,070	0,113	0,092
Na	1061	1234	1800	1301	1161	1550	3240	2440
Rb	12,5	14,1	17,5	12,9	11,4	14,4	25,9	21,4
Sb	0,176	0,209	0,170	0,139	0,129	0,174	0,240	0,216
Sc	1,07	1,23	1,45	1,12	1,06	1,30	2,36	1,99
Se	0,410	0,460	0,544	0,449	0,371	0,416	0,726	0,615
Sm	1,17	1,27	1,26	1,09	0,92	1,05	1,56	1,39
Ta	0,138	0,165	0,195	0,145	0,124	0,166	0,319	0,256
Tb	0,176	0,163	0,174	0,155	0,119	0,122	0,168	0,148
Th	1,37	1,61	1,84	1,51	1,36	1,79	3,01	2,74
U	0,482	0,552	0,679	0,529	0,457	0,623	1,10	0,972
Yb	0,379	0,418	0,465	0,390	0,368	0,368	0,602	0,492
Zn	35,4	39,3	30,4	25,5	27,9	31,4	37,1	35,1

Tabla A-2.3. Valores del contenido elemental (mg/gPS) medido en *P. reticulatum* correspondientes a los sitios de muestreo de la CAC. n: 2.

	Sitios							
	C1		C2		C3		C4	
As	6,690	6,886	7,346	9,601	5,768	5,651	9,229	6,933
Ba	93,2	95,0	72,2	83,2	82,5	85,2	72,8	62,4
Br	14,3	15,6	13,9	16,2	15,4	15,2	11,9	9,6
Ca	6905	7768	6299	7494	6020	6348	6717	5726
Ce	31,7	25,7	20,9	26,1	25,9	25,8	24,4	17,0
Co	3,42	3,45	2,23	2,96	2,58	2,78	2,09	1,81
Cr	14,40	14,03	9,14	10,85	11,26	11,54	7,25	6,07
Cs	5,676	5,903	3,541	4,893	4,564	4,919	2,654	2,363
Eu	0,511	0,500	0,387	0,480	0,475	0,474	0,343	0,292
Fe	8696	8955	5522	7179	6906	7322	4906	4195
Gd	4,05	3,58	2,57	2,58	2,49	2,04	1,71	1,07
Hf	1,32	1,25	0,79	0,92	1,04	1,12	0,689	0,566
La	16,2	13,9	11,3	12,7	13,1	12,4	11,8	8,6
Lu	0,167	0,178	0,134	0,160	0,174	0,163	0,120	0,099
Na	3107	3183	1825	2574	2178	2266	1597	1365
Rb	45,0	44,4	26,0	34,0	36,3	38,0	26,0	21,3
Sb	0,561	0,602	0,562	0,738	0,591	0,592	0,968	0,736
Sc	2,86	2,98	1,93	2,34	2,35	2,46	1,63	1,39
Se	1,15	1,02	0,766	0,842	0,801	0,936	0,579	0,491
Sm	3,88	3,52	3,00	3,47	3,69	3,53	3,02	1,69
Ta	0,403	0,468	0,284	0,328	0,354	0,350	0,221	0,192
Tb	0,408	0,409	0,355	0,479	0,421	0,448	0,376	0,308
Th	4,63	3,86	2,71	3,14	3,53	3,55	3,55	1,92
U	2,45	2,40	1,62	1,98	2,40	2,45	1,76	1,13
Yb	0,909	1,04	0,806	0,940	0,985	0,959	0,664	0,594
Zn	83,5	86,0	77,2	85,3	55,7	53,5	70,8	69,3

Tabla A-3.1. Media (D.E.) del contenido elemental (mg/gPS) medido en *P. hypoleucites* en la muestra control y en las muestras trasplantadas a los sitios ubicados en Bajo la Alumbraera y a los sitios ubicados fuera de mina (sitio testigo y las localidades Amanao, Los Nacimientos y Hualfín).

	Sitios					
	C	T	E1	E3	E4	E5
As	4,1 (0,2)	4,7 (0,3)	3,9 (0,4)	4,3 (0,5)	3,5 (0,3)	3,8 (0,3)
Br	5,5 (0,2)	5,3 (0,2)	6,5 (0,5)	6,5 (0,7)	6,7 (1,3)	5,8 (1,7)
Ca	44767 (2479)	49533 (7292)	54933 (1021)	44933 (1002)	49567 (2369)	56233 (5843)
Ce	14,5 (1,6)	18,5 (1,5)	15,8 (2,1)	16,0 (2,5)	13,2 (1,3)	15,6 (0,3)
Co	1,6 (0,1)	2,2 (0,2)	2,1 (0,3)	2,1 (0,4)	1,68 (0,09)	1,90 (0,05)
Cr	36 (3)	54 (17)	45 (8)	49 (18)	17 (5)	35 (6)
Cs	1,7 (0,2)	2,2 (0,2)	2,1 (0,3)	2,2 (0,4)	1,9 (0,1)	2,16 (0,02)
Eu	0,19 (0,02)	0,27 (0,01)	0,25 (0,03)	0,25 (0,03)	0,20 (0,01)	0,23 (0,01)
Fe	4606 (466)	6153 (463)	5735 (678)	5888 (1026)	4571 (342)	5236 (99)
Hf	0,76 (0,14)	0,98 (0,05)	0,86 (0,15)	0,86 (0,17)	0,73 (0,07)	0,84 (0,05)
La	6,4 (1,0)	8,9 (0,3)	8,1 (1,0)	8,1 (1,5)	6,7 (0,8)	7,5 (0,4)
Lu	0,08 (0,01)	0,10 (0,01)	0,09 (0,01)	0,09 (0,02)	0,08 (0,01)	0,09 (0,01)
Na	1747 (225)	1963 (70)	2870 (362)	2233 (372)	2043 (140)	1757 (55)
Rb	18,4 (2,2)	23,7 (1,4)	23,6 (2,7)	23,5 (3,8)	17,0 (1,0)	19,7 (0,4)
Sb	0,18 (0,02)	0,20 (0,01)	0,26 (0,05)	0,24 (0,03)	0,21 (0,03)	0,18 (0,01)
Sc	1,6 (0,2)	2,2 (0,1)	2,0 (0,3)	2,0 (0,3)	1,6 (0,2)	1,86 (0,03)
Se	0,55 (0,01)	0,71 (0,04)	0,58 (0,08)	0,61 (0,08)	0,58 (0,07)	0,66 (0,02)
Sm	1,2 (0,2)	1,81 (0,04)	1,5 (0,2)	1,5 (0,2)	1,3 (0,1)	1,55 (0,08)
Sr	90 (9)	118 (7)	99 (7)	99 (8)	84 (11)	96 (14)
Ta	0,21 (0,04)	0,27 (0,02)	0,23 (0,03)	0,24 (0,05)	0,21 (0,01)	0,25 (0,01)
Tb	0,18 (0,02)	0,23 (0,02)	0,17 (0,02)	0,18 (0,03)	0,18 (0,02)	0,22 (0,02)
Th	2,14 (0,31)	2,91 (0,18)	2,44 (0,42)	2,60 (0,61)	2,08 (0,24)	2,44 (0,04)
U	0,89 (0,11)	1,27 (0,08)	0,94 (0,13)	1,03 (0,18)	0,85 (0,09)	0,98 (0,03)
Yb	0,45 (0,05)	0,61 (0,02)	0,57 (0,07)	0,59 (0,09)	0,45 (0,03)	0,49 (0,06)
Zn	39,4 (2,2)	43,0 (1,0)	42,3 (3,3)	40,4 (4,1)	41,4 (3,7)	38,6 (0,4)
Cu	8,5 (2,6)	8,7 (3,7)	35,8 (5,7)	11,2 (1,3)	13,6 (2,0)	9,3 (1,3)
Mo	0,83 (0,20)	0,87 (0,25)	4,9 (1,4)	1,38 (0,20)	2,06 (0,37)	0,99 (0,15)
Pb	2,9 (1,2)	5,0 (2,1)	4,6 (0,8)	4,1 (0,2)	4,2 (0,5)	5,8 (1,7)
Mn	58 (9)	77 (13)	80 (4)	75 (2)	76 (2)	72 (11)
Cd	0,37 (0,16)	0,61 (0,25)	0,56 (0,09)	0,34 (0,04)	0,34 (0,04)	0,27 (0,05)
S	1979 (34)	1668 (24)	1954 (177)	1720 (89)	1669 (142)	1344 (90)

Tabla A-3.1. (Continuación)

	Sitios				
	E6-B	E7	E8	E9	E10
As	3,8 (0,5)	3,7 (0,1)	4,9 (0,1)	4,9 (0,8)	4,9 (0,6)
Br	7,4 (0,7)	8,1 (0,4)	6,5 (0,5)	-	-
Ca	53800 (4484)	53133 (7427)	53667 (2802)	60633 (10881)	66833 (6592)
Ce	15,6 (1,3)	14,7 (0,7)	18,9 (0,5)	17,9 (3,4)	17,4 (1,2)
Co	1,94 (0,22)	1,84 (0,06)	2,39 (0,16)	2,17 (0,36)	2,18 (0,14)
Cr	47 (24)	37 (4)	66 (34)	55 (32)	55 (13)
Cs	2,05 (0,36)	1,87 (0,06)	2,46 (0,07)	2,43 (0,37)	2,45 (0,14)
Eu	0,24 (0,02)	0,24 (0,01)	0,30 (0,03)	0,26 (0,05)	0,26 (0,01)
Fe	5447 (850)	5188 (97)	6757 (511)	6118 (1567)	5801 (424)
Hf	0,94 (0,15)	0,90 (0,03)	1,14 (0,15)	1,00 (0,31)	0,89 (0,04)
La	7,5 (0,6)	6,7 (0,5)	9,1 (0,4)	8,6 (1,8)	8,3 (0,6)
Lu	0,090 (0,003)	0,080 (0,002)	0,100 (0,010)	0,120 (0,030)	0,100 (0,003)
Na	2153 (430)	1837 (204)	2825 (50)	-	-
Rb	20,1 (4,0)	17,7 (0,5)	24,5 (0,7)	26,7 (8,5)	24,4 (1,4)
Sb	0,23 (0,05)	0,19 (0,02)	0,29 (0,03)	-	-
Sc	1,91 (0,26)	1,83 (0,04)	2,31 (0,13)	2,16 (0,50)	2,06 (0,13)
Se	0,61 (0,08)	0,54 (0,05)	0,72 (0,01)	0,82 (0,17)	0,74 (0,05)
Sm	1,38 (0,19)	1,23 (0,04)	1,82 (0,29)	2,19 (0,49)	2,08 (0,15)
Sr	88 (12)	93 (3)	117 (6)	123 (24)	132 (16)
Ta	0,24 (0,05)	0,21 (0,01)	0,28 (0,01)	0,27 (0,03)	0,28 (0,04)
Tb	0,17 (0,05)	0,15 (0,01)	0,20 (0,06)	0,22 (0,02)	0,23 (0,03)
Th	2,51 (0,27)	2,22 (0,07)	2,95 (0,09)	2,88 (0,66)	2,74 (0,20)
U	0,80 (0,28)	0,61 (0,03)	0,88 (0,16)	1,18 (0,34)	1,18 (0,10)
Yb	0,53 (0,01)	0,45 (0,01)	0,61 (0,04)	0,66 (0,17)	0,60 (0,03)
Zn	41 (4)	39 (1)	47 (4)	50 (5)	53 (3)
Cu	10,3 (0,2)	10,5 (2,1)	65,3 (35,1)	20,8 (2,5)	16,5 (1,6)
Mo	0,830 (0,005)	0,86 (0,11)	6,97 (2,00)	1,95 (0,19)	1,53 (0,11)
Pb	6,0 (2,8)	5,8 (1,5)	3,6 (0,6)	3,37 (1,65)	2,62 (0,27)
Mn	84 (7)	76 (6)	102 (9)	88 (11)	88 (5)
Cd	0,30 (0,04)	0,27 (0,05)	0,42 (0,02)	0,36 (0,09)	0,320 (0,004)
S	1512 (63)	1416 (60)	1875 (165)	1685 (98)	1783 (137)

Tabla A-3.2. Cantidad de MPS y contenido de sulfatos y nitratos medidos en la fracción soluble del MPS. Los valores se expresaron en $\mu\text{g}/\text{cm}^2$. Los valores corresponden a la suma de 3 datos mensuales.

Sitio	MPS	Sulfatos	Nitratos
E1	3414,3	868,66	2,30
E3	381	45,73	6,78

E4	1050	180,43	4,15
E5	2321	7,27	5,46
E6	727	13,87	3,29
E7	817	24,21	5,80
E8	19467	1840,37	6,85
E9	547	167,35	8,00
E10	1759	268,71	7,13

Tabla A-3.2. Contenido de metales medidos en la fracción insoluble del MPS. Los valores se expresaron en $\mu\text{g}/\text{cm}^2$. Los valores corresponden a la suma de 3 datos mensuales.

Sitios	Pb	Fe	Cu	Mo	Mn	Sr	Zn	Cd
E1	0,17	175,33	5,37	0,23	3,24	7,86	1,58	0,006
E3	0,6	9,83	0,14	0,04	0,25	0,27	0,4	0,004
E4	0,05	29,24	0,57	0,06	0,56	1,03	0,62	0,004
E5	1,16	6,73	0,03	0,06	0,2	0,25	0,11	0,004
E6	0,46	8,41	0,04	0,09	0,29	0,37	0,09	0,005
E7	0,05	11,52	0,11	0,13	0,35	0,41	1,05	0,005
E8	0,4	498,76	20,91	1,51	9,89	42,47	4,58	0,032
E9	0,04	11,38	0,16	0,18	0,26	0,61	0,44	0,005
E10	0,03	33,99	0,7	0,17	0,88	1,99	0,55	0,006