

UTN
IBARRA - ECUADOR



CIENCIA EN EL HIELO

TÉCNICAS Y PROTOCOLOS PARA EL ESTUDIO
DE PLÁSTICOS, LÍQUENES Y SUELOS EN LA
ANTÁRTIDA

Tania Oña-Rocha, Santiago Cabrera-García, Verónica
Condo-Espinel, Gabriel Jácome-Aguirre, Miguel Gualoto,
Elizabeth Velarde, Karen Portilla

CIENCIA EN EL HIELO

**TÉCNICAS Y PROTOCOLOS PARA EL ESTUDIO DE
PLÁSTICOS, LÍQUENES Y SUELOS EN LA ANTÁRTIDA**

Tania Oña-Rocha, Santiago Cabrera-García, Verónica
Condo-Espinel, Gabriel Jácome-Aguirre, Miguel
Gualoto, Elizabeth Velarde, Karen Portilla

CIENCIA EN EL HIELO

TÉCNICAS Y PROTOCOLOS PARA EL ESTUDIO DE
PLÁSTICOS, LÍQUENES Y SUELOS EN LA ANTÁRTIDA

Tania Oña-Rocha, Santiago Cabrera-García, Verónica
Condo-Espinel, Gabriel Jácome-Aguirre, Miguel
Gualoto, Elizabeth Velarde, Karen Portilla





Editor:

Editorial Universidad Técnica del Norte
Avenida 17 de Julio, 5 21
Ibarra - Ecuador
Telf. 593 (6) 299 7800
editorial@utn.edu.ec

Como citar la obra completa:

Oña-Rocha, T., Cabrera-García, S.,
Condo-Espinel, V., Jácome-Aguirre, G.,
Gualoto, M., Velarde, E. y Portilla, K.
(2025). *Ciencia en el Hielo: Técnicas y
Protocolos para el Estudio de Plásticos,
Líquenes y Suelos en la Antártida.*
Universidad Técnica del Norte (UTN).
Ibarra – Ecuador.

Créditos fotográficos: Autores

Tania Oña-Rocha, Santiago Cabrera-
García, Verónica Condo-Espinel,
Gabriel Jácome, Miguel Gualoto,
Elizabeth Velarde y Karen Portilla

Portada: Autores

Tania Oña-Rocha, Santiago Cabrera-
García, Verónica Condo-Espinel,
Gabriel Jácome, Miguel Gualoto,
Elizabeth Velarde y Karen Portilla

Diseño y Diagramación:

Darío Torres

Número de páginas:

134

Revisores:

Dr. Julio Bonilla
Universidad Espíritu Santo
(UEES)

Dr. Carlos López

Escuela Politécnica del Litoral
(ESPOL)

Revisor estilo:

MSc. Yoarnelys Vasallo
Universidad Técnica del Norte (UTN)

Año: 2025

© de los textos y fotografías:

Sus respectivos autores

© de esta edición:

Editorial Universidad Técnica del Norte 1a
edición, digital: Febrero de 2025

e-ISBN: 978-9942-572-02-8

DOI: 10.53358/libficaya/GUDA6060

Prohibida la reproducción total o parcial de
esta obra sin la previa autorización escrita
de la Editorial Universidad Técnica del Norte

AUTORES

**TANIA ELIZABETH
OÑA- ROCHA**

Ingeniera en Recursos Naturales Renovables y Máster en ecoturismo en Áreas Protegidas
Docente Investigadora de la Carrera de Ingeniería en Recursos Naturales Renovables-UTN
Participante de XVI, XVII, XXIII y XXIV expediciones antárticas.
Punto focal de la maestría en red VLIR NETWORK ECUADOR
Grupo de investigaciones Antárticas GIAN-UTN
teonia@utn.edu.ec
<https://orcid.org/0000-0001-9786-2122>

**JAIRO SANTIAGO
CABRERA- GARCÍA**

Ingeniero en Recursos Naturales Renovables, Máster en Ciencia y Tecnología del Agua
Docente Investigador de la Carrera de Ingeniería en Recursos Naturales Renovables - UTN
Participante de la XXVI Expedición Antártica
Grupo de investigaciones Antárticas GIAN-UTN
jscabrera@utn.edu.ec
<https://orcid.org/0000-0001-6114-2043>

**VERÓNICA CONDO-
ESPINEL**

Investigadora del Instituto Oceanográfico y Antártico de la Armada INOCAR, responsable del LABORATORIO DE MICROPLÁSTICOS DE INOCAR (SHOIAR)- puerto Ayora Galápagos - Isla Santa Cruz
Participante de la XXVII Expedición Antártica
veronica.condo@inocar.mil.ec

**GABRIEL ALEXIS
JACOME AGUIRRE**

Ingeniero en Recursos Naturales Renovables. Máster en Ingeniería Ambiental.
Catedrático universitario e investigador-UTN.
Especialista en modelación ambiental, sistemas de información geográfica y análisis de datos.
Scopus Author ID: 57194101115
gajacomea@utn.edu.ec
<https://orcid.org/0000-0001-8305-6226>

**MIGUEL ANGEL
GUALOTO OÑATE**

MSc. en Ciencias Biológicas Universidad Estatal de Moldova ex URSS
Coordinador del Comité Asesor Científico DIGEIM-FUNDEMAR
Docente de Biorremediación

Participante de XIV, XVI, XIX Y XXII expediciones antárticas.

Grupo de investigaciones Antárticas GIAN-UTN

E-mail: miguel.g62@yandex.ru

<https://orcid.org/0000-0002-8994-7270>

**DELIA ELIZABETH
VELARDE CRUZ**

Ingeniera en Recursos Naturales Renovables master en Ecoturismo en Áreas protegidas

Docente Investigadora Carrera de Ingeniería en Recursos Naturales Renovables

Coordinadora Cooperación VLIR- UTN

Punto focal de la maestría en red VLIR NETWORK ECUADOR

Grupo de investigaciones Antárticas GIAN-UTN

develarde@utn.edu.ec

<https://orcid.org/0000-0002-9056-4429>

**KAREN MARLENE
PORTILLA CAICEDO**

Ingeniera en Recursos Naturales

Técnico Docente de la Carrera de Ingeniería en Recursos Naturales Renovables-UTN

Participante XXVI Expedición antártica ecuatoriana.

Miembro del Grupo de trabajo APAL, sobre plásticos y microplásticos para Antártica

Grupo de investigaciones Antárticas GIAN-UTN

kmportillac@utn.edu.ec

<https://orcid.org/0000-0002-1106-1189>

CONTENIDOS

11	Prólogo
14	Introducción
	CAPÍTULO 1
17	Microplásticos
18	¿Qué son los plásticos?
22	Macroplásticos
37	CAPÍTULO 2
	Macroplásticos
38	¿Qué son los Microplásticos?
39	Contaminación marina por Microplásticos
40	Efectos de los microplásticos en los ambientes marinos
41	Clasificación de los microplásticos
46	Por que monitorear los Microplásticos
47	Muestreo de los microplásticos
71	CAPÍTULO 3
	Líquenes
72	Los Líquenes
78	Líquenes en Antártica
86	Fotografiar líquenes antárticos
93	CAPÍTULO 4
	Suelos
94	Mustreo de suelos en condiciones polares
106	Metodología de muestreo de suelos en la Antártica
122	Bibliografía
131	Agradecimientos



PRÓLOGO

El continente Antártico, también denominado como la Antártida, es el cuarto continente más grande del mundo, caracterizado por estar cubierto en más de su 95% por hielo y nieve, y porque ningún país ejerce soberanía plena sobre su territorio, siendo administrada globalmente a través de un acuerdo internacional denominado Tratado Antártico (TA), con el compromiso de los Estados signatarios de no realizar en la Antártida ninguna actividad de carácter militar con fines que no sean los de cooperar con la investigación científica, así como los diferentes esfuerzos relacionados a la protección del medio ambiente antártico y sus recursos, en beneficio de toda la humanidad.

El Ecuador se adhirió al Tratado Antártico desde 1987, y en 1990, luego de la realización de 2 expediciones con la participación del BAE “Orión”, construir el refugio “República del Ecuador” en Isla Rey Jorge y el primer módulo de la Estación Científica “Pedro Vicente Maldonado” en Isla Greenwich, así como haber efectuado decenas de proyectos de investigación con los que demostró su compromiso de contribuir con objetivos globales comunes en la Antártida, fue ascendido al estatus de Estado Miembro Consultivo del TA, condición que le otorga voz y voto sobre las diferentes medidas, decisiones y resoluciones que se toman con relación a la Gestión del Continente Antártico. Actualmente el Ecuador se encuentra ejecutando su XXVIII Expedición Antártica.

Por sus características la Antártida es un escenario privilegiado para efectuar investigaciones en muchos campos de la ciencia, dada sus particulares condiciones y ecosistemas que se convierten en fuente de recursos vivos, no vivos y genéticos, así como su influencia como regulador del clima mundial y atenuador de los efectos del cambio climático, es esencial impulsar el avance de la investigación científica que permita observar, comprender y generar conocimientos antárticos, así como desde el punto de vista ambiental, destacar la importancia de proteger y preservar este Continente, al tener los últimos ecosistemas prístinos que quedan en el mundo.

El planteamiento de ejes de investigación y líneas de acción son particularmente importantes en la Antártida dado el costo sustancial y los desafíos de realizar investigaciones en esta región inhóspita. La identificación de preguntas claves redirige esfuerzos hacia temas específicos en las investigaciones antárticas y del Océano Austral,

permitiendo establecer prioridades de interés científico en el orden global, regional o nacional, así como fortalecer la cooperación entre el sector público, la academia, la industria, y a nivel internacional.

El Instituto Oceanográfico y Antártico de la Armada (INOCAR) es la institución responsable de ejecutar expediciones y coordinar actividades de investigación científica que promuevan la proyección geopolítica y oceanopolítica del Ecuador en la Antártida. El INOCAR enlazado a la visión prospectiva del Comité Científico de Investigación Antártica (SCAR) desde el 2022 actualizó los ejes y líneas de investigación con el propósito de brindar directrices a los investigadores para la identificación de temas y brechas claves de conocimiento en las ciencias antárticas y fortalecer la producción científica antártica nacional de alto impacto. Los ejes actualmente son: 1) Ecosistemas y servicios ecosistémicos en la Antártida; 2) Tendencias y escenarios de cambio climático en la Antártida; 3) Teleconexiones entre Ecuador y la Antártida; 4) Tecnología de la información, comunicación e innovación tecnológica aplicada a la Antártida; 5) Dimensiones humanas asociadas a la Antártida; y 6) Seguridad marítima.

A través de convenios y alianzas estratégicas suscritas entre la Universidad Técnica del Norte (UTN), la Dirección General de Intereses Marítimos de la Armada (DIGEIM) y el Instituto Oceanográfico y Antártico de la Armada (INOCAR), desde el 2012 han facilitado la cooperación para contribuir con la generación de ciencia y conocimientos antárticos a través de la participación de docentes y estudiantes como investigadores de los diferentes programas y proyectos científicos que se ejecutan anualmente dentro de una Expedición Antártica Ecuatoriana.

Producto de estos programas y proyectos de investigación ejecutados, así como en la evolución de la normativa generada en el marco del Tratado Antártico, han permitido elaborar, estandarizar e implementar protocolos para la toma de muestras y levantamiento de información en condiciones extremas, necesarios para evaluar parámetros de contaminación sobre el ambiente antártico y su biodiversidad asociada.

El levantamiento, procesamiento, almacenamiento y análisis de muestras es un paso crucial para cualquier proyecto o experimento; elegir los equipos, metodología y protocolos adecuados es probablemente una de las partes más importantes de un proyecto de investigación, pues es lo que marcará la diferencia entre un artículo científico publicado con éxito y uno que se queda como documento de difusión.

La presente publicación busca convertirse en una guía útil o herramienta práctica de apoyo a investigadores, que faciliten su trabajo cuando este esté orientado a proyectos

relacionados con los macro y micro plásticos, muestreo de la diversidad de líquenes, y muestreo de suelos antárticos con fines de monitoreo de la contaminación por hidrocarburos generada por el funcionamiento de la maquinaria principal, auxiliar, y equipos de calefacción de las estaciones científicas.

El futuro de la investigación y preservación de la Antártica actualmente es crucial, no solo por su papel en la regulación del clima mundial, sino también por su biodiversidad y servicios ecosistémicos únicos en el mundo. La capacidad necesaria para observar, seleccionar, razonar, sacar conclusiones y tomar decisiones, permitirá encontrar soluciones a problemas en beneficio no solo de la ciencia sino de la supervivencia del planeta.

Santiago Coral Carrillo
Capitán de Navío-EMT
Coordinador General Técnico DIGEIM

INTRODUCCIÓN

Los ecosistemas antárticos, únicos por su belleza y por su importancia en procesos como el clima y las corrientes marinas, constituyen un patrimonio de la humanidad y un laboratorio natural en el que la investigación científica cobra relevancia, no solo por la flora, la fauna y los recursos naturales, sino que además constituye una fuente de riqueza en productos biotecnológicos para la industria y la medicina, entre otros.

La contaminación ambiental es una preocupación global que afecta a todos los rincones del planeta, y la Antártica no es una excepción (Caruso et al., 2022). Esto ha motivado que el desarrollo de amplios programas de investigación sobre las fuentes, tipos, y efectos de la contaminación sobre la biodiversidad antártica y su medio físico. En estos estudios es de vital relevancia el empleo de equipos y protocolos estandarizados de muestreo de los componentes bióticos y abióticos, así como de conservación y transporte, adecuados a las condiciones extremas de la Antártida.

El presente trabajo busca convertirse en una herramienta práctica de apoyo a los investigadores involucrados en trabajos de investigación, dentro de las líneas prioritarias del programa ECUANTAR, que garantice la calidad de las muestras y de los datos obtenidos producto de su análisis.

La presente obra está dividida en cuatro capítulos en los que se detallan las diferentes técnicas de monitoreo en aspectos relacionadas con los macro y micro plásticos, muestreo de la diversidad de líquenes y muestreo de suelos en busca de contaminantes ambientales y de microorganismos con capacidad para degradarlos.

El primer capítulo se aborda el problema de los micro plásticos, iniciando con su definición, clasificación, las fuentes de su generación y contaminación, posteriormente detalla los efectos sobre la biodiversidad marina y el porqué de la necesidad de su monitoreo. Finalmente aborda las técnicas de monitoreo y muestreo de micro plásticos en el suelo, agua dulce y marinas, detallando la metodología de procesamiento, análisis e interpretación de resultados. Las técnicas de muestreo de suelo y agua dulce fueron desarrolladas por el equipo del proyecto AntarPLAST de Uruguay.

El segundo capítulo aborda el estudio de los macro plásticos, iniciando con su definición, propiedades, clasificación y posteriormente describe las técnicas de muestreo y monitoreo en campo, las metodologías de recolección, almacenamiento y preservación, así como las medidas de seguridad durante la recolección y análisis. La metodología

empleada en este capítulo fue desarrollada por el equipo del proyecto AntarPLAST de Uruguay.

El tercer capítulo se ocupa de la diversidad liquénica de la Antártida. Inicia con su definición, clasificación y seguidamente aborda las técnicas de muestreo y monitoreo de líquenes antárticos, hace hincapié en los materiales y herramientas. Especial atención presta a las técnicas de fotografía, trabajo que ha sido sensiblemente afectado por las condiciones climáticas; de igual forma a las metodologías de identificación taxonómica, química y molecular de líquenes.

En el capítulo cuatro, se aborda el muestreo de suelos antárticos con fines de monitoreo de la contaminación por hidrocarburos generada por el funcionamiento de la maquinaria y equipos de calefacción de las instalaciones de las estaciones científicas. Aborda el muestreo de suelos antárticos, para el aislamiento e identificación de microorganismos con capacidad para degradarlos. Identifica los sitios y metodologías de muestreo en busca de microorganismos quimio lito tróficos y saprófitos, con capacidades metabólicas únicas. Describe detalladamente las técnicas de muestreo, los equipos y herramientas, las condiciones de transporte, almacenamiento y conservación de las muestras.

Este trabajo está dirigido a investigadores, docentes, profesionales y estudiantes de ciencias ambientales, biología, ciencias agrícolas y biotecnología involucrados en el estudio de los problemas de contaminación en la Antártida y zonas altoandinas.

MACROPLÁSTICOS

CAPÍTULO 1

1.1 ¿QUÉ SON LOS PLÁSTICOS?

Los plásticos son materiales sintéticos fabricados a partir de diversos polímeros orgánicos, como el cloruro de polivinilo, el polietileno, el nailon, entre otros. Pueden moldearse de diferentes formas cuando aún están fundidos y luego transformarse en una forma sólida o ligeramente elástica. También se conocen como polímeros de largas cadenas de carbono. La palabra plástico procede del griego "plastikos", que significa "capaz de ser moldeado o formado" y, a su vez, de "plastos", que significa "moldeado" (Hidalgo-Ruz et al., 2012).

Los plásticos son una amplia gama de sustancias semisintéticas o sintéticas que contienen polímeros como ingrediente principal. Su plasticidad durante la producción permite moldear, extrudir o prensar el plástico en objetos sólidos de diferentes formas. Esto hace que el material se adapte y sea útil en diversas aplicaciones (Cózar et al., 2014). Esta adaptabilidad, sumada a una amplia variedad de propiedades beneficiosas, como ser ligeros, duraderos y flexibles, junto con métodos de fabricación baratos, ha contribuido a su aceptación generalizada en la sociedad contemporánea, cómo se presenta de forma general en la Figura 1. La mayoría de los plásticos modernos proceden de productos petroquímicos basados en combustibles fósiles, como el gas natural o el petróleo (Cheshire, 2013).

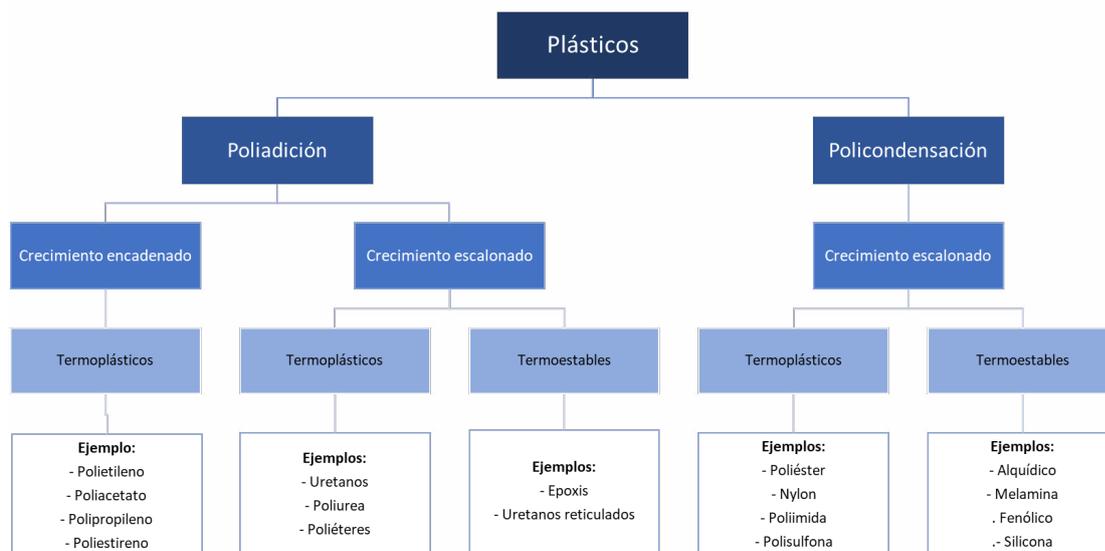


Figura 1. Tipos de plásticos de acuerdo con su proceso de fabricación (Ryan, 2009).

La plasticidad o el estado de maleabilidad del material durante el proceso de fabricación permite fundirlo, prensarlo o extrudirlo en diversas formas como: películas, fibras, placas, tubos, botellas, cajas, entre otros. El adjetivo se referirá a cualquier material que experimente una deformación plástica o un cambio permanente de forma cuando se somete a tensión más allá de un límite determinado; por ejemplo, el aluminio estampado o forjado presenta plasticidad en este contexto, pero no es plástico en sentido común. Por otra parte, ciertos plásticos, en su forma acabada, pueden romperse antes de deformarse y, por tanto, técnicamente no son plásticos (Ryan, 2009).

1.1.1 Clasificación de los plásticos según propiedades fisicoquímicas, estructura molecular y origen

De acuerdo con sus propiedades fisicoquímicas, estructura molecular, proceso de fabricación y origen (natural o artificial), los principales tipos de plásticos son:

- **Termoplásticos.** Los termoplásticos son plásticos que no sufren un cambio químico en su composición al calentarse, por lo que pueden moldearse varias veces. En este sentido se destacan ejemplos como el polipropileno (PP), el polietileno (PE), el cloruro de polivinilo (PVC) y el poliestireno (PS); algunos de ellos encontrados en la Antártida, como se observa en las Figuras 2 y 3.



Figura 2. Restos de poliestireno (PS) de aislantes térmicos encontrados en la isla Dee



Figura 3. Restos de polietileno (PE), en botellas plásticas encontradas en la Isla Greenwich

- **Termoestables.** Son plásticos que pueden ser fundidos y moldeados en cualquier forma específica por una sola ocasión. Estos materiales experimentan una reacción química irreversible al ser calentados, es decir, que en caso de ser sometidos al calor nuevamente, se descomponen en lugar de fundirse. Ejemplos, las resinas de poliéster, mostradas en la Figura 4.



Figura 4. Restos de plásticos termoestables, en resinas de poliéster en la Isla Dee

- **Polímeros conductores.** Los polímeros conductores intrínsecos (ICP) son polímeros orgánicos que poseen la capacidad inherente de conducir electricidad, como el poliacetileno.
- **Plásticos biodegradables.** Los plásticos biodegradables experimentan un proceso de degradación natural al exponerse a factores como la luz solar (o radiación ultravioleta), bacterias, enzimas específicas, humedad, agua o incluso a la abrasión del viento. En determinadas circunstancias, roedores, plagas o insectos también pueden contribuir al proceso de biodegradación o deterioro ambiental. Los ejemplos de este tipo de plásticos incluyen a aquellos, fabricados a partir de almidón, celulosa y soja
- **Bioplásticos.** Los bioplásticos se producen a partir de materiales vegetales renovables como la celulosa y el almidón. Debido a los límites finitos de los recursos petroquímicos y al riesgo de calentamiento global, los bioplásticos siguen siendo un campo en expansión.

1.1.2 Clasificación de los plásticos según su tamaño y capacidad de reciclaje

Con el fin de monitorear y cuantificar los posibles impactos en ambientes naturales, los residuos plásticos se clasifican en diferentes clases de acuerdo con su tamaño. Varias clasificaciones han sido propuestas, en donde, diversos autores han destacado que la comparación de datos entre estudios puede ser desafiante debido a la diversidad de enfoques y criterios (Ryan, 2009; Blettler, 2017). Esta dificultad se debe en gran parte a las diferencias en los protocolos de muestreo (Hidalgo-Ruz et al., 2012; Cózar et al., 2014; Blettler, 2017).

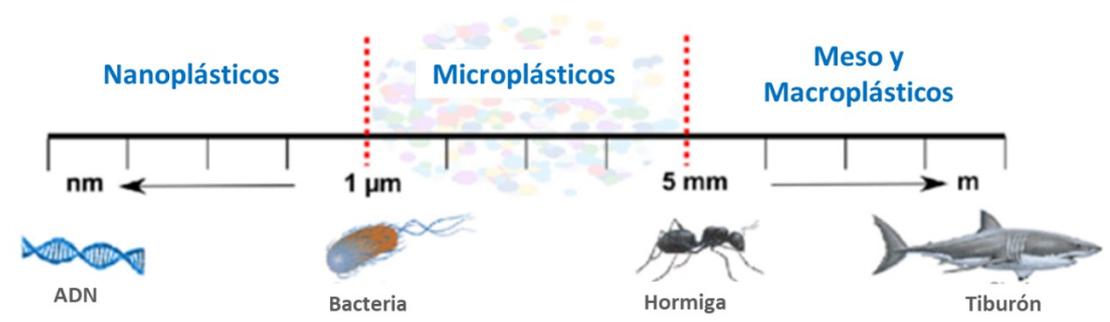


Figura 5. Clasificación de los plásticos de acuerdo con su tamaño

Aunque diferentes autoridades recomiendan límites de tamaño ligeramente diferentes (Ryan, 2009), los desechos procedentes de los plásticos se pueden dividir en cuatro clases como se expone en la Figura 5, nano (1 nm a 1 µm), micro (1 µm a 5 mm), meso (5 mm a 25 mm) o macroplásticos (> 25 mm). Esta escala ha sido adoptada por el Programa de las Naciones Unidas para el Ambiente, UNEP, por la Directiva Marco sobre la Estrategia Marina, MSFD (Technical Subgroup on Marine Litter, 2013) y por la Administración Nacional Oceánica y Atmosférica, NOAA (Lippiatt et al., 2013). Respecto a los microplásticos, podemos diferenciar los microplásticos grandes (1 a

5 mm), generalmente no ingeridos por los animales filtradores, y los microplásticos pequeños (< 1mm) (Hanvey, 2017).

Otra manera de clasificarlos se basa en sus componentes y su capacidad para ser reciclados, con una escala numérica que va del 1 al 7. Estos dígitos se encuentran impresos dentro de un triángulo y proporcionan detalles acerca de su composición. Sin embargo, existen tipos de materiales plásticos más allá de los siete considerados en esta escala y se presentan en la figura 6.



Figura 6. Clasificación de los plásticos de acuerdo con su capacidad de reciclaje

1.2 MACROPLÁSTICOS

Los macroplásticos se definen generalmente como fragmentos que tienen un tamaño > 25 mm (Romeo et al., 2015), y a pesar de su mayor dimensión, se conoce que son ingeridos y retenidos regularmente por diversas especies marinas, incluidos mamíferos, grandes peces y tortugas (Derraik, 2002; Teuten, 2007).

Además, generan un riesgo significativo de enmallamiento, ingestión y asfixia, principalmente para aves, tortugas, peces y mamíferos marinos que viven en áreas contaminadas, mientras que una gran variedad de organismos marinos puede ingerir macroplásticos y microplásticos, lo que puede tener graves consecuencias para estas especies (LI, 2016; Barboza, 2019).

La contaminación por macroplásticos es un problema mundial y se percibe como una de las formas más severas de contaminación en las costas, océanos y masas de agua dulce. El problema ha sido ampliamente descrito desde la década de 1990 (Shomura, 1990), siendo objeto de numerosos estudios. Más recientemente, este tema ha captado una mayor atención pública, generando como respuesta la implementación de varias regulaciones internacionales (Vince, 2017; Dauvergne, 2018). Las campañas de limpieza

generalmente se han centrado en los plásticos más grandes que se encuentran en las playas, existiendo una gran variabilidad derivada de la orientación de la playa, grado de exposición, dirección y fuerza del viento y el oleaje en los momentos previos al muestreo (Herrera et al., 2018). Todo esto aumenta la dificultad de identificar patrones geográficos y tendencias temporales.

1.2.1 Muestreo de macroplásticos en ecosistemas Antárticos

Para realizar actividades de muestreo de macroplásticos en climas extremos como en la Antártida se debe cumplir con las indicaciones aplicadas en las estaciones científicas, por ejemplo: Capacitación y preparación adecuada en seguridad y supervivencia en ambientes extremos, misma que es impartida en el caso de la Estación Ecuatoriana Pedro Vicente Maldonado (PEVIMA), por personal del Instituto Oceanográfico y Antártico de la Armada del Ecuador (INOCAR). Estas actividades se observan en la Figura 7.



Figura 7. Comandante Bernardo Gordón (Jefe de la XXVI Expedición Antártica Ecuatoriana) impartiendo las indicaciones obligatorias a cumplirse en la estación PEVIMA

El INOCAR es el encargado de coordinar toda la parte logística, seguridad y habitabilidad en la Antártida. En la Figura 8 se puede observar al personal capacitado de la XXVI Expedición Antártica Ecuatoriana A continuación algunas de las directrices a tomar en cuenta durante la estancia:



Figura 8. Personal de INOCAR en la XXVI Expedición Antártica Ecuatoriana

- Se debe usar la vestimenta diseñada para este tipo de clima, que incluye aislante de calor, impermeable resistente al viento, guantes, gorros, botas y gafas de protección de sol y viento (Figura 9 y 10). Para este tipo de muestreo se recomienda tener buen estado físico, debido a que la actividad en campo puede ser extenuante por las condiciones climáticas extremas.



Figura 9. Investigador UTN usando la vestimenta de campo, para toma de muestras



Figura 10. Vestimenta de campo para climas extremos

- Se debe establecer un sistema de comunicación eficiente que permita monitorear al personal de campo con el personal de la estación científica, para ello se emplean radios VHF o HF y teléfonos satelitales. Para el transporte un bote con motor fuera de borda como el de la Figura 11 que es un bote tipo zodiac, es común en este tipo de trabajo para el traslado de personal científico a las diferentes islas estudiadas con su respectivo kit de primeros auxilios.



Figura 11. Bote tipo zodiac, Isla Greenwich

- Además de seguir las normas de seguridad en campo, se recomienda minimizar el impacto en el ecosistema, respetando la vida silvestre y los recursos naturales. Es fundamental no dejar basura en el entorno estudiado. La Figura 12 muestra la limpieza del área cercana a la estación, como parte del cierre de esta actividad que se realiza con la participación de personal logístico y de investigadores.



Figura 12. Minga de recolección de plásticos en los exteriores de la Estación Pedro Vicente Maldonado

A continuación, se detalla el proceso para el muestreo de macroplásticos en ecosistemas Antárticos. Esta metodología fue desarrollada por el equipo del proyecto AntarPLAST de Uruguay. En este documento, los plásticos son denominados técnicamente como “ítems” durante el proceso de recolección. El proceso de muestreo debe contener los siguientes aspectos:

a) Materiales y equipos:

Se debe contar con los materiales listos con anterioridad para evitar contratiempos (tabla 1.1) y más en el ecosistema antártico donde no es factible conseguir implementos a última hora.

Tabla 1.1. Materiales y equipos para muestreo de macroplásticos

Materiales	Equipos
Guantes de nitrilo	GPS + baterías extras para campo en fundas herméticas
Alcohol (70%)	Cámara fotográfica
Bolsas etiquetadas	Flexómetro
Maleta tipo tula impermeable	Balanza

b) Personal involucrado en la realización del muestreo:

Se recomienda al menos dos personas en campo, no solo para cubrir un área mayor de monitoreo, sino para garantizar la seguridad personal como se observa la Figura 13, lo inhóspito y desolado que puede ser la salida de campo.



Figura 13. Personal de INOCAR apoyando la recolección de macroplásticos, Isla Greenwich

c) Mapa de ubicación e información básica del área de muestreo como en la Figura 14 que muestra a cartografía básica y los posibles puntos de muestreo. A continuación, se detalla la información básica que debe contener un mapa:

- Escala gráfica o numérica
- Orientación que indique el norte
- Leyenda
- Nombres de lugares importantes como ríos, montañas, entre otros
- Puntos de referencia. Son válidas las estaciones científicas.

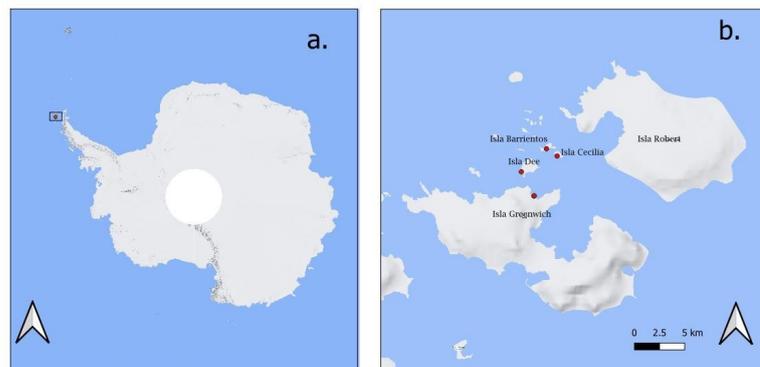


Figura 14. Mapa de ubicación del área de estudio a) La Antártida, b) Islas de muestreo de macroplásticos

d) Metodología de muestreo en campo:

Previo a la salida de campo se recomienda constatar la lista de chequeo para la verificación de equipos y materiales, además de llevar baterías adicionales para los equipos. Para los traslados en bote, es importante asegurar los equipos dentro de la embarcación y protegerlos de la humedad con el fin de prevenir posibles averías, sobre todo en los equipos digitales, como se presenta en la Figura 15.



Figura 15. Personal de INOCAR trasladando investigadores, Isla Robert

En el sitio de muestreo, a lo largo de las playas y roquedales antárticos se debe iniciar la caminata en forma serpenteante (10m) como se muestra en las líneas verdes de la Figura 16.

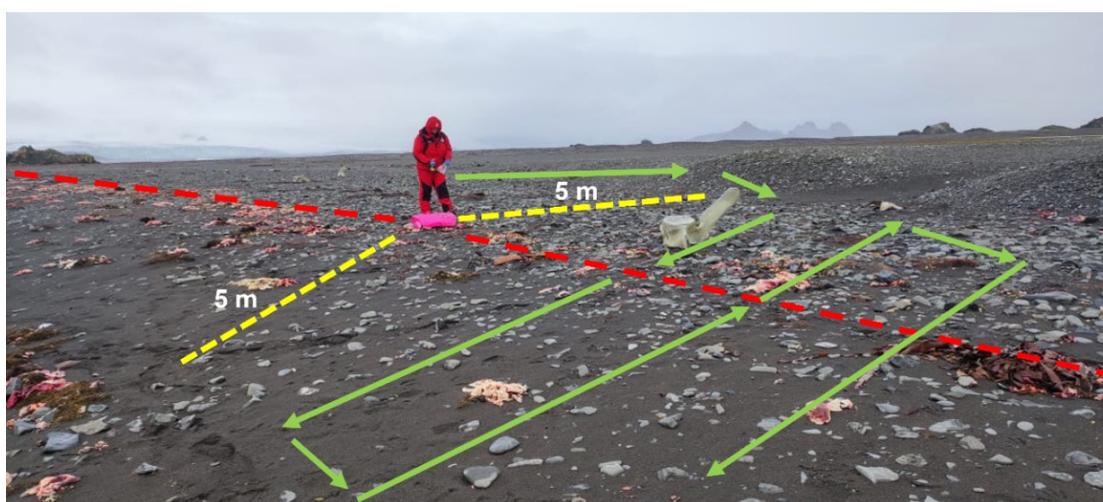


Figura 16. Ruta de recolección de macroplásticos; Isla Dee

Cuando se encuentre un ítem, se debe inspeccionar un radio de 5 metros de diámetro al ítem registrado para complementar el muestreo con fragmentos o ítems adicionales que puedan estar presentes como en la Figura 17. Todos los ítems encontrados deben ser guardados como un solo punto de muestreo.



Figura 17. Radio de muestreo de macroplásticos en campo, Isla Dee

Usar un flexómetro y tomar fotografías de los ítems como en la Figura 18, además de realizar videos del lugar de muestreo si las condiciones ambientales lo permiten.

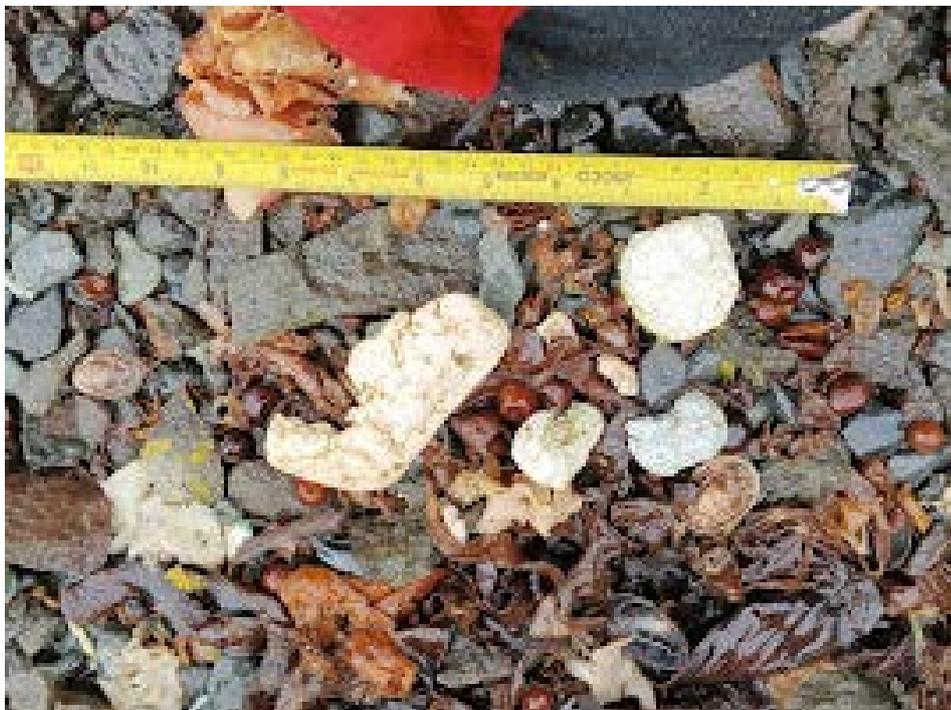


Figura 18. Medición de ítems (pellets), Isla Barrientos

Georreferenciar el punto con el GPS, etiquetar la muestra o muestras según corresponda se presenta en la Figura 19.



Figura 19. Ítems georreferenciados y etiquetados (ej. P3 restos de cuerda plástica), Isla Robert

Para el almacenamiento de muestras es recomendable usar un estuche impermeable. Debido al clima extremo de la Antártida es común que existan plásticos con exceso de humedad, por lo que una maleta impermeable es de gran utilidad. Como se observa en la Figura 20, la bolsa de mano impermeable y de color llamativo permite visibilizarla en el ecosistema antártico.



Figura 20. Traslado de muestras de macroplásticos en bolsa de mano (tula) impermeable, Isla Greenwich

En el caso de no encontrar plástico en una distancia significativa de 300 a 500 metros, se recomienda llevar a cabo una revisión adicional, regresando a lo largo de la ruta de muestreo, como se ilustra en la Figura 21.



Figura 21. Muestreo de macroplásticos en roquedales de la Isla Greenwich, al fondo se observan tres elefantes marinos

Es importante estar alerta ante la presencia de animales durante el trayecto a ser muestreado; debido a que, en la Figura 22, al fondo, muestra además la georreferenciación de un punto de muestreo de fauna antártica, específicamente elefantes marinos.



Figura 22. Restos de cuerdas depositadas en playas en la Isla Greenwich, al fondo se observan tres ejemplares hembras de elefantes marinos descansando

e. Metodología de cuantificación de macroplásticos en laboratorio

Se recomienda colocar los ítems colectados de cada punto en una superficie plana para su medición y pesaje, como se presenta en la Figura 23. A continuación se detallan los pasos a seguir:

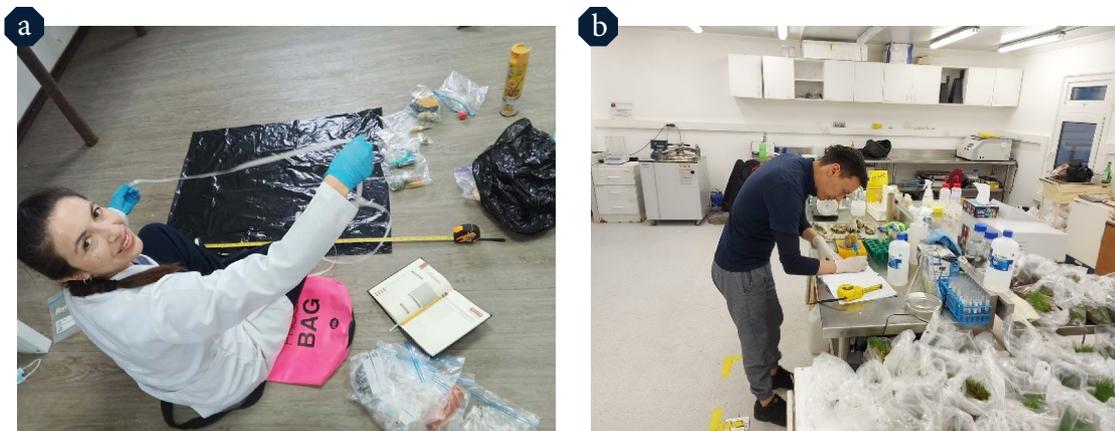


Figura 23. Cuantificación de macroplásticos. a) Medición de ítems, Estación Científica Pedro Vicente Maldonado- Ecuador. b) Pesaje de ítems, Estación Profesor Julio Escudero-Chile

I. Se deben colocar las muestras en el orden de la recolección realizada en el campo, sobre una superficie con contraste que permita observar y fotografiar a todos los ítems para su registro, como se observa en la Figura 24 con fondos en color negro o rojo.



Figura 24. Clasificación de ítems recolectados

II. Luego de colocarlas en la superficie plana como se observa en la Figura 25, se procede a medir cada ítem y clasificarlo de acuerdo con la clasificación de: Residuos marinos- Estudio de playas- Subcategoría plástico de la CCAMLR (Commission for the Conservation of Antarctic Marine Living Resources).

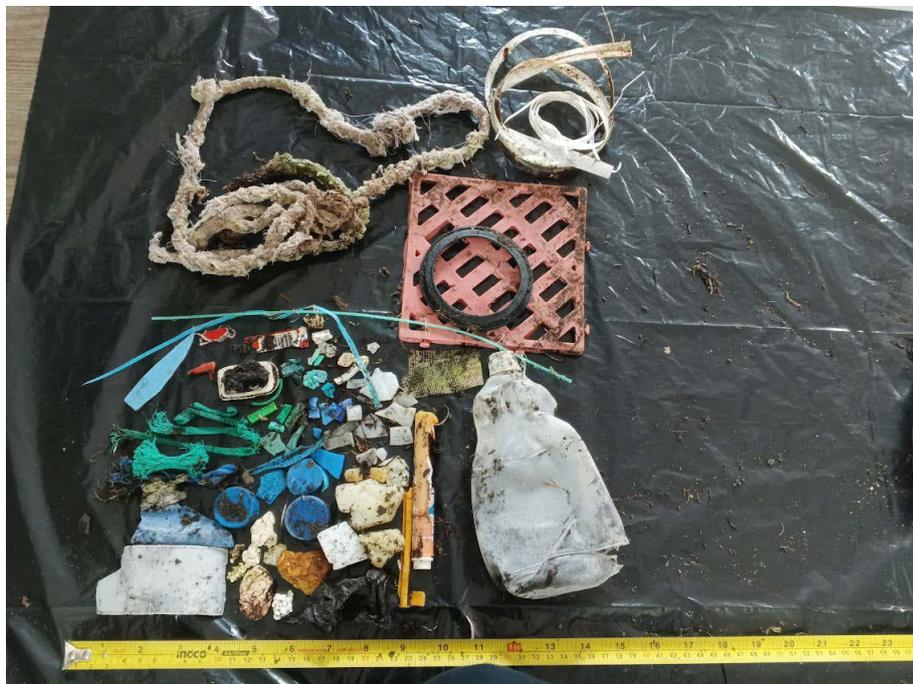


Figura 25. Medición de ítems, Estación Científica Pedro Vicente Maldonado

III. La lista de clasificación se presenta en <https://www.ccamlr.org/en> y se observa en la Figura 26, en donde se ingresa la información obtenida en campo, de acuerdo con las características de los ítems colectados por cada sitio de muestreo.

CCAMLR Data Form - Marine Debris							
Beach Surveys							
DATA COLLECTION DETAILS							
1	Member						
2	Researcher contact	kmportillac@utn.edu.ec					
3	Split year	2023-2024	(eg enter 2022 for the split-year 2021/22)				
4	Site	other site - please specify	other				
5	Survey site length (m)						
SURVEY DETAILS							
6	Sampling interval start date	23/02/2023					
7	Sampling interval end date	9/03/2023					
8	Date of reported sample						
9	Date of last reported sample						
ITEMS COLLECTED							
10	Item category	Item subcategory	Item code	Number	Weight (Kg)	Size	Comments
11	Plastic	Bags, pieces of bag		1	1	L	
12	Plastic	Other plastic		15	1	L	
13	Plastic	Open strapping bands		8	1	L	
14	Plastic	Ropes open		10	1	VL	between rocks
15	Plastic	Styrofoam		7			
16	Rubber						
17							

Figura 26. Lista de clasificación





MICROPLÁSTICOS

CAPÍTULO 2

2.1 ¿QUÉ SON LOS MICROPLÁSTICOS?

Los microplásticos (MPs) son diminutas partículas de plástico, generalmente con un tamaño menor a 5 milímetros de diámetro, que se han convertido en una creciente preocupación en el ámbito de las ciencias ambientales (Gan et al., 2023). Estos fragmentos se originan a partir de la descomposición de plásticos más grandes, como botellas y bolsas, o se producen directamente en forma de microperlas en productos de cuidado personal y textiles (Gola et al., 2021).

La afectación de los MPs en los organismos vivos y los ecosistemas acuáticos y marinos es alarmante (Gola et al., 2021). Cuando estos diminutos fragmentos se acumulan en el agua como los de la figura 27, pueden ser ingeridos por una variedad de organismos, desde zooplancton hasta peces y aves marinas. Esto puede causar daños físicos, así como la acumulación de sustancias químicas tóxicas en los cuerpos de los organismos que los consumen (Lenzi et al., 2022).



Figura 27. Restos de micro plásticos en playas
Fuente: Creative Commons Public Domain Dedication

Los MPs también pueden servir como vectores para contaminantes químicos persistentes, como pesticidas y PCBs, transportándolos a través de las cadenas alimentarias acuáticas. Además, afectan la calidad del agua, alterando la composición química y la biodiversidad de los ecosistemas acuáticos (Puasa et al., 2021).

En última instancia, los MPs pueden tener efectos negativos en la salud, dado que los seres humanos consumen pescado y mariscos contaminados con MPs y sus contaminantes asociados (Gola et al., 2021). Por lo tanto, la investigación, monitoreo y la gestión de los MPs son cruciales para preservar la salud de nuestros ecosistemas acuáticos y la seguridad alimentaria global (Zhang et al., 2020).

2.2 CONTAMINACIÓN MARINA POR MICROPLÁSTICOS

Los plásticos constituyen una parte importante, que oscila entre el 60 y el 83%, de los residuos sólidos marinos (Kovač-Viršek et al., 2016; Gola et al., 2021). El tema de la contaminación plástica ha sido objeto de un mayor escrutinio en los últimos tiempos debido a su presencia duradera en el ambiente y al lento ritmo al que estos materiales se degradan (Zhang et al., 2020). La gestión inadecuada de los residuos plásticos da como resultado su existencia prolongada en el ambiente, sujetos a degradación por factores tanto bióticos como abióticos, lo que en última instancia conduce a su fragmentación en MPs (Waller et al., 2017; Lenzi et al., 2022).

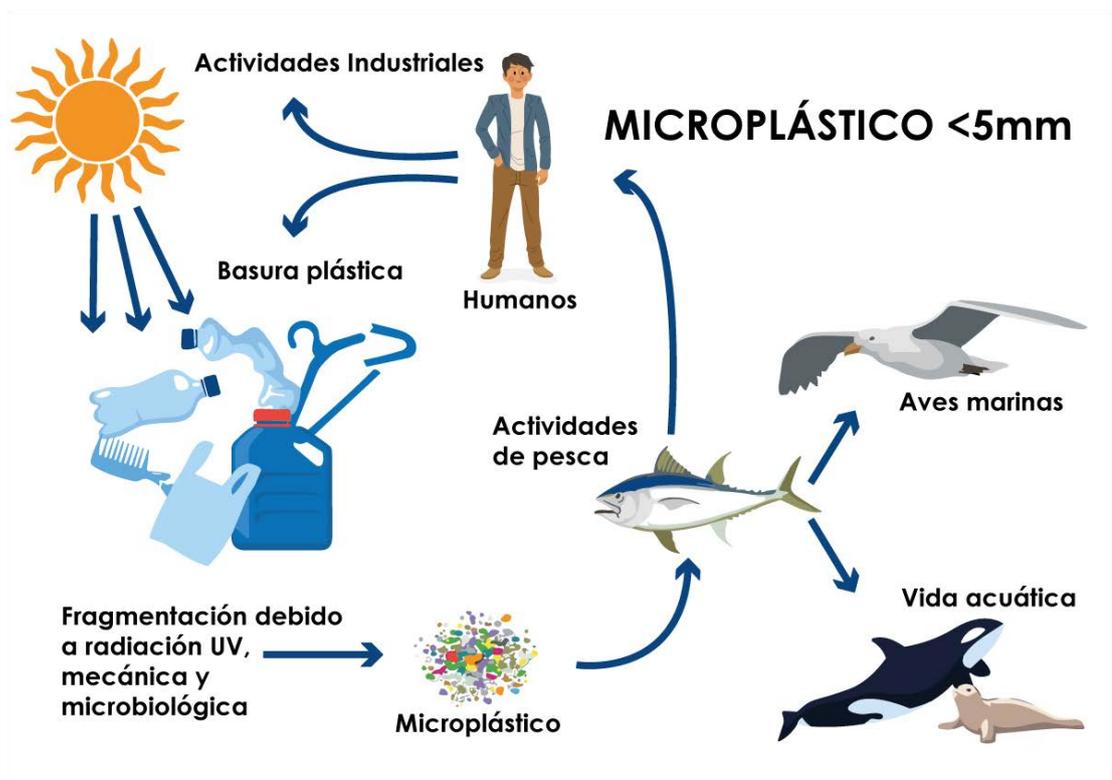


Figura 28. Ciclo del microplástico en el ambiente

Los MPs se refieren a partículas de plástico que miden menos de 5 mm en cualquiera de sus dimensiones, incluido el ancho, el largo o el diámetro. Estas partículas pueden adoptar diversas formas, como esferas, fibras, fragmentos irregulares o gránulos (Kovač-Viršek et al., 2016). La presencia de MPs en ambientes marinos y costeros se ha convertido en una importante preocupación mundial debido a los efectos perjudiciales que tienen como lo demuestra la Figura 28, que incluyen la ingestión de MPs por parte de especies marinas y su capacidad para absorber contaminantes químicos del agua circundante. En los últimos cuarenta años, ha habido un aumento sustancial en la concentración de MPs en las aguas superficiales del océano y otros ecosistemas costeros, incluidas las playas (Eriksen et al., 2020; Caruso et al., 2022).

2.3 EFECTOS DE LOS MICROPLÁSTICOS EN LOS AMBIENTES MARINOS

Los efectos más preocupantes de los MPs se centran en su ingestión por parte de diversas especies como menciona la Figura 29 y su capacidad para acumular ciertos contaminantes presentes en el agua (Gola et al., 2021). En relación con el primer punto, los organismos que se encuentran en la base de la cadena alimentaria ingieren MPs de manera accidental o al confundirlos con sus presas (Lenzi et al., 2022). Posteriormente, estos organismos pueden ser consumidos como alimento por organismos de niveles tróficos superiores, lo que resulta en una bioacumulación (Wang et al., 2019). La ingestión de MPs puede ocasionar efectos secundarios como la obstrucción del tracto digestivo, la disminución de la tasa de crecimiento, de la fecundidad, de la esperanza de vida, el aumento del tiempo de reproducción e incluso la muerte por inanición (Wang et al., 2019; Gan et al., 2023).

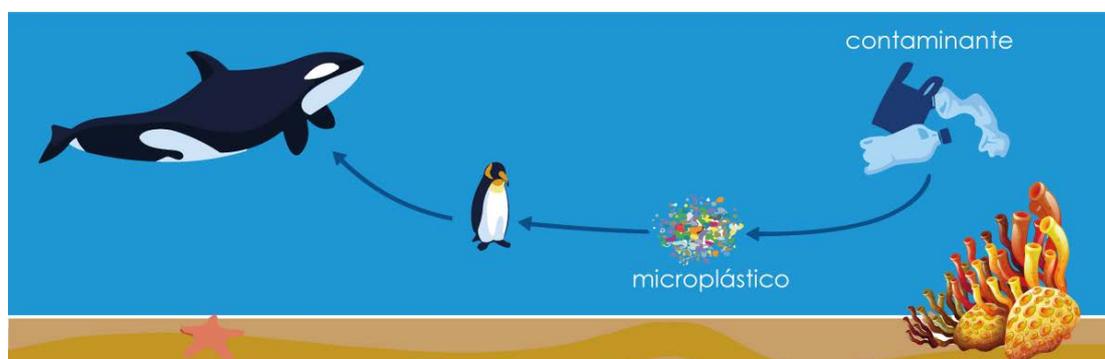


Figura 29. Ingreso de los microplásticos en la cadena alimenticia

En relación con la sorción o acumulación de contaminantes, los MPs tienen la capacidad de atraer sustancias presentes en el agua, tales como los contaminantes orgánicos persistentes (COP), metales y disruptores endocrinos (Wang et al., 2019; Eriksen et al., 2020). Se ha observado que los MPs fabricados con policloruro de vinilo (PVC), polietileno (PE), polipropileno (PP) y poliestireno (PS) muestran cierta afinidad por el diclorodifeniltricloroetano (DDT), los hidrocarburos aromáticos policíclicos, los hexaclorociclohexanos y los bencenos clorados (Wang et al., 2019; Puasa et al., 2021). Por otro lado, se ha encontrado que los pellets provenientes de diversas playas del mundo contienen algunos compuestos orgánicos persistentes, como los bifenilos policlorados y los plaguicidas organohalogenados, así como ciertos metales como el aluminio, cobre, plata, zinc, plomo, hierro y manganeso (Cózar et al., 2014; Wang et al., 2019).

Si estos MPs son ingeridos por organismos marinos, existe la probabilidad de que los compuestos se filtren hacia sus tejidos y les causen daños en la Figura 30 se observa su impacto en algunos organismos del ambiente acuático. Además, los MPs que han adsorbido COP y metales pueden ser transportados a través del océano y llegar a otros ecosistemas, contaminándolos en el proceso (Waller et al., 2017; Zhang et al., 2020; Gola et al., 2021).

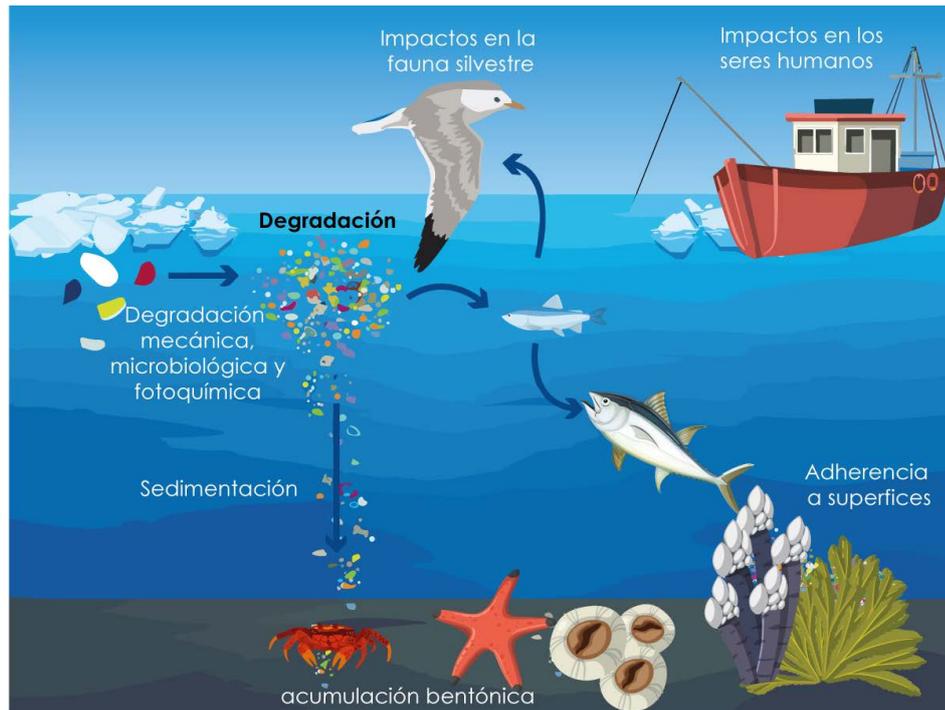


Figura 30. Impacto en el ambiente del microplástico

2.4 CLASIFICACIÓN DE LOS MICROPLÁSTICOS

En términos generales, se pueden distinguir dos categorías de MPs como lo detalla la figura 31: los primarios y los secundarios. Los MPs primarios son partículas de plástico que se producen a escala microscópica con fines industriales. Entre ellos se encuentran los microbeads o microperlas, que se utilizan en diversos productos de cuidado personal, como pastas de dientes, cremas faciales, exfoliantes y cosméticos. Asimismo, los pellets son otro tipo de MPs primarios que se utilizan como materia prima para la producción de plásticos de mayor tamaño, y pueden tener forma cilíndrica o esférica (Gola et al., 2021; Gan et al., 2023). Es importante destacar que una proporción de los MPs utilizados en aplicaciones industriales ingresan al ambiente durante su transporte y fabricación, debido a una gestión inadecuada de las operaciones (Derraik, 2002; Zhang et al., 2020).

En cuanto a los MPs secundarios, su origen radica en el desgaste y fragmentación de plásticos de mayor tamaño debido a procesos de fotodegradación (degradación por radiación UV), biodegradación, abrasión mecánica u oxidación (Wright et al., 2013; Gan et al., 2023). Esta categoría de MPs puede manifestarse en forma de fragmentos rígidos, provenientes de botellas, tapas y productos desechables; películas, resultado de la fragmentación de bolsas; espumas, producto de la fragmentación de artículos desechables de poliestireno expandido; y fibras, liberadas durante el ciclo de lavado de prendas de vestir o la degradación de material de pesca (Derraik, 2002; Hidalgo-Ruz et al., 2012).

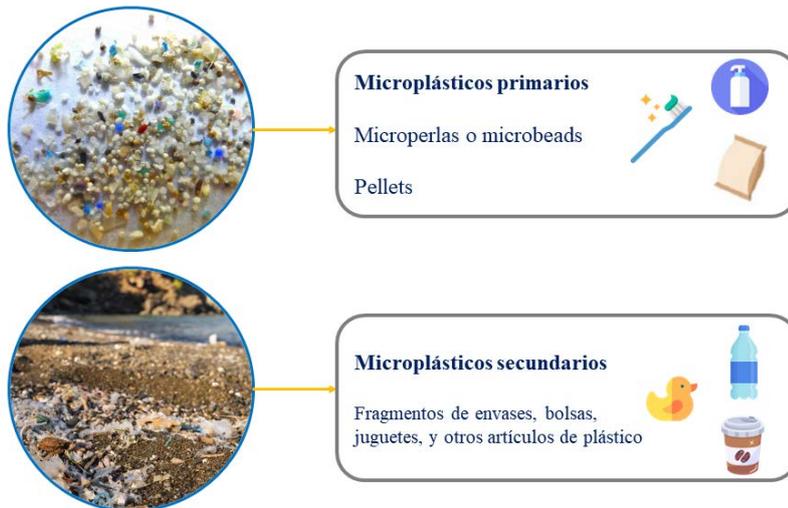


Figura 31. Tipos de microplásticos de acuerdo con su origen

2.4.1 Clasificación de acuerdo con el tamaño

El tamaño constituye un factor determinante para la definición de los MPs y se emplea con mayor frecuencia para categorizar los residuos plásticos. En el año 2003, se acuñó el término "microbasura" para describir los desechos plásticos presentes en los océanos con dimensiones comprendidas entre 63 y 500 μm . Posteriormente, en 2004, se introdujo por primera vez el término "microplásticos" para referirse a las partículas finas de plástico. En el año 2016, se estableció que los MPs son fragmentos de plástico con diámetros que oscilan entre 0,1 μm y 5 mm, considerándose cualquier tamaño menor como nanopartículas como las de la Figura 32. Desde entonces, los estudios han adoptado esta clasificación (Hartmann et al., 2019).

Las categorías de tamaño actualmente utilizadas para los MPs se aplican principalmente a partículas de forma aproximadamente esférica, pero podrían no resultar adecuadas para los MPs irregulares, como fragmentos, espumas y fibras. Por consiguiente, resulta necesario ajustar adecuadamente el estándar de clasificación a fin de identificar los tamaños de estos MPs irregulares (Hidalgo-Ruz et al., 2012).

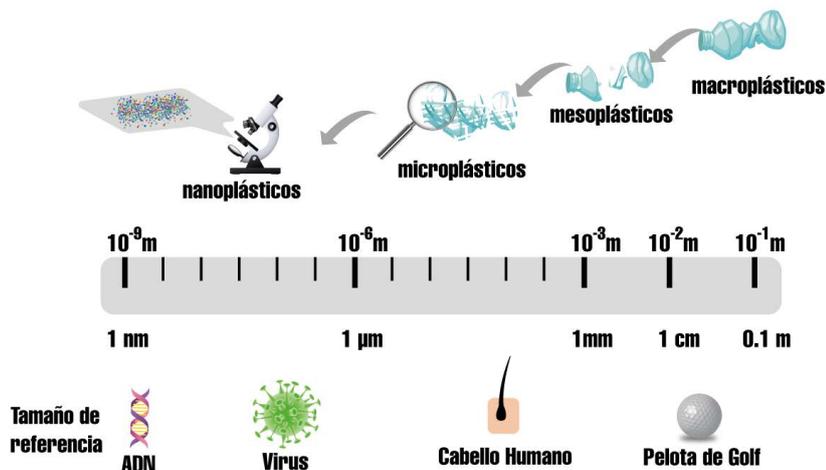


Figura 32. Tamaño de los microplásticos

2.4.2 Clasificación de acuerdo con la forma

Las formas habituales de MPs comprenden gránulos, perlas, fibras, esferas, películas, espumas y fragmentos observados en la Figura 33. En numerosos casos, las partículas de MP presentes en el ambiente exhiben una forma irregular. En distintos ecosistemas, las formas de los MP varían de manera significativa. Por ejemplo, la fibra constituye la forma de MP más frecuente en ambientes acuáticos y atmosféricos, mientras que en suelos agrícolas predominan principalmente los fragmentos, películas y gránulos (Kovač-Viršek et al., 2016).



Figura 33. Formas de los microplásticos

2.4.3 Clasificación de acuerdo con su carga eléctrica

Los MPs también son categorizados según su carga eléctrica (positiva y negativa), lo cual puede incidir en su absorción por parte de las plantas. El potencial zeta se emplea para describir el potencial eléctrico de la superficie, el cual es probable que influya en su comportamiento de sorción. Este potencial en los MPs disminuye a medida que aumenta el pH del entorno (Xu et al., 2018).

2.4.4 Clasificación de acuerdo con la composición química

La clasificación de los desechos plásticos se basa en el criterio fundamental de su composición química, la cual tiene un impacto significativo en la degradación y distribución de los MPs y su destino en el ambiente. Por lo tanto, es esencial conocer las propiedades químicas de los diferentes tipos de MPs para comprender su comportamiento (Hu et al., 2022).

Entre los plásticos más utilizados en diversas aplicaciones, se encuentra el polietileno, el cual se caracteriza por su bajo costo, facilidad de procesamiento y reciclabilidad. Este material se emplea en una amplia gama de productos tal como se observa en la Figura 34, como bolsas de compras, microperlas en productos cosméticos, películas para empaque de alimentos, juguetes, envases y botellas, así como en tuberías (Gan et al., 2023).



Figura 34. Tipo de microplásticos por sus componentes químicos
Fuente: National Geographic, Gestores de Residuos, Recytrans

Por otro lado, el poliestireno (PS) de la figura 34, es un termoplástico rígido que se produce mediante la polimerización vinílica del estireno por radicales libres. Debido a sus destacadas propiedades físicas y su bajo costo, el poliestireno se ha convertido en uno de los plásticos más utilizados y abundantes en aplicaciones como el embalaje de alimentos, el aislamiento de edificios, los revestimientos interiores de refrigeradores y las cubiertas de lámparas (Hu et al., 2022).

El PVC es comúnmente utilizado en el ámbito de la construcción y la edificación, incluyendo el uso de tuberías, especialmente las destinadas al alcantarillado, debido a su resistencia a diversos productos químicos. A pesar de que el PVC puede ser reciclado en múltiples ocasiones, la mayoría de los países desechan directamente los residuos de PVC en vertederos, lo cual aumenta el riesgo potencial de que este plástico se convierta en MPs y se acumule en el ambiente (Bond et al., 2018; Hu et al., 2022).

Por otro lado, el polipropileno presenta una fuerte resistencia a los productos químicos, la fatiga y el calor. Ha sido ampliamente utilizado en envases de alimentos, tuberías, frascos de medicamentos, billetes de banco, tapas con bisagras y piezas de automóviles. Aunque el polipropileno es resistente a la biodegradación, es susceptible al ataque abiótico debido a las largas cadenas de poliolefina que lo componen. Por lo tanto, los plásticos polipropileno presentes en el ambiente tienen el potencial de descomponerse en MPs bajo la influencia de factores ambientales (Bond et al., 2018).

Los materiales de MPs restantes incluyen principalmente tereftalato de polietileno (PET), ácido poliláctico (PLA), acrilonitrilo-butadieno-estireno (ABS), acetato de

etileno-vinilo (EVA), caucho de estireno-butadieno (SBR) y fibra de poliéster PET (PES). La Tabla 1.2 resume los principales productos plásticos y sus composiciones (Hartmann et al., 2019).

Tabla 1.2. Propiedades de los microplásticos de distintas fuentes

Fuente	Materiales originales	Composición química	Formas comunes después de la intemperie
Residuos domésticos	Envases de plástico	PVC, PET, nylon, PE, PP, PS, PLA	Películas, fragmentos, espumas y formas irregulares
	Botellas de plástico	PET, PP, PE	Películas, fragmentos
	Ropa de fibra química	Nylon, poliacrilonitrilo (PAN), poliéster, PP, PA	Fibras
	Aparatos de plástico de un solo uso	PET, PP, PS, PVC	Películas, fragmentos, perlas, espumas, fibras y formas irregulares
	Productos cosméticos y de cuidado personal	PE, PET, PU	Perlas, fragmentos, formas irregulares, películas y fibras
Residuos de hostelería y turismo	Aparatos de plástico de un solo uso (vajillas, envases, productos de higiene personal), botellas de plástico	PP, PS, GPPS, PE	Películas, fragmentos, perlas, espumas, fibras y formas irregulares
Residuos médicos	Herramientas médicas de un solo uso (dispositivos médicos, envases, equipos de protección individual)	PVC, PU, PP, PC, PE, PVC, PS	Fragmentos, fibras, películas
Residuos agrícolas	Láminas agrícolas, envases, compost, fertilizantes químicos y otros utensilios de plástico	PE, nylon, PP, PVC, PET, PS	Películas, fragmentos, fibras, cuentas y formas irregulares
Residuos industriales	Carcasas de productos electrónicos	PVC, PET, PE, PP, PS, PU, PLA	Películas, fragmentos, perlas, espumas, fibras y formas irregulares
	Productos de caucho	ABS, EVA, SBR, PES	Fragmentos, polvo
	Productos textiles	Nylon, poliacrilonitrilo (PAN), poliéster, PP, PA	Fibras

2.5 ¿POR QUÉ MONITOREAR LOS MICROPLÁSTICOS?

El monitoreo se refiere a la inspección y control de una situación específica, en este caso, la cuantificación y clasificación de los MPs presentes en las playas como lo muestra la Figura 35. Este proceso debe ser constante para permitir la comprensión del comportamiento de este fenómeno a lo largo del tiempo. El estudio de la presencia de MPs en las playas puede contribuir a lo siguiente:

Establecer	Una línea base para evaluar el efecto de las medidas tomadas en cuanto al manejo de los residuos en ambientes antárticos
Comparar	La presencia de microplásticos entre distintas zonas antárticas (playas, mar y arroyos)
Evaluar	La presencia de diversos factores como estaciones, fenómenos naturales y actividades turísticas, entre otros
Identificar	Los tipos de microplásticos y las posibles fuentes y proponer líneas de acción específicas en base a ello
Involucrar	A las autoridades, instituciones, investigadores y a la sociedad en su conjunto en el manejo sustentable de los ambientes antárticos



Figura 35. Microplásticos en playas
Fuente: Creative Commons Public Domain Dedication.

2.6 MUESTREO DE MICROPLÁSTICOS

A continuación, se detalla el proceso para el muestreo de MPs en diferentes ambientes antárticos: arena de playa, agua de mar, arroyos y/o cañadas de deshielo. Para todos los muestreos se recomienda iniciar el proceso teniendo en cuenta los siguientes aspectos:

a) Información básica del área de muestreo, es necesario realizar mapas de ubicación con información básica del lugar:

- Escala gráfica o numérica,
- Orientación que indique el norte,
- Leyenda,
- Nombres de los lugares más importantes: montañas, lagos, mares, etc.
- Puntos de referencia, en este caso sirven las ubicaciones de las estaciones científicas.

b) Personal involucrado en la realización del muestreo

Durante la ejecución del monitoreo se recomienda como mínimo tres personas en campo, no solo para cubrir un área mayor sino como apoyo de seguridad.

c) Metodología de muestreo en campo

- Previo a la salida de campo se recomienda constatar la lista de chequeo para hacer una verificación de todos los equipos a ser usados, además de llevar baterías adicionales para equipos como GPS, cámaras o equipos electrónicos.
- En el traslado en bote, asegurar los equipos dentro de la embarcación, se debe protegerlos de la humedad dado que en el trayecto se pueden humedecer.

2.6.1 Muestreo en arena de playa

Para los recorridos a nivel de playa es importante contar con los materiales adecuados para el trabajo de campo. Debido a las condiciones climáticas y de movilidad en la Antártida no es factible, en algunos casos, ejecutar las actividades conforme lo planificado, siendo necesario aprovechar los espacios de buen tiempo para recabar la información como en la Figura 36, con buen tiempo facilita la toma de muestras.



a



b



c

Figura 36. Recolección de muestras en arena de playa. a) registro de punto GPS. b) preparación de empaque c) toma de la muestra.

a. Trabajo de campo

Los materiales de campo para el muestreo de MPs se detallan en la Tabla 1.3. Es importante planificar de forma correcta los muestreos de campo, especialmente en la fase preliminar, para evitar olvidar alguno de los materiales. Dado que el muestreo suele ser en lugares lejanos, más aún en el caso de la Antártida, resultaría inviable e irrecuperable el tiempo de muestreo. Además, también se debe considerar, en algunos casos, duplicar o triplicar las cantidades de algunos materiales y asegurarlos de forma correcta a la hora de utilizarlos en campo, ya que los fuertes vientos en el continente blanco pueden hacer que se pierdan fácilmente algunos materiales, o la destrucción por caída de algunos equipos.

Tabla 1.3. Materiales para trabajo de campo en muestreo de MPs en arena de playa

Trabajo de campo
Cuerda de algún color que contraste con la arena y la nieve y de una longitud de 100 m
7 estacas de plástico o metal (2 para anclar las cuerdas y 5 para ubicar los puntos aleatorios cada 20 metros)
Cinta métrica de por lo menos 100 metros
Muestreador cilíndrico de policloruro de vinilo (PVC), de 19 cm de diámetro y 5 cm de altura (que puede fabricarse cortando una tubería comercial)
Guantes de látex reutilizables
Lámina metálica
Pala metálica
Mazo de goma
Papel aluminio
Bolsas de cierre hermético para almacenar las muestras
Bolsas de cierre hermético para almacenar las muestras
Balanza con capacidad máxima de 20 kg, sensibilidad en gramos y con batería recargable
GPS (de preferencia con juego de baterías extra)
Cámara fotográfica (agregar una batería adicional)
Ficha de registro
Marcador de punta fina
Tabla de apoyo para escritura

Previo al trabajo de campo, el equipo investigador definirá los objetivos de cada salida, de manera que se cumplan con aquellos propósitos de la investigación o proyecto. Se deben seleccionar las zonas óptimas y seguras para el muestreo de arena de playa, teniendo en cuenta, incluso, la presencia de la fauna antártica. Es probable que se requieran salidas previas, prospectivas, para identificar las zonas más adecuadas. De igual manera algunas zonas de muestreo podrían no ser muestreadas en su totalidad, por lo que se debe adaptar o ajustar los objetivos y alcance de la investigación o proyecto. Una vez ubicada la línea de pleamar se debe colocar las estacas y medir el transecto y

puntos de muestreo como se observa en el esquema de la Figura 37. Dependiendo del tamaño de la muestra y los sitios de muestreo es posible que los investigadores busquen reducir el tamaño o volumen de las muestras in situ para lo cual pueden utilizar algunos de los métodos de reducción de volumen de muestras de suelo (Hidalgo-Ruz et al., 2012).

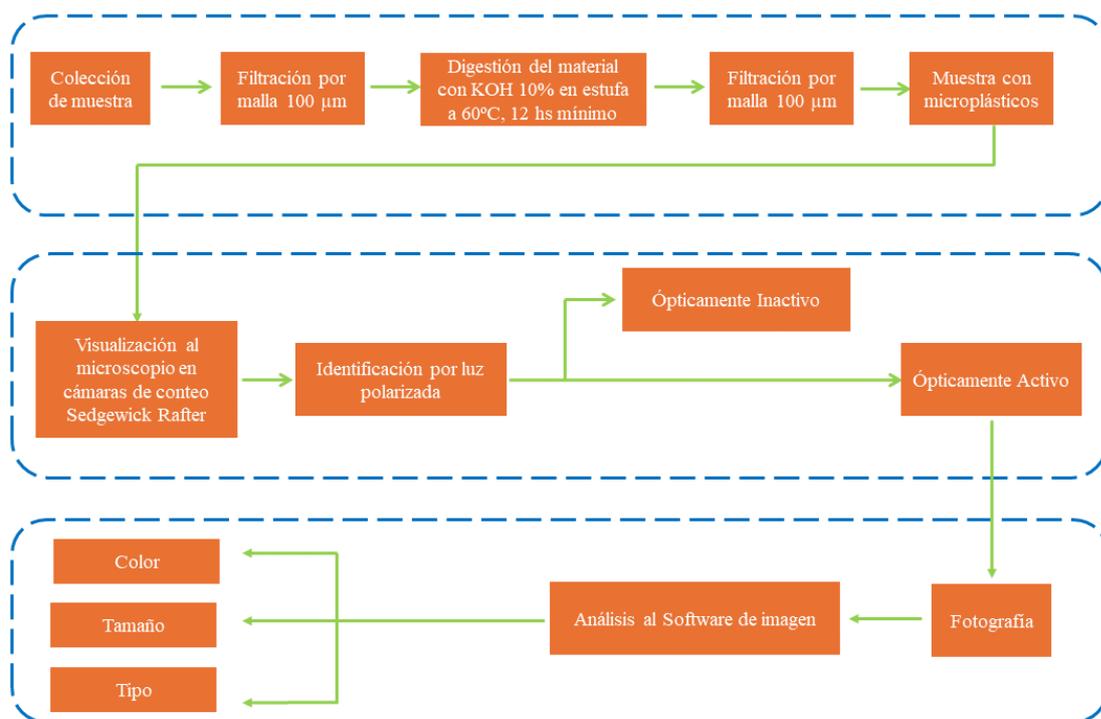


Figura 37. Esquema metodológico para el muestreo de microplásticos en arena de playa

La metodología para determinar la densidad de microplásticos (ítems por m²) en la arena fue desarrollada por el equipo del proyecto AntarPLAST de Uruguay, donde se indica la recolección de arena en cinco cuadrantes de 50x50 cm separados por 20 m, a lo largo de la línea de costa en la zona de mayor acumulación, por ejemplo, la última línea de marea alta como lo explican las Figuras 38 y 39. Además, se debe obtener una muestra de sedimento representativa del lugar de muestreo para caracterizar la sedimentología de la zona, por ejemplo, tamaño medio de grano y contenido de materia orgánica. Una vez en el laboratorio, puede ser necesario secar las muestras antes del análisis para evitar que la humedad o el agua interfieran en los resultados.

Los MPs deben ser extraídos de la arena mediante flotación al lavar el sedimento con una solución de carbonato de potasio (K₂CO₃), recolectándolos y almacenándolos en tubos Falcon (50ml) para su posterior análisis en laboratorio. Opcionalmente, se pueden descartar los falsos positivos, que son partículas que se asemejan a los MPs pero que no lo son. Finalmente, utilizando microscopios especializados, como el de luz polarizada, se cuantifican y clasifican los MPs registrando la información para análisis estadísticos posteriores.

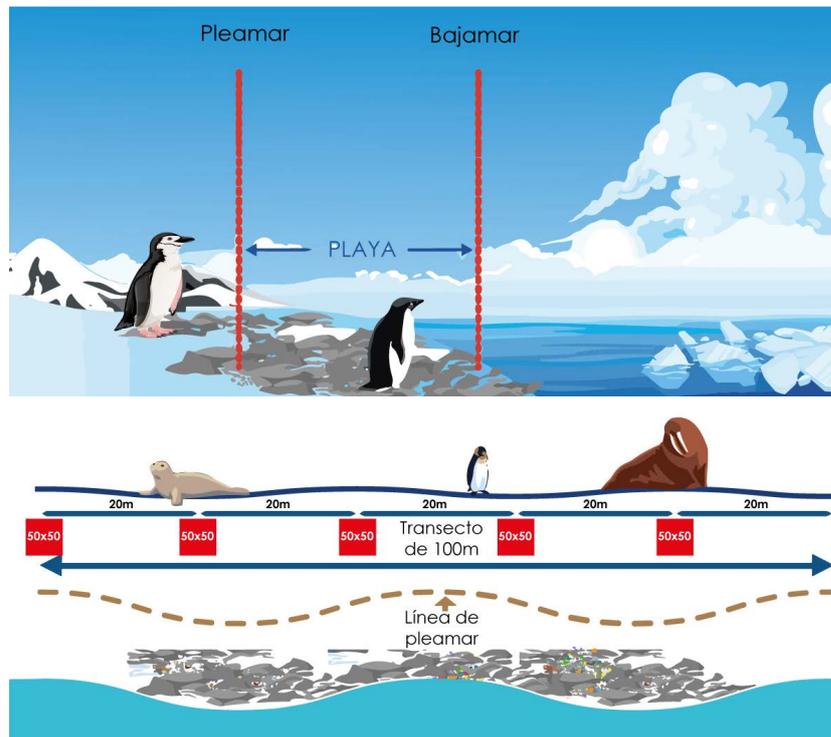


Figura 38. Línea de pleamar, ubicación de transecto y separación entre cuadrantes de muestreo (50 x 50 cm)

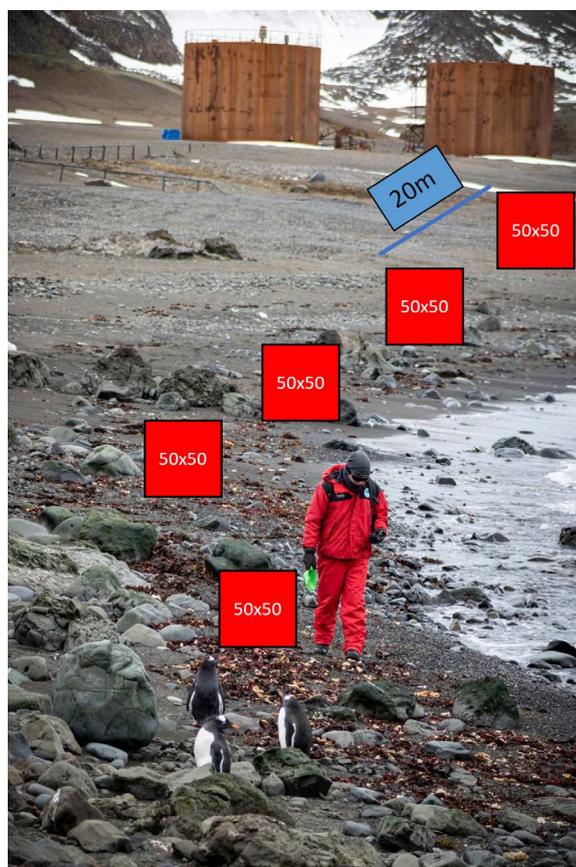


Figura 39. Transecto y cuadrantes de muestreo de microplásticos en arena de la Playa las Ágatas en la Isla Rey Jorge

b. Trabajo de laboratorio

El trabajo de laboratorio tiene como objetivo extraer los MPs presentes en las muestras de arena para su posterior cuantificación y clasificación (tabla 1.4).

Tabla 1.4. Materiales para trabajo de laboratorio

Trabajo de laboratorio
Agua oxigenada al 30%
Cloruro de calcio (CaCl ₂)
Agua desionizada
3 vasos de precipitados de 250 ml
Papel absorbente
Tamices de aberturas 4.75, 4.00, 3.35, 2.83 y 1.13 mm
Ácido clorhídrico (HCl) 0.5 N
Estufa para el secado de muestras de arena
Cámara fotográfica

El trabajo en laboratorio se realiza en cuatro etapas, detalladas a continuación:

- **Secado de las muestras**

El proceso de secado de las muestras de arena y los resultados la masa obtenida de arena seca se realiza e informan, al realizar el traslado final al laboratorio, tomando en cuenta que la humedad puede variar a lo largo del día debido a las variaciones de temperatura. En primer lugar, se establece la masa de cada muestra en base húmeda utilizando una balanza analítica; luego, la muestra húmeda se coloca en recipientes de aluminio para ser sometida a un proceso de secado en una estufa a 105°C durante 24 horas. Por último, se determina la masa en base seca (Vázquez et al., 2020).

- **Extracción de microplásticos**

La extracción de MPs se realiza mediante tamizado y pruebas de flotación. En primer lugar, se añade la muestra seca a un tamiz de malla 16, con una apertura de 1.13 mm para eliminar las partículas inferiores a 1 mm. Los sólidos retenidos en el tamiz se someten a un proceso de extracción mediante flotación. Las muestras que se someten a reducción de volumen pasan directamente a las pruebas de flotación. Algunos de los materiales necesarios para este proceso se detallan en la Tabla 1.4.

Para las pruebas de flotación, se preparan aproximadamente 50 ml de una solución salina de CaCl₂ con una densidad de aproximadamente 1.6 g/ml (37 g de CaCl₂ en 50 ml de agua) (Hidalgo-Ruz et al., 2012). Este volumen puede aumentarse en función

de la masa y la cantidad de muestras a extraer. La solución se transfiere a un vaso de precipitados u otro recipiente similar, luego se agrega la muestra tamizada, se agita durante un minuto y se deja reposar durante otro minuto. Con la ayuda de unas pinzas metálicas, se retiran los Mps flotantes, los cuales se enjuagan con agua destilada y se secan en una estufa a 60°C durante aproximadamente 2 horas.

- **Eliminación de falsos positivos**

En la arena es posible encontrar otros materiales que pueden ser confundidos con microplásticos, como los restos de plantas y animales marinos. Por lo tanto, en ocasiones es necesario eliminar estas partículas para su correcta identificación. Para determinar si se trata de materiales calcáreos, como restos de conchas y exoesqueletos, se utiliza una solución ácida de HCl al 0.5 N, que se se prepara mezclando 41.62 mL de HCl con una pureza del 37% en 1L de agua destilada, o en un volumen menor, que mantenga las mismas proporciones. Si al agregar la solución ácida se produce burbujeo y la partícula comienza a desintegrarse, es probable que se trate de una concha, dado que esto ocurre debido a la liberación de CO₂.

En cuanto a la materia orgánica (fibras vegetales y animales), se realiza una prueba similar, como lo muestra la figura 40. Se utiliza agua oxigenada que permite diferenciar las fibras sintéticas de las vegetales y animales, ya que oxida a estas últimas (Hidalgo-Ruz et al., 2012). Las partículas de estudio se agregan al agua y se agitan durante tres minutos, si la partícula se oxida y presenta una coloración amarillenta, se considera como materia orgánica, pero si no presenta las características anteriores, se identifica como una fibra sintética (Vázquez et al., 2020).



Figura 40. Trabajo de laboratorio en la Base PEVIMA, degradación de materia orgánica de origen animal

- **Cuantificación de microplásticos**

La presencia de MPs se suele informar en función de la cantidad de arena presente en la muestra, lo que facilita establecer un parámetro de concentración y comparar las muestras entre sí.

Los resultados obtenidos pueden presentarse en diversas unidades de concentración; la elección de una u otra unidad dependerá del objetivo del estudio o de la información disponible. Sin embargo, para que los resultados sean comparables con otros estudios, se recomienda contar el número de MPs extraídos de cada uno de los diez puntos y determinar su masa (en miligramos, mg), lo que permite informar las concentraciones en las unidades que se muestran en la Tabla 1.5.

En las unidades expresadas en términos de área y volumen se tiene en cuenta el diámetro (0.19 m) y la altura (0.05 m) del muestreador. Para las unidades que incluyen metro lineal, se considera la longitud de 0.19 m del diámetro del muestreador. Para cada una de las diferentes unidades de concentración, se recomienda obtener la suma total, el promedio, la desviación estándar, la mediana y el rango.

Tabla 1.5. Unidades en que puede reportarse la concentración de microplásticos

Unidades	Significado
mg MP/kgsh	Miligramos de microplásticos por kilogramo de arena húmeda
mg MP/kgss	Miligramos de microplásticos por kilogramo de arena seca
# MP/kgsh	Número de microplásticos por kilogramo de arena húmeda
# MP/kgss	Número de microplásticos por kilogramo de arena seca
# MP/l	Número de microplásticos por litro de arena
# MP/m ²	Número de microplásticos por metro cuadrado
# MP/m	Número de microplásticos por metro lineal del muestreador

Por otro lado, si el muestreo se realiza en diversos días, los resultados en cualquiera de las unidades antes presentadas pueden expresarse como la suma total o como el promedio, indicándolo claramente al presentar los resultados.

- **Clasificación de microplásticos**

Los MPs previamente extraídos se pueden clasificar por tamaño, tipo, color y polímero, en función de los objetivos del estudio.

- **Clasificación por tamaño**

Si el número de piezas es inferior a 30, se aconseja determinar el tamaño de cada una de ellas utilizando una regla o una hoja milimétrica, siguiendo los criterios siguientes:

- Para las formas esféricas o circulares, se determinará el tamaño en función del diámetro.
- En el caso de las fibras, el tamaño se definirá según su anchura.
- Para los fragmentos irregulares, se considerará el tamaño como la medida de su lado más corto.

En cambio, si el número de MPs es alto, se pueden utilizar tamices con mallas de 4, 5, 6, 7 y 16, con aberturas de 4.75, 4.00, 3.35, 2.83 y 1.13 mm, respectivamente, o tamices con aberturas similares, que permitirán separar las MPs en intervalos de 5.00 - 4.75, mediante inspección visual, 4.75 - 4.01 mm, 4.00 - 3.01 mm, 3.00 - 2.01 mm y 2.00 - 1.00 mm.

- **Clasificación por tipo**

Los tipos de MPs se identifican de manera visual, en caso de ser necesario se emplea un microscopio o lente de aumento. Con base en lo propuesto por Laglbauer et al. (2014), los MPs pueden clasificarse en fragmentos rígidos, fibras, pellets, espumas que se comprimen al presionarlos con los dedos, películas, que son flexibles y balines.

- **Clasificación por color**

La clasificación empleada para esta característica es la reportada por Boerger et al. (2010), que contempla categorías de colores gris, blanco, azul, amarillo, naranja, verde, rosa, rojo, morado, negro y transparente. Sin embargo, si en el estudio se presentan otros colores o si se tienen objetivos específicos como estudiar la degradación de los MPs, esta clasificación puede ampliarse.

- **Clasificación por polímero**

La identificación del tipo de plástico presente en cada MPs puede llevarse a cabo utilizando diferentes técnicas, sin embargo, una de las más utilizadas es la técnica de infrarrojo (FTIR) debido a su simplicidad y no destructividad. Esta técnica requiere de una preparación mínima de la muestra y permite determinar rápidamente el polímero, aunque se necesita un equipo especializado para llevarla a cabo.

En la técnica de FTIR se utiliza un Transmisor de Reflexión total Atenuada (ATR por sus siglas en inglés) que se coloca en contacto con la muestra de MPs a analizar. Solo se toman en cuenta los MPs que tienen un tamaño mayor a 2 mm, que generan una señal estable. Como resultado, se obtiene un espectro que puede ser comparado con una biblioteca de espectros característicos de cada tipo de plástico.

2.6.2 Muestreo en agua de mar

Para el muestreo de agua de mar es importante realizar una correcta selección de los puntos o zonas de muestreo, debido a que por las condiciones de viento y factores climáticos no es posible disponer del bote y buen tiempo de forma constante. La selección del sitio de muestreo es determinada por varios factores, entre ellos el tipo de embarcación disponible. Se recomienda que el sitio de muestreo este ubicado enfrente

de la zona de playa donde se realice el monitoreo de MPs en arena, preferiblemente entre uno y dos kilómetros alejado de la línea de costa. De acuerdo con las características del sitio de muestreo, como su geomorfología, batimetría, entre otras, se decidirá el recorrido. La metodología de muestreo de microplásticos en aguas marinas fue elaborado bajo el proyecto RLA/7/025 y el proyecto Monitoreo de Microplásticos en el Océano Pacífico Oriental Ecuatorial con énfasis en las Islas Galápagos en cooperación con el Organismo Internacional de Energía Atómica OIEA, dónde se recomienda hacer un transecto de navegación que cubra la mayor área de muestreo, en zig-zag si el área es muy cerrada, sino paralelo a la línea de costa. Para evitar sesgos en el muestreo se debe planificar previamente la selección del sitio de muestreo.

a. Trabajo de campo

En el trabajo de campo son necesarios algunos materiales para cumplir con los objetivos de la investigación. Dado que los MPs se encuentra diluidos y flotando en el agua de mar, se hace muy complicado encontrarlos con facilidad, para ello se utiliza la red manta que facilita el proceso de acumulación, recogida e incrementa la probabilidad de encontrarlos en el agua de mar y determinar su concentración. En la Tabla 1.6 se enlistan los materiales para el trabajo de campo en el muestreo de MPs en agua de mar.

Tabla 1.6. Materiales de trabajo de campo para muestreo de MPs en agua de mar

Trabajo de campo
Cabo para sujetar la red
Planillas de campo para registro de datos
Red Manta, abertura rectangular de 16 cm de alto y 61 cm de ancho, red de 3 metros de largo de 300um, con una superficie de 30x10 cm ² final de bacalao;
Cubilete y bacalao (bolsa recolectora)
Guantes de nitrilo reutilizables
Soportes, estructuras, cuerdas y ganchos, preferiblemente metálicos para sujetar la red manta
Winche, grúa, polea, arnés o brida para el arrastre de la red
Flujómetro
Cronómetro
Contenedores o bolsas de cierre hermético para almacenar las
Bomba sumergible o balde para el lavado de la red
GPS o celular con acceso a internet
Cámara fotográfica
Cuchara y pinzas metálicas
Piseta
Frascos de boca ancha de preferencia pared recta

Alcohol al 96% para conservación de muestras, prefiltrado por 25µm
Marcador de tinta indeleble
Tabla de apoyo para escritura
Cinta adhesiva de papel para etiquetas

La Figura 41 detalla tanto el procedimiento en campo como en laboratorio para el muestreo de MPs en agua de mar. El trabajo de campo suele variar cuando se trata de agua de mar y de agua dulce continental proveniente de arroyos y cañadas de deshielo, estas últimas se explican a profundidad en el apartado 1.6.3 de esta guía. Mientras que el procedimiento de laboratorio es el mismo, al tratarse de evaluar la concentración de MPs en agua, solo difiere del trabajo de laboratorio que se realiza para muestras de arena, revisado en el apartado 1.6.1.

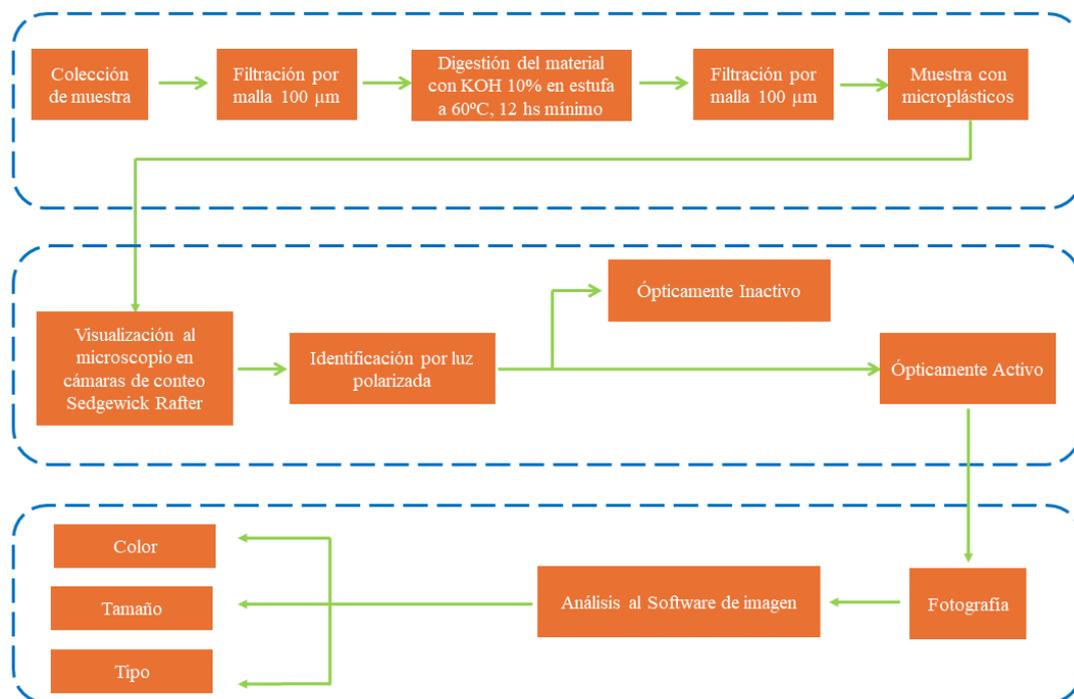


Figura 41. Esquema metodológico para el muestreo de microplásticos en agua de mar

- **Procedimiento en el muestreo**

La monitorización de los MPs en aguas superficiales se lleva a cabo mediante el uso de una red de arrastre de malla de 300 µm, con la cual se recoge agua de mar. La red debe ser colocada en el lateral de la embarcación, evitando así la contaminación de la muestra con la estela generada por el motor. En el centro de la red, se debe instalar un flujómetro para estimar el volumen de agua, teniendo en cuenta el área de la boca de la red cubierta por el agua y el tiempo de arrastre.

En cada ubicación, se deben tomar 3 muestras con arrastres de al menos 20 minutos cada uno, siempre que las condiciones climáticas lo permitan. La embarcación debe mantener una velocidad de entre 1 y 3 nudos para estabilizar la red. Las muestras

recolectadas deben ser almacenadas en frascos de vidrio esterilizados y previamente etiquetados, para su posterior análisis en el laboratorio. Los datos recopilados in situ durante la maniobra deben ser registrados en las hojas de campo. La toma de datos debe ser precisa desde el inicio hasta el final de la toma de muestra. Las réplicas se realizan siempre que las condiciones climáticas y de recursos lo permitan. Esta guía tiene como objetivo optimizar recursos y tiempo en los análisis.

- **Acondicionamiento de la red**

Los envases deben ser etiquetados con antelación al trabajo en campo, a fin de evitar errores o pérdidas valiosas de tiempo. Debido a las condiciones climáticas, se recomienda para tomar notas, el uso de cuadernos y hojas, a prueba de agua.

La red debe ser enjuagada con agua de mar fresca, de afuera hacia adentro, utilizando una bomba de succión con suficiente potencia para ayudar a eliminar cualquier partícula o material que esté adherido a los poros de la red. El enjuague de la red debe realizarse de afuera hacia adentro y boca abajo, manteniendo la red en posición vertical en la medida de lo posible, con el vaso o copa y el cubilete arriba y la boca de la red hacia abajo como lo indica la Figura 42.



Figura 42. Preparación de la red manta previo al muestreo de MPs en agua de mar

Es importante tener en cuenta el tiempo que la red ha estado guardada y sin usar, por lo que antes de tomar muestras, debe enjuagarse, de preferencia en tierra, primero con abundante agua filtrada y luego con agua mili-Q o destilada, si fuese necesario.

- **Condiciones de la red durante el arrastre**

Es importante mantener un ritmo constante durante el arrastre, evitando que la línea de remolque pase por debajo del bote o embarcación. Si la red de arrastre salta fuera del agua o se hunde bajo una ola, significa que se está moviendo demasiado rápido. Para realizar el arrastre de manera adecuada, es necesario tomar el tiempo utilizando un cronómetro. Además, se debe registrar el estado del mar, el cual debe encontrarse en un nivel 4 o superior según la escala Beaufort. Asimismo, si los vientos superan los 16 nudos, es preferible recuperar la red, que, en ningún caso, debe rebotar ni sumergirse por debajo de la superficie, sino que debería desplazarse a través de la superficie del agua.

- **Muestreo**

La recolección de muestras debe llevarse a cabo utilizando la Red Manta a través de arrastres superficiales con una duración de 20 minutos, dependiendo de las condiciones climáticas. Se recomienda desplegar la red fuera de la estela y realizar el arrastre desde la popa o el costado de la embarcación como se observa en la Figura 43, manteniendo una velocidad constante entre 1 y 3 nudos. Una vez finalizado el tiempo de arrastre y remolque de la red, también se debe registrar la lectura del flujómetro. Se deben anotar las coordenadas GPS inicial y final, así como la hora de inicio de la toma de muestras y la distancia del área de muestreo. Con precaución se debe desmontar el cubilete y el bacalao de la red utilizando un frasco lavador (piseta), pinzas y cucharas metálicas para retirar cualquier material adherido al copo de la red. Las muestras deben ser recolectadas en frascos de vidrio y preservadas en etanol al 96%, en caso de no ser procesadas de inmediato.



Figura 43. Arrastre red manta en agua frente a la base chilena Arturo Prat, Isla Greenwich

- **Remolque de la red manta**

La recuperación de la red debe realizarse de manera cuidadosa para evitar que las líneas se enreden debajo del bote. Durante el remolque, es importante que la embarcación se desplace a una velocidad inferior a 3 nudos.



Figura 44. Recogida de la red en agua de mar con las muestras de MPs

Además, se recomienda enjuagar la red con agua de mar como se indica en la Figura 44 que muestra el trabajo de recoger la red, siempre desde el exterior y en dirección de la boca hacia el extremo del cubilete, con el fin de concentrar las partículas adheridas a la red. Es fundamental que el agua de mar utilizada haya sido previamente filtrada con un retazo del tamaño adecuado.

b. Trabajo de laboratorio

Para el trabajo en laboratorio de debe contar con los materiales y reactivos necesarios para realizar los procesos de limpieza y análisis (tabla 1.7). Las muestras son filtradas mediante una bomba de vacío a través de una malla de 100 micrómetros, que cubre los vasos de filtración. El material retenido es enjuagado con una solución de KOH al 10% en un matraz de Erlenmeyer de 100 ml, utilizando un embudo de vidrio y bajo una cámara de flujo. La muestra se lleva a un volumen final de 100 ml, utilizando

un total de 100 ml de KOH. El matraz de Erlenmeyer se tapa con papel aluminio y se realiza la digestión en una estufa a 60°C durante al menos 12 horas. A continuación, la muestra se filtra nuevamente a través de una malla de 100 micrómetros y el material retenido se enjuaga con la menor cantidad posible de agua mili-Q en un frasco de vidrio. Posteriormente, la muestra se preserva tapada hasta el momento del análisis óptico. Todas las muestras se observan en su totalidad en cámaras de conteo Sedgewick Rafter cubiertas por cubreobjetos.

Tabla 1.7. Equipos, materiales e insumos para el trabajo en laboratorio

Trabajo de laboratorio
EQUIPOS
Horno (temperatura 200°C) para esterilización de materiales,
Horno para secado de muestras (temperatura $\leq 50^\circ\text{C}$),
Balanza analítica (sensibilidad mínima de 0.01 g) para preparación de materiales,
MATERIALES
Vasos de precipitados volúmenes de 600, 1000 ml,
Agitador magnético,
Bomba de vacío,
Estereomicroscopio o microscopio de disección (40X de magnificación),
Campana de flujo laminar (recomendado),
Tamices de acero inoxidable (20cm de diámetro y 5ml de altura aprox.) poro de malla de 300 μm , 1mm y 5mm.,
Barras magnéticas de vidrio,
Papel aluminio,
Vidrio reloj (para cubrir el vaso de precipitado),
Sistema de filtración de vidrio de 25mm o 47mm (la medida puede reducir el tiempo de identificación),
Matraz kitasato de al menos 1L,
Filtros metálicos de 25 – 47mm de diámetro y 100 μm (tamaño de poro) para filtrado de muestra,
Filtros de GF/F de 25-47mm (para filtrado),
Pinzas de acero inoxidable (5s – 4 punta muy fina, se recomienda los usados para los trabajos electrónicos),
Pipetas pasteur de vidrio,
Placas petri y viales de vidrio de boca ancha (almacenamiento de partículas extraídas),

Cinta adhesiva de papel (etiquetado de muestras),
Piseta (para lavado), uso en agua destilada o desionizada,
Bata de laboratorio (se recomienda colores llamativos, antifluido para evitar contaminación por fibras),
Guantes y gafas de seguridad para manipulación de reactivos y preparación de soluciones),
Cámara fotográfica
INSUMOS
Agua filtrada ($\leq 25 \mu\text{m}$ o por un tamaño menor)
NaCl (grado industrial)
Detergente líquido
Peróxido de hidrógeno al 30% (H ₂ O ₂)
Etanol (grado etílico) para limpieza de materiales y superficies de trabajo, también puede ser Alcohol isopropílico
Metanol (para limpieza de los filtros metálicos),
Solución saturada NaCl (1.2 g·cm ⁻³), previamente filtrada por poro de 25 μm o menos

Nota. La elección del tipo de filtro (metálico, GF/F, filtro de oro), depende del análisis químico que se plantee realizar (FTIR O RAMAN).

Durante el examen óptico de las muestras de agua, es esencial verificar la presencia de partículas de origen mineral que sean ópticamente activas bajo el microscopio de luz polarizada, debido a que esto puede causar confusión inicial sobre su procedencia. En la Figura 45, las imágenes no muestran diferencia aparente.

Para diferenciarlas, se lleva a cabo una prueba que implica observar una muestra de arena bajo el microscopio, identificando similitudes y diferencias con los fragmentos encontrados en otras muestras, lo cual facilita descartar el origen plástico basándose en su patrón de colores y formas. Además, es necesario asegurarse de que el método de digestión descomponga por completo todo lo que no sea plástico, para evitar la presencia de restos, por ejemplo, exoesqueletos de zooplancton, puesto que algunas de estas partículas pueden estar compuestas por minerales que también son ópticamente activos bajo este tipo de luz.

Por otra parte, es importante observar las diferencias en la coloración de las partículas entre la observación microscópica y las fotografías tomadas con cámara y/o software de análisis de imágenes, lo que mejora la caracterización. Asimismo, se deben identificar los colores rojos, azules y violetas de fibras y fragmentos como partículas ópticamente activas en el análisis de imágenes.

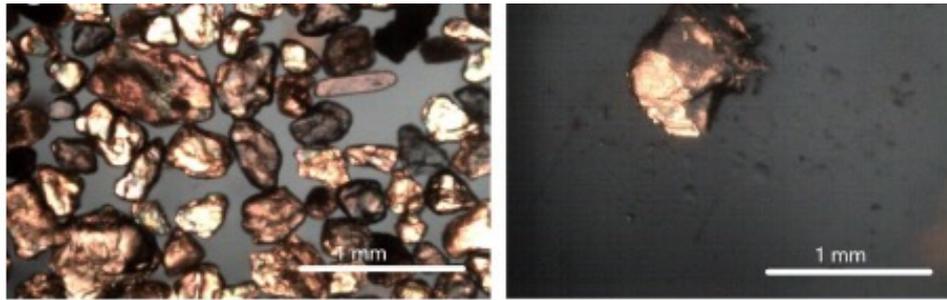


Figura 45. Partículas de origen mineral bajo el microscopio de luz polarizada

Después de la digestión realizada, es común encontrar objetos ópticamente inactivos. En situaciones donde se detecten fragmentos ópticamente inactivos y se sospeche que podrían ser MPs, se recomienda llevar a cabo la prueba de la aguja caliente, la cual puede dar resultados positivos en casos como fragmentos de pintura y otros de gran espesor. Por último, es importante examinar los MPs que puedan estar presentes en la solución de KOH al 10% o en el agua destilada utilizada durante el procesamiento de las muestras.

2.6.3 Muestreos en arroyos y cañadas de deshielo

Para la recolección de muestras en arroyos de deshielo, se describe la metodología desarrollada por el equipo del proyecto AntarPLAST de Uruguay, donde se emplea una red tipo Surber con abertura de ojo de malla de 300 μm . Esta red se sitúa en aguas arriba, cerca de la desembocadura durante 10 minutos, y se toman 3 réplicas. El volumen de agua filtrado debe ser calculado con un flujómetro ubicado en el centro de la boca de la red. En situaciones donde la profundidad del arroyo sea menor que el tamaño de la boca de la red y no la cubra por completo, se debe ajustar la posición del flujómetro y medir el nivel de agua en la boca para el posterior cálculo del volumen filtrado. Las muestras recolectadas deben ser almacenadas preferiblemente en frascos de vidrio y conservadas en formol al 4% para su análisis posterior.

La fijación de la muestra es un proceso esencial en el análisis de muestras biológicas, y el formol desempeña un papel fundamental en este proceso. Actuando como agente de fijación, el formol preserva la estructura de las muestras, incluyendo los MPs presentes en ellas. Esto es crucial, puesto que ayuda a mantener la integridad de los plásticos y evita su degradación durante el procesamiento y análisis.

Además de su función de fijación, el formol también juega un papel importante en la prevención de la contaminación biológica de las muestras. Al evitar la descomposición biológica, el formol garantiza que los microorganismos no crezcan en las muestras, lo que podría interferir con la detección precisa de los microplásticos. Esto asegura que los resultados de las pruebas sean más confiables y precisos.

Otra ventaja de utilizar formol en la fijación de las muestras es que facilita su manipulación. Al fijarse con formol, las muestras se vuelven más rígidas y fáciles de manejar durante la preparación y el análisis. Esto es especialmente beneficioso cuando se trabaja con muestras pequeñas o delicadas que contienen MPs, debido a que permite un manejo más preciso y evita posibles daños durante el proceso.

Sin embargo, es importante tener en cuenta que el uso de formol también tiene sus desafíos y consideraciones, como la toxicidad del compuesto y en su potencial impacto en la salud humana y el ambiente. Por lo tanto, su uso debe realizarse siguiendo las normativas y precauciones adecuadas.

a. Trabajo de campo

Para el trabajo en campo se debe contar con los materiales y equipos , preparados es decir limpios, calibrados y correctamente guardados para movilizarlo a través de las diferentes islas (tabla 1.8).

Tabla 1.8. Equipos, materiales e insumos para el trabajo en campo

Trabajo de campo
Red tipo Surber
Copo de la red
Estacas
Flujómetro
4 frascos cada vez que se muestree el/los arroyos (1 para el control de la red, 3 para las muestras réplicas del arroyo)
Piseta
Etiquetar los frascos antes de usarlos

- **Lavado de la red**

Antes de utilizar la red es necesario lavarla con abundante agua y luego realizar de 1 a 2 lavados adicionales con agua mili-Q o agua destilada. Para tomar una muestra que servirá como control de la red, se debe lavar con un vaso o copa que contenga un volumen conocido de agua mili-Q o destilada. Esta muestra se debe guardar en un frasco previamente etiquetado y fijarla con formol al 4%. De esta manera, la muestra cubrirá los posibles materiales particulados que sean liberados por la red y que se encuentren en el formol, evitando así una sobreestimación al momento de analizar las muestras.

- **Colocación el flujómetro**

Los arroyos con poco caudal de agua y poco profundos no podrán ser muestreados con este método.

- **Muestreo**

El procedimiento para recolectar y analizar MPs en agua de arroyos y cañadas de deshielo es similar al utilizado para el agua de mar. Primero, se debe lavar la red, luego se la ubica contracorriente cerca de la desembocadura del arroyo y se la asegura con

estacas. Generalmente, se deja correr agua durante al menos 10 minutos, en caso de que la corriente sea fuerte y se acumule mucho material, como algas o sedimentos, se debe reducir el tiempo.

A continuación, se levanta la red y se traslada lo retenido en el copo a un frasco de vidrio previamente lavado con agua del arroyo. Se puede utilizar una piseta, que igualmente haya sido bien lavada para ayudar en el proceso. Se vuelve a colocar el copo en la red y se repite el procedimiento. Es importante cuidar que el tiempo sea el mismo en cada réplica. Se deben registrar sistemáticamente los datos del flujómetro inicial y final, asegurándose de que esté girando. También se debe registrar hasta qué punto fue cubierta la red por el agua del arroyo. Y se debe medir el ancho para poder estimar posteriormente el caudal. Es importante evitar posicionarse delante de la boca de la red al instalarla en el arroyo, debiendo hacerse desde un costado. Por último, las muestras recolectadas se deben fijar con formol al 4% para su posterior análisis en el laboratorio.

Recomendaciones para los muestreos en agua de mar, lagos y arroyos

- Realizar un control de contaminación de la red implica lavarla con agua mili-Q o destilada antes de cada muestreo y guardar lo retenido en un frasco.
- Enjuagar tanto la red como el copo con agua del sitio de muestreo antes de iniciar la toma de muestras.
- Asegurar la red manta a la embarcación con un cabo de seguridad para evitar su pérdida.
- Posicionar el flujómetro a la mitad de la boca de la red y registrar su lectura inicial antes de lanzarla al agua.
- Al lanzar la red manta al agua, verificar que esté en la posición correcta y evitar que la cuerda se tense antes de estabilizarla para que ondee en la superficie.
- Enjuagar los frascos con agua del sitio de muestreo antes de depositar la muestra.
- Utilizar pisetas con agua del sitio de muestreo para transferir las muestras a los frascos.
- Tomar nota del tiempo de muestreo y de los datos del flujómetro inicial y final, verificando que siga girando.
- Conservar las muestras en etanol al 96% previamente filtrado por una malla de 2 μm o filtros gf/c para evitar la contaminación, especialmente de fibras.









LÍQUENES

CAPÍTULO 3

3.1 LOS LÍQUENES



Figura 46. Zona rocosa cubierta por líquenes - isla Greenwich

Un líquen es una asociación de un hongo y un alga como lo muestra la figura 47, los dos organismos están entremezclados formando un solo talo como se observa en la figura 46. Actualmente se conoce que de esta asociación forman parte también las levaduras. El componente fúngico del líquen se denomina micobionte y el componente algal se denomina ficobionte (Barreno y Pérez-Ortega, 2003; Garcés et al., 2003; Spribille et al., 2016; Benavent, 2017; Spribille et al., 2022).



Figura 47. Componentes del líquen

Fuente: <https://liquencity.org/wp-content/uploads/2018/08/Imatge-1-768x235.jpg>

En los líquenes se pueden distinguir un talo formado en su mayor parte por hifas fúngicas entrecruzadas, los apotecios o estructuras reproductivas limitadas a una capa sub-superficial y representan aproximadamente sólo un 7% del peso seco del líquen (Cubas et al., 2010; Kuhar et al., 2013). Existen varios morfotipos de líquenes en base al tipo de talo que presenta:

- **Líquenes Crustosos**

Esta forma de crecimiento es característica de los líquenes que se incrustan en forma de costras a los sustratos, en muchos casos dan la impresión de manchas de

pintura. Su estructura carece de una corteza inferior, por lo cual las hifas fúngicas cumplen la función de fijarse al sustrato, ya sea suelo, cortezas de árboles o rocas como la figura que muestra un líquen que crece sobre las rocas. Dentro de este grupo se pueden distinguir cuatro grupos de líquenes:

- leprosos (carecen de estructuras de capas, es un cuerpo simple en forma de masa formado por células de algas y filamentos de hongos),
- placodioidea (carece prótalo con bordes en forma de lóbulos de apariencia alargada fuertemente unidos al sustrato),
- rimosa (el talo forma una superficie lisa y a medida que alcanza la madures sea grieta) y
- aerolada (se caracteriza por poseer una médula con grietas muy visibles entre las areolas (Purvis, 2000; Flores, 2014).



Figura 48. Formas líquénicas según el talo: Talos crustosos

- **Líquenes foliosos**

Presentan estructuras complejas altamente diferenciadas en la superficie superior e inferior con apariencia laminar como se observa en la figura 48, por lo general se adhieren parcialmente al sustrato por medio de rizinas en forma de raíz o por una estera hifal fúngica. En cuanto al tamaño pueden llegar a formar estratos de hasta 30 centímetros de diámetro. Los líquenes con crecimiento foliáceo se subdividen en: lobulado folioso, umbilicato folioso y gelatina foliosa, los lóbulos en este tipo de líquenes son aplanados y sólidos. Dentro de este grupo se encuentra a *Xanthoparmelia convoluta* (Kremp.) Hale, y *Xanthoparmelia vagrans* (Nyl.) Hale, cuya característica es no estar adherido al sustrato por tanto son fácilmente desplazados por el viento (de Paz, y Burgaz, 2009).



Figura 49. Formas líquénicas según el talo: Talos foliáceos

- **Líquenes fruticosos**

Tienen una apariencia de pequeños arbustos ya sea erectos o colgantes en tamaños que van de menos de un centímetro a varios metros como se observa en la figura 50 y los talos siempre son heterómeros. Su presencia es predominante en ambientes con abundante humedad relativa (aeroohigrófilos) adheridos al sustrato por una mínima parte del cuerpo y en algunos casos pseudopodécios que contienen estructuras para el proceso de reproducción sexual (Herrera-Campos et al., 2014).



Figura 50. Formas líquénicas según el talo: Talos fruticoso

- **Talo filamentoso**

Son formaciones filamentosas de apariencia muy fina y de aspecto lanoso enmarañado ya sean lineales, ondulado, contorneado y lobulado, fijamente adheridos al sustrato como se observa en la Figura 51. Los líquenes de este tipo están formados por un micobionte constituido por el alga del género *Trentepohlia*. También es característico en el grupo que los individuos presenten un eje principal del cual parten las ramificaciones, en cuanto al pigmento pueden presentar un coloreado variado que va desde amarillo, verde y anaranjado (Nash, 2008).



Figura 51. Talos filamentoso (*Coenogonium implexum*)

- **Talos gelatinosos**

En gran parte de los líquenes con talos gelatinosos, el fitobionte es quien determina las condiciones y formas de crecimiento como muestra la Figura 52, a un líquen de tipo gelatinoso. Otra de las características está determinada por el crecimiento en zonas con humedad, ya que bajo esta condición y la presencia de algas verde azuladas hacen que los lóbulos se hinchen. Este tipo de líquenes son especialistas en la fijación de nitrógeno siendo los más resistentes a las alteraciones lo que les ha permitido su colonización en lugares áridos y sitios con bajas temperaturas (Nash, 2008; Otálora, 2010; Montoya, 2019).



Figura 52. Talos gelatinosos con coloración verdosa

- **Talos escuamulosos**

Los talos de tipo escuamuloso presentan una formación en conjunto donde se diferencian areolas en formas de escamas con bordes que se encuentran parcialmente adheridos al sustrato o imbricadas entre sí como se observa en la figura 53, los líquenes con talos escuamulosos pueden presentar formas lobulados o pruinosos, siendo poco comunes entre los líquenes saxícolas y son considerados como el grupo más especializado. También dentro de la estructura presentan un hipotalo que tiene la función de recubrir la cara inferior y lateral de talo. En cuanto a su hábitat son especies que crecen sobre material vegetal y suelos ácidos (de Paz y Burgaz, 2009; Rai y Upreti, 2013).



Figura 53. Talos escuamuloso

- **Talos compuestos**

Líquenes formados por dos estructuras: Talo primario que puede ser crustáceo, escuamuloso o, más raramente foliáceo, que se extiende en el sustrato. Talo secundario erguido ramificado denominado podocios tal como lo muestra la Figura 54, en la que predomina el talo secundario.



Figura 54. Talos compuestos

3.2 LÍQUENES EN ANTÁRTICA

El incremento de estudios de la flora liquénica en la región antártica ha dejado nuevos registros de especies de hongos liquenizados, cifras que reflejan cerca de 600 especies correspondiendo el 3.3% del total de especies reconocidas a nivel mundial (Kett, 2008; Sergio Pérez-Ortega et al., 2023). La región antártica constituye un conjunto de sistemas con presencia de un desierto hiperárido con temperaturas extremadamente frías, fuertes corrientes de viento y ausencia de agua líquida; prácticamente es un desafío para las especies del lugar, ya que la única forma de captar agua es a través de la sublimación de la nieve. En las condiciones anteriormente mencionadas, pocos microorganismos pueden sobrevivir, como es el caso de los líquenes de la Figura 55, que sobreviven a muy bajas temperaturas.



Figura 55. Liquen antártico cubierto parcialmente de nieve

La mayor parte de los suelos antárticos están cubiertos por gruesas capas de hielo y una mínima parte está libre de esta capa fría. A pesar de esto en esas mínimas áreas de territorio, aquí se desarrolla la más diversa variedad de comunidades vegetales de toda la región que constituye la Antártida. Estos lugares se denominan micro oasis antárticos, haciendo relación a que en un determinado momento la alta reflectancia de la radiación solar emitida por el mar provoca que durante el día parte de los frentes de hielo pasen al estado líquido. Es por eso que los acantilados y laderas costeras de la región norte adquieren las condiciones propicias para que musgos y líquenes prosperen (Sancho y Pintado, 2011).

También en las zonas consideradas relativamente templadas que corresponden a la Antártida marítima se han registrado dos especies vasculares: *Colobanthus quitensis* (Kunth) Bartl. de la familia Caryophyllaceae y la especie *Deschampsia antarctica* É. Desv. que pertenece a la familia Poaceae (Molina-Montenegro et al., 2012).

En la Antártida, el suelo y el material rocoso son cubiertos por comunidades de vegetales poiquilohídricos, donde las condiciones ambientales tienen influencia del océano como fuente de humedad para las especies; hacia el interior del continente estas condiciones ambientales cambian de forma drástica provocando que las necesidades de supervivencia sean exigentes para soportar sequedad y frío extremo. Las condiciones climáticas variantes han permitido que los valles secos sean catalogados como las zonas más inhóspitas de la Antártida, en este lugar los organismos vivos se desarrollan bajo la superficie terrestres (Sancho y Pintado, 2011).

Las especies presentan amplias distribuciones, en el caso de los hongos liquenizados y en base a la información obtenida en diferentes estudios (Øvstedal et al., 2001) han establecido patrones que responden a la distribución geográfica de los líquenes antárticos, los cuales son: hemisferio sur, cosmopolitas, región magallánica, bipolar y antártico-endémica. Las relaciones simbióticas con intervención de diferentes fotobiontes establecen relaciones con organismos que presenten adaptaciones a las condiciones locales lo cual representa un mecanismo de especiación. De lo que se conoce, los líquenes crustáceos son el grupo con evoluciones notables que le permiten mejorar la capacidad de hidratación que explicaría la capacidad para prosperar en regiones tan extremas (Otálora et al., 2010).

3.2.1 COLECTA DE MUESTRAS LIQUÉNICAS

Las salidas a campo están siempre sujetas a los pronósticos del tiempo. En ocasiones, la planificación inicial se altera, por las condiciones ambientales imperantes, con cambios recurrentes de temperatura, presencia de fuertes vientos y nevadas. En estos casos, el trabajo se suspende y se debe regresar inmediatamente a la base. Como consecuencia, es importante aprovechar al máximo los pequeños espacios de buen tiempo, para realizar el muestreo planificado, garantizando el buen estado del material y de los equipos, sin exponerlos a que puedan sufrir daños.

El traslado a los destinos varía dependiendo de la distancia. Si se trata de zonas continuas y cercanas, el investigador se desplaza a pie, acompañado siempre de un colega, mientras que, para llegar a las islas, se utilizan botes. En todos los casos, es fundamental contar con equipos de comunicación. En ocasiones, los sitios de muestreo previamente identificados en cartografía deben ser reubicados, sea por medidas de seguridad para el investigador, por estar ubicados en fuertes pendientes con presencia de hielo o por cercanía a sitios extremadamente sensibles, como es el caso de los anidamientos de aves como skúas, petreles y pingüinos o el descanso de lobos marinos o focas, solo por mencionar algunos.

3.2.1.1 MATERIAL DE CAMPO

Los materiales necesarios para la colecta de ejemplares liquénicos no son complejos, como se observa en la figura 56, son más bien accesibles. Se requiere de materiales como espátulas o cuchillas para desprender el espécimen del sustrato. En ciertos casos como en líquenes costrosos son de gran ayuda el cincel y el martillo para extraer la muestra de las rocas o en su defecto el martillo geológico, de gran utilidad para rocas muy duras. Para guardar los ejemplares se usan bolsas de papel, previamente rotuladas como número de colección, sitio, permitiendo un mejor manejo del espécimen.



Figura 56. Materiales para campo

El uso de lupas permite observar en campo diversas estructuras o características que pueden perder su coloración y su forma al ser trasladadas al laboratorio. Si además de la colecta se va a realizar el cálculo de índice o determinar la cobertura, se usan las rejillas, como se observa en la Figura 57, que fue la utilizada en los trabajos de campo en Isla Greenwich. En el caso de la Antártida al no tener vegetación arbustiva o arbórea, las rejillas son usadas sobre el sustrato suelo o las paredes rocosas.



Figura 57. Rejilla utilizada en el muestreo en Isla Greenwich, uso de GPS para la toma de coordenadas

3.2.1.2 TRABAJO DE COLECTA EN ISLAS ANTÁRTICAS

Durante el trabajo de campo se deben tomar en cuenta ciertas acciones que permitan ser eficientes en el muestreo, y respetar el ambiente. A continuación, se mencionan algunas:

- Evitar depredar la zona. Recolectar solo el material necesario para la identificación en el laboratorio.
- Apreciar que el tamaño del ejemplar sea el adecuado para su estudio, teniendo en cuenta la cantidad de material líquénico que será aprovechado para la identificación taxonómica. Remover con cuidado, al usar la espátula.
- No coleccionar material que esté deteriorado, sea por quemaduras, sequía, necrosado o con desprendimientos de las estructuras. Es necesario tomarse el tiempo y observar elementos como su aspecto, coloración y estructuras reproductivas, que indicarán que el ejemplar está en buenas condiciones. Es importante el uso de lupas para la observación, como en la posterior identificación taxonómica.
- En caso de encontrar un ejemplar valioso desecado y por lo tanto frágil, se recomienda humedecerlo para evitar su daño durante el proceso de remoción (Lot y Chiang-Cabrera, 1986).

Los especímenes se recolectan de una amplia variedad de sustratos observados en Isla Greenwich: rocas, musgo, suelo, incluso se han observado líquenes creciendo sobre huesos de ballenas, de aves y conchas de moluscos como lo muestra la Figura 58. El uso de las espátulas permite retirar el material, en el caso de estructuras como huesos o conchas de moluscos se coleccionó con todo el sustrato para evitar daños, de igual manera para recolectar los que viven sobre rocas se necesita de un martillo geológico o en su defecto un martillo común y un cincel.



Figura 58. Nacellas con líquenes, se coleccionó el espécimen con el caparazón del molusco

Con el cuaderno de campo se realiza el registro del espécimen:

- Datos de Localidad: En este caso la información por ejemplo Isla Greenwich, Estación Pedro Vicente Maldonado- Ecuador.
- Coordenadas geográficas:
- Altitud: Sobre el nivel del mar
- Hábitat: Descripción breve de área en la que se encuentra el espécimen, por ejemplo, si está en un sendero, sobre rocas, cerca de nidos de aves, presencia de nieve.
- Tipo de Sustrato: si el espécimen se encuentra sobre suelo desnudo, rocas, otros materiales: crustáceos, huesos de animales, materiales de construcción de la estación
- Fecha: Cuando se realizó la colección; especificar día, mes y año.
- Recolector y número de colección: Nombre y apellido del recolector o recolectores, y el número de colección.
- En relación con la iluminación se debe tomar en cuenta que en el verano antártico “los días en la Antártida tienen luz casi las 24 h del día, a la media noche el Sol baja hasta la línea del horizonte para luego volver a subir (Lovecraft, 2007)”. Por lo que la mayoría de los líquenes están expuestos todo el tiempo a la iluminación, y se le asigna el valor de 5 según el índice de categorías (Hidalgo et al., 2009).

Las muestras recolectadas se almacenan en bolsas de papel, para evitar el uso de bolsas plásticas que generan humedad y pueden deteriorar la muestra. En el trabajo de campo realizado en Isla Greenwich, en muchos casos el uso de bolsas de papel fue complicado ya que, por el viento, la llovizna o la nieve se deterioran, impidiendo guardar el material colectado. Como opción, lo mejor fue colocar el material colectado en cajas plásticas que a la vez permitían transportar el material a la base, para una vez allí realizar el registro y preservación correspondientes.



Figura 59. Preservación y movilización de especímenes antárticos. a) Secado de muestras al aire libre en el laboratorio de la base Maldonado b) Empacado de muestras para transporte en buque

Por último, es importante realizar un registro fotográfico del espécimen en campo que permita evidenciar las características, así como el entorno en el que se le observó. Los especímenes recolectados se deben secar al aire libre o con un deshidratador de alimentos a temperaturas no mayores de 40 grados centígrados. En el trabajo de Isla Greenwich se dejaron las muestras a la temperatura ambiente del laboratorio, que era de 18-20 grados. Posteriormente se empacan los líquenes para el transporte al continente

y poder continuar con su identificación y análisis como lo muestra la Figura 59. Una vez en el laboratorio, en Ecuador los especímenes se revisan para constatar si están bien deshidratados y si no tienen ningún nivel de contaminación.

3.2.1.3 IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA

La identificación de los especímenes se realiza con el uso del estereoscopio, como el que se indica en la Figura 60, que permite la observación de las estructuras macroscópicas como: presencia o ausencia de soredios e isidios, color de la superficie inferior y superior, presencia o ausencia de cilios, rizinas, cifelas, seudocifelas, máculas, color del talo etc. y del uso de claves taxonómicas (<https://es.scribd.com/doc/312196869/Protocolo-Manejo-de-Recoleccion-de-Hongos>). Para observar estructuras internas del líquen como ascas, esporas, algas, hifas se utiliza el microscopio, mediante cortes tanto transversales como horizontales del talo y las estructuras reproductivas (Hidalgo et al., 2009; Huereca Delgado, et al., 2018).

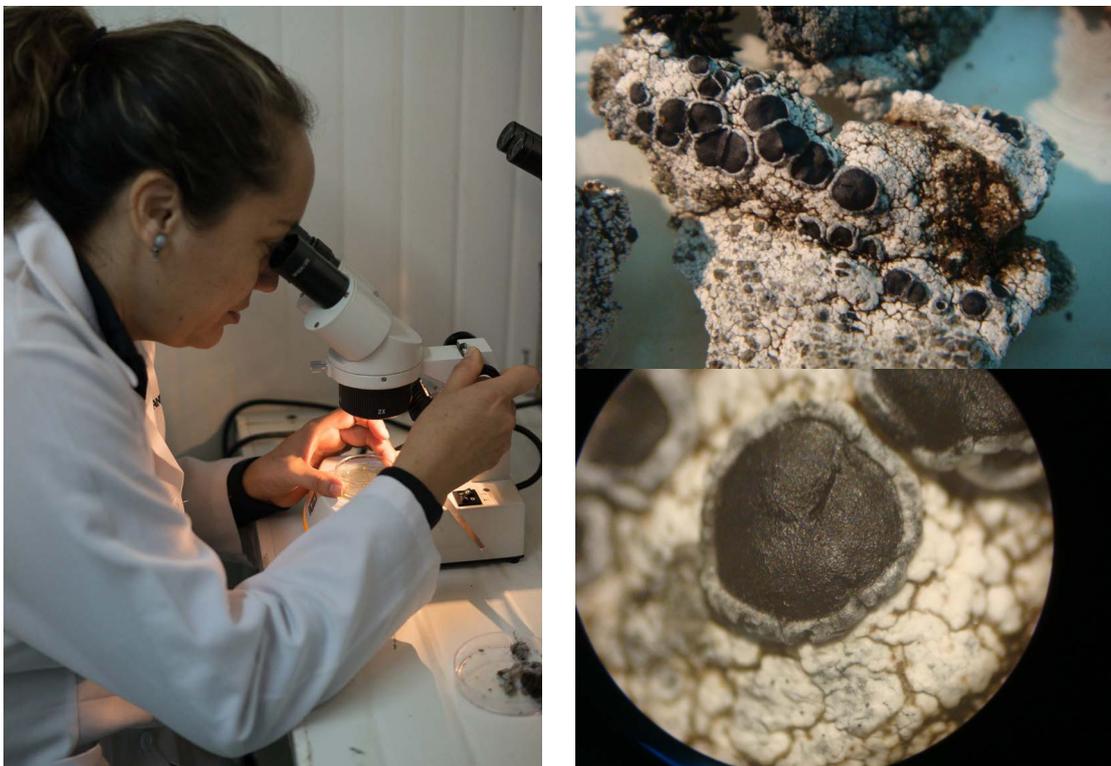


Figura. 60. Observación de especímenes en el laboratorio de la Estación Maldonado- Isla Greenwich

3.2.1.4 IDENTIFICACIÓN QUÍMICA

Cada líquen presenta compuestos químicos metabolitos secundarios y mediante ellos se pueden identificar líquenes más acertadamente revisando su composición química, por ejemplo, el ácido úsnico metabolito secundario extraído de especies del género *Usnea*. Existen algunas especies que son idénticas en apariencia, poseen composición química diferente -especies químicas, que pueden ser identificadas con una prueba o test químico o test de coloración mediante el cual se determinan los principales grupos de compuestos químicos debido a las coloraciones presentes en ellos (Lot y Chiang-Cabrera, 1986).

Test de coloración: orientados exclusivamente a detectar macroscópicamente la presencia de grupos de compuestos químicos, evidenciando cambios de color en el talo, corteza y médula. Estos cambios se consideran positivos si están presentes y negativos si no hay cambio de color. Para esto se colocan soluciones acuosas sobre el liquen y se observa (<https://britishlichensociety.org.uk/learning/chemical-tests>).

- Test C: se emplea como reactivo una solución acuosa saturada de hipoclorito de calcio. Como sustituto se usa un blanqueador líquido comercial con cloro activo. Da coloraciones rosas, rojas, naranjas o verdes.
- Test K: se usa como reactivo una solución acuosa de hidróxido de potasio. Esta solución se prepara al 10-25% y es más estable que la prueba C. Suele producir reacciones desde el amarillo hasta el rojo o pardo.
- Test KC: es una mezcla de hipoclorito de calcio con hidróxido de potasio. Primero se aplica K e inmediatamente C. Es útil por ejemplo para ácido alectórico o ácido fisódico.
- Test PD cristales de parafenilendiamina disueltos en alcohol: Proporciona coloraciones desde el amarillo hasta el rojo ferruginoso.
- Test I: usa solución iodada, 1,5% de I en 10% de IK = Lugol, o bien más ligera sólo 0,5-1% de I, da coloraciones azuladas, verdosas o rojizas.
- Test N: solución acuosa al 50% de ácido nítrico. Da un color rojo púrpura con ciertos pigmentos de los apotecios o de los talos.

Por último, existen métodos más fiables para la identificación de las sustancias líquénicas como la cromatografía en capa fina, TLC, la más popular y usada, la cromatografía líquida de alta resolución y HPLC, la más segura pero costosa (Barreno y Pérez-Ortega, 2003).

3.2.1.5 MANTENIMIENTO DE LA COLECCIÓN

Las muestras colectas y debidamente preservados, deben ingresar a la colección siguiendo los protocolos: montados en los sobres de papel bond y con una identificación, al menos provisional. Se guardan en anaqueles protegidos de la humedad y se colocan en orden alfabético. A la par se elabora la base de datos con la información de cada espécimen.

3.2.1.6 IDENTIFICACIÓN A TRAVÉS DE ADN

Una herramienta para determinar con mayor exactitud la especie es el estudio de ADN, para esto las muestras colectadas se congelarán a una temperatura de -80°C , debidamente rotulado con el código de colecta asignado. Posteriormente se utiliza para la extracción de ADN y PCR y para el envío a secuenciación molecular.

3.2.1.7 GENERACIÓN DE BASES DE DATOS

Las descripciones morfológicas de los especímenes realizadas en el campo son ingresadas inicialmente a una base de datos Excel como lo muestra la figura 61, y luego a la -base de datos- institucional, que brinda información sobre las identificaciones y los datos de sitios. Esta información, así como las fechas de recolecta, es ingresada a la base de datos institucional, por el técnico. Se generan etiquetas, que luego son colocadas sobre las cajas de cartón que contienen los especímenes. Las imágenes tomadas en el campo ó en el laboratorio, son seleccionadas según enfoque, nitidez y representatividad, para ingresarlas a la base de datos de imágenes

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
	LIQUENES ANTÁRTICOS	Filo:	Clase:	Orden:	Familia:	Género:	Especie:	UICN ESTADO DE	METABOLITOS	
1	<i>Amaodinea lichenigera</i> (Darb.) Sacc.	Ascomycota	Lecanoromycetes	Caliciales	Caliciaceae	Amaodinea	<i>Amaodinea lichenigera</i> (Darb.) Sacc. y Brückel, 2004	NO EVALUADO NE		
2	<i>Calophaea regalis</i> (Vain.) Zahlbr. (1931)	Ascomycota	Lecanoromycetes	Teloschistales	Teloschistaceae	Calophaea	<i>Calophaea regalis</i> (Vain.) Zahlbr. (1931)	NO EVALUADO NE	Ácido norstictico.	
3	<i>Candelaria murrayi</i> Poelt	Ascomycota	Lecanoromycetes	Candelariales	Candelariaceae	Candelaria	<i>Candelaria murrayi</i> Poelt, 1974	NO EVALUADO NE	no determinado	
4	<i>Cladonia borealis</i> S. Stearros	Ascomycota	Ascomycetes	Lecanorales	Cladoniaceae	Cladonia	<i>Cladonia borealis</i> S. Stearros, Ann. Bot. Fenn. 26: 160, 1969	NO EVALUADO NE	Ácidos fénico, barbárico y 4-O-desmetilbarbárico.	
5	<i>Hematomma erythromma</i> (Nyl.) Zahlbr.	Ascomycota	Ascomycetes	Lecanorales	Hematommataceae	Hematomma	<i>Hematomma erythromma</i> (Nyl.) Zahlbr., 1917	NO EVALUADO NE	Ácido phycodil, ácido pseudophycodil, artoletina, atranorina, clatratanorina, lichenanato, 6-metilartotelina, 2-clorlichexanona, 2,4-dicloronorlichexanona, 4,5-dicloronorlichexanona	
6	<i>Himaeromys legebrii</i> (Hue) IM. Lamb. (1964)	Ascomycota	Ascomycetes	Lecanorales	Ramalinaceae	Ramalina	<i>Himaeromys legebrii</i> (Hue) IM. Lamb. (1964)	NO EVALUADO NE	Ácidos barbárico y slectorfénico	
7	<i>Lecanora brachymeni</i> (Vain.) Zahlbr., 1907	Ascomycota	Lecanoromycetes	Lecanorales	Ramalinaceae	Lecanora	<i>Lecanora brachymeni</i> (Vain.) Zahlbr., 1907	NO EVALUADO NE	No identificado	
8	<i>Lecanora epibryon</i> (Ach.) Ach. (1810)	Ascomycota	Lecanoromycetes	Lecanorales	Lecanoraceae	Lecanora	<i>Lecanora epibryon</i> (Ach.) Ach. (1810)	Preocupación Mayor (LC)	Atranorina, a zeorina, y otros terpenos	
9	<i>Leptogium puberulum</i> Hue (1915)	Ascomycota	Lecanoromycetes	Peltigerales	Collimataceae	Leptogium	<i>Leptogium puberulum</i> Hue (1915)	NO EVALUADO NE	no determinado	
10	<i>Ochrolechia frigida</i> (Sw.) Lynge	Ascomycota	Lecanoromycetes	Peltizariales	Ochrolechiaceae	Ochrolechia	<i>Ochrolechia frigida</i> (Sw.) Lynge	NO EVALUADO NE	Ácidos girefénico y lecanorico	
11	<i>Ochrolechia parvella</i> (L.) A. Massal. (1852)	Ascomycota	Lecanoromycetes	Peltizariales	Ochrolechiaceae	Ochrolechia	<i>Ochrolechia parvella</i> (L.) A. Massal. (1852)	NO EVALUADO NE	Ácidos girefénico, variolénico, y slectorfénico.	
12	<i>Parmelia saxatilis</i> (L.) Ach. (1805)	Ascomycota	Lecanoromycetes	Lecanorales	Parmeliaceae	Parmelia	<i>Parmelia saxatilis</i> (L.) Ach. (1805)	Preocupación Mayor (LC)	Atranorina y ácido subfénico	
13	<i>Physcia caesia</i> (Hoffm.) Furz. (1839)	Ascomycota	Lecanoromycetes	Teloschistales	Physciaceae	Physcia	<i>Physcia caesia</i> (Hoffm.) Hampe ex Furtw. (1839)	Preocupación Mayor (LC)	atranorina y zeorina.	
14	<i>Placopsis antarctica</i> D.J.Galloway, R.L.L. Sm. & Quilley	Ascomycota	Lecanoromycetes	Agryariales	Agryriaceae	Placopsis	<i>Placopsis antarctica</i> D.J.Galloway, R.L.L. Sm. & Quilley	NO EVALUADO NE	Alfa tocopherol	
15	<i>Placopsis contortuplicata</i> I.M. Cordaro (1947)	Ascomycota	Lecanoromycetes	Agryariales	Trisplachaceae	Placopsis	<i>Placopsis contortuplicata</i> I.M. Cordaro (1947)	NO EVALUADO NE	Ácido girefénico.	
16	<i>Psoroma cinchonum</i> Malm. 1925	Ascomycota	Ascomycotina	Lecidiales	Pannariaceae	Psoroma	<i>Psoroma cinchonum</i> Malm., 1925	NO EVALUADO NE	no determinado	
17	<i>Ramalina terabrata</i> Hook.f. & Taylor, 1844	Ascomycota	Ascomycetes	Lecanorales	Ramalinaceae	Ramalina	<i>Ramalina terabrata</i> Hook.f. & Taylor	NO EVALUADO NE	ácido fénico.	
18	<i>Rhizocarpon geographicum</i> (L.) DC.	Ascomycota	Ascomycetes	Lecanorales	Rhizocarpaceae	Rhizocarpon	<i>Rhizocarpon geographicum</i> (L.) DC.	NO EVALUADO NE	ácido rhizocarónico, ácido psorolénico y, generalmente, ácido girefénico	
19	<i>Rhizoplaea aspidophora</i>	Ascomycota	Ascomycetes	Lecanorales	Lecanoraceae	Rhizoplaea	<i>Rhizoplaea aspidophora</i>	NO EVALUADO NE	ácido fénico, zeorina, y rangiformico.	
	<i>Rhizoplaea melanophthalma</i> (DC.) Leuckert	Ascomycota	Ascomycetes	Lecanorales	Lecanoraceae	Rhizoplaea	<i>Rhizoplaea melanophthalma</i> (DC.) Leuckert & Poelt Synonym	Preocupación Mayor (LC)	ácido fénico, zeorina, y rangiformico, norrangiformico y 1/2 no identificados ácidos grasos.	
20	<i>Sphaerophorus globosus</i> (Huds.) Vain. (1903)	Ascomycota	Ascomycetes	Lecanorales	Sphaerophoraceae	Sphaerophorus	<i>Sphaerophorus globosus</i> (Huds.) Vain	NO EVALUADO NE	ácido escamfénico, cetrarolénico, ácido escamoso, ácidos trimolénico, cetrarofénico	
	<i>Stereocaulon alpinum</i> Lwerc ex Fusch, 1927	Ascomycota	Ascomycetes	Lecanorales	Stereocaulaceae	Stereocaulon	<i>Stereocaulon alpinum</i> Lwerc ex Fusch, 1927	NO EVALUADO NE	atranorina y ácido lobfénico.	
21	<i>Stereocaulon caespitosum</i> Redinger (1936)	Ascomycota	Lecanoromycetes	Lecanorales	Stereocaulaceae	Stereocaulon	<i>Stereocaulon caespitosum</i> Redinger (1936)	NO EVALUADO NE	Atranorina, ácidos fumarprotocetrárico y protocetrárico.	

Figura 61. Base de datos de los líquenes de isla Greenwich

3.3 FOTOGRAFIAR LÍQUENES ANTÁRTICOS



Figura 62. Liqen *Himmantormia lugrubis* (Hue) I.M.Lamb, en la isla Greenwich

A pesar de ser organismos que se encuentran en todos los ambientes, siempre han pasado desapercibidos para la mayoría de las personas. Los que han tenido la suerte de detenerse a contemplarlos se han encontrado con un mundo llenos de colores y formas únicas como lo muestra la Figura 62. La mejor manera de capturar su belleza y llevarlas a los ojos del mundo es a través de las fotografías y sobre todo si de líquenes de la Antártida se trata, ya que son pocas las personas que han tenido el privilegio de verlos en su hábitat.

3.3.1 EN CAMPO:

Tomar fotografías en campo en la Antártida, como se ha mencionado con anterioridad es un poco más complicado, entre otros factores por las bajas temperaturas, que impiden el manejo adecuado de los equipos, ante la inmovilización de las manos por el frío. Además, la baja temperatura afecta a los equipos que pierden energía rápidamente, requiriendo que se deba llevar al campo, baterías de reposición. Sin embargo, esto no ha impedido realizar el trabajo ni tomar fotografías de calidad que permitan evidenciar la belleza de estos organismos en su entorno natural.

El uso de cámaras profesionales garantiza la calidad de las imágenes, aunque en la actualidad los teléfonos celulares poseen cámara de gran resolución y algunos la opción de macro que es de gran ayuda para observar estructuras de menor tamaño.

Tomando en cuenta que el trabajo de campo de la Antártida requiere de ciertas normas de seguridad, se debe salir preparado con todos los materiales, equipos y vestimenta adecuada. De igual manera, se deben llevar las cámaras con los cuidados de protección para viento y agua, e incluir las baterías extras.

Una vez determinado el sitio de muestreo, es importante iniciar las fotografías con el paisaje circundante, como se observa en la Figura 63, para tener una idea del área en la que se desarrolla la comunidad liquénica. Luego se deben determinar los líquenes que se van a fotografiar, los cuales deben ser los de mejor presencia, es decir los que estén sanos y no dañados, necrosados o rotos por el efecto del viento. También es importante fotografiar el sustrato del liquen, como son rocas, suelo sobre musgos u otros.



Figura 63. Zona cubierta de líquenes y musgos, parte posterior de la Estación Pedro Vicente Maldonado

Posteriormente se realizan las fotografías individuales de la muestra liquénica, es recomendable determinar el tamaño colocando junto al espécimen una referencia conocida, por ejemplo, una moneda de 1 centavo de dólar, una regleta o flexómetro como muestra la figura 64 una fotografía realizada en la Base Maldonado de un liquen junto al flexómetro.

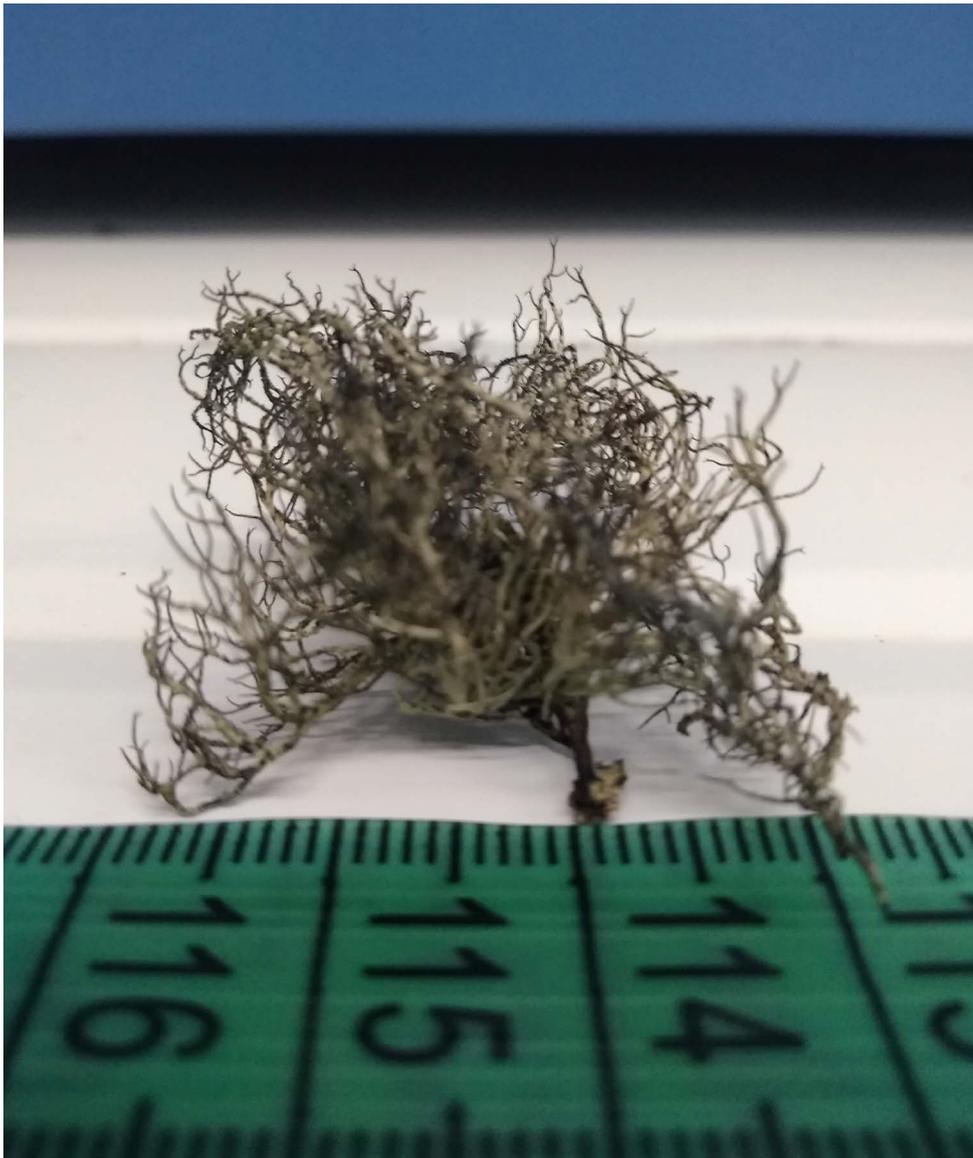


Figura 64. Liquen junto a regleta para dimensionar su tamaño

Se pueden realizar imágenes a más detalle con el uso del lente macro, si los líquenes son muy pequeños, o para estructuras diminutas que sean importantes para la identificación taxonómica.

3.3.2 EN LABORATORIO

Si se desea fotografiar una muestra de liquen ya guardada, y obtener una mejor imagen, se debe hidratar con un pulverizador, para que en poco tiempo recupere su tamaño original y se observen nuevamente sus colores, especialmente los de las estructuras reproductivas. Posteriormente se deshidrata para volver a guardarle.

La identificación taxonómica se realiza con el uso de estereomicroscopios tal como se observa en la figura 65. Se reconocen como mejores, los que poseen una cámara incluida o los de tipo trinoculares, que permiten la adaptación de una cámara digital fotográfica que actúa a partir de la proyección de imágenes por el tercer ocular.



Figura 65. Estereomicroscopio con cámara incluida que permite a través del software visualizar en la pantalla del ordenador

En la actualidad, los equipos para microscopía vienen incorporados con cámara y con el software correspondiente como se observa en a figura 66a, que permiten obtener fotografías y visualizar la imagen a través de la pantalla de un ordenador, facilitando la observación continuada e incluso el dibujo de las imágenes. Además, el software permite realizar mediciones de las diferentes estructuras líquénicas y guardar las imágenes con las mediciones realizadas.

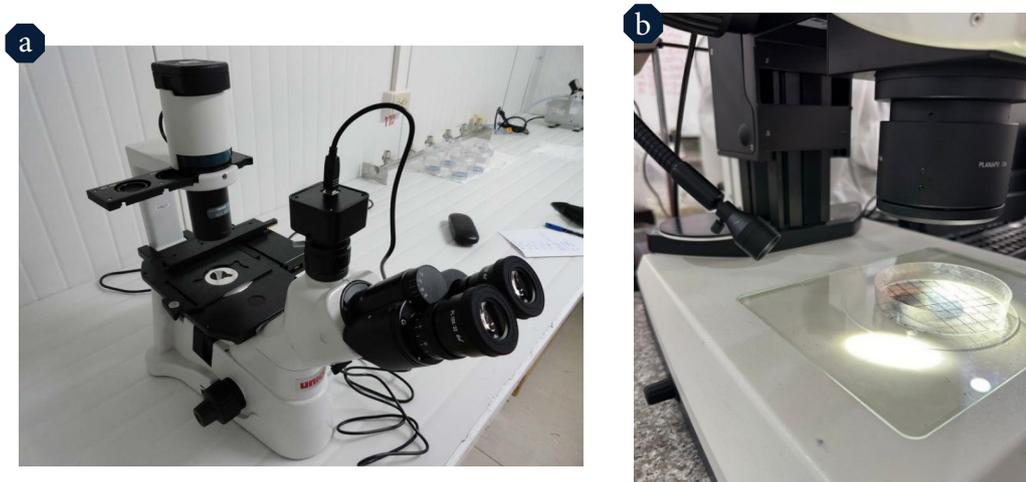


Figura 66. Equipos de laboratorio para fotografiar líquenes a) estereomicroscopio trinocular base Maldonado (Antártica) b) lámparas de luz led para mejorar iluminación.

Otro elemento para tener en cuenta en la toma de fotografías es la iluminación, siendo muchas veces insuficiente la luz de la lámpara del estereoscopio. En estos casos, se acude al uso de iluminadores por fibra óptica de luz fría que dan una luz suficientemente intensa y uniforme. Dichos iluminadores están provistos de dos brazos flexibles que facilitan la iluminación adecuada del líquen a fotografiar como se observa la lámpara en la Figura 66 b.

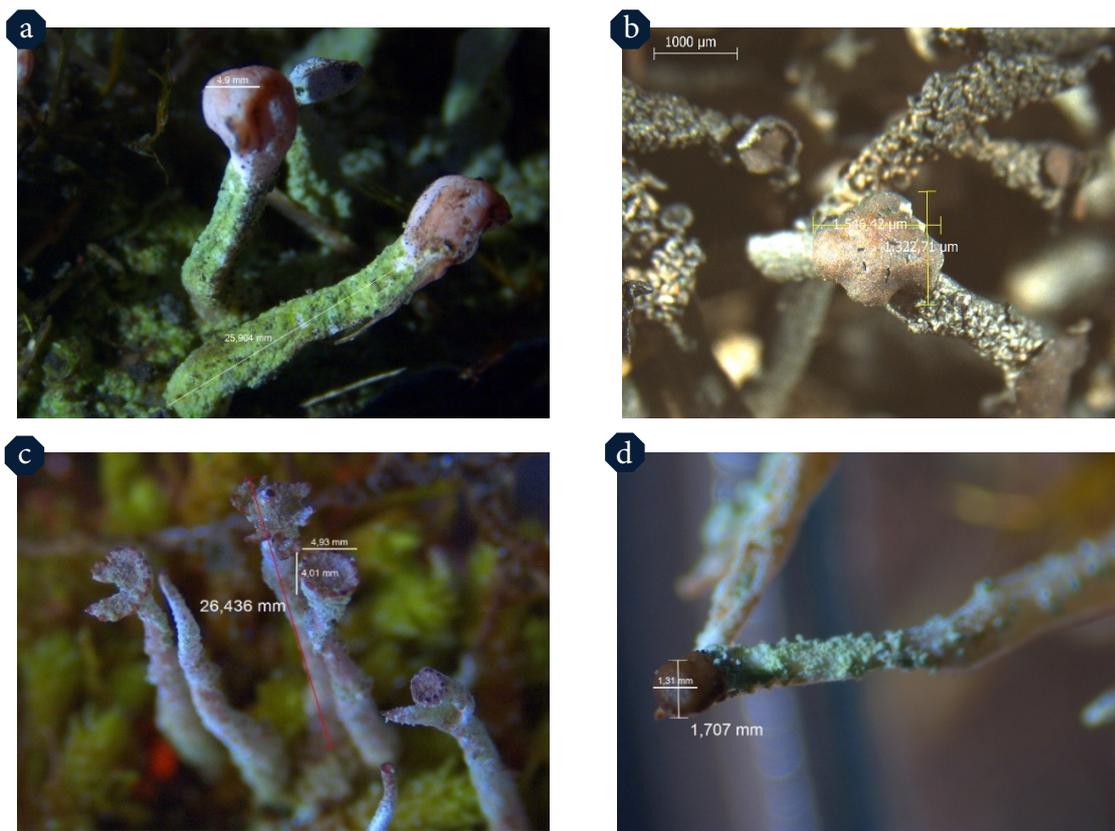


Figura 67. Uso de estereoscopio que contiene cámara y software incluido que permite colocar medidas a las estructuras liquénicas a) *Dibaëis baeomyces* (L. f.) Rambold & Hertel b) especie antártica *Himantormia lugubris* (Hue) I.M.Lamb c) *Cladonia* sp. en zona andina d) *Stereocaulon alpinum* Laurer

También es importante el uso de los microscopios para observar y fotografiar estructuras internas del líquen, por ejemplo, observar el tipo de algas, los pseudotejidos, esporas, etcétera. Es recomendable además manejar adecuadamente los aumentos de los lentes oculares, y que las muestras sean lo más finas posibles para que las imágenes sean claras. En este sentido, la Figura 67 muestra fotografías de los individuos y la Figura 68, imágenes internas del líquen.

También existen microscopios trinoculares que permiten anexar una cámara o microscopio que ya integra una cámara y un software.

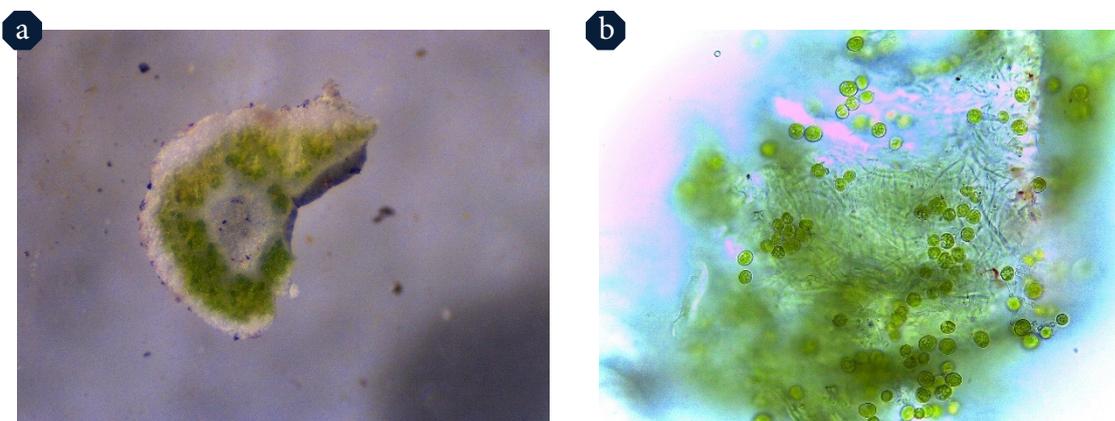


Figura 68. Observación a microscopio a) distribución de algas en el talo liquénico b) algas sobresalen del micelio.





SUELOS

CAPÍTULO 4

4.1 MUESTREO DE SUELOS EN CONDICIONES POLARES

4.1.1 METODOLOGÍAS GENERALES

Las propiedades y la composición de los suelos varían tanto horizontal como verticalmente, lo que requiere de la selección de una buena técnica de muestreo. Entre los factores que inciden en la calidad del análisis están la topografía y el tipo de suelo.

4.1.1.1 Muestreo de campo

Existen tres estrategias de muestreo (Jones, 2018):

- Muestreo aleatorio simple
- Muestreo aleatorio estratificado: selección de núcleos de suelo individuales de forma aleatoria, patrón dentro de un área designada
- Muestreo sistemático o en cuadrícula.

Por tratarse de la Antártida todas estas metodologías requieren un replanteamiento y adaptación a las necesidades del muestreo y a las condiciones del sitio de muestreo como en la figura 69 una zona de pendiente leve pero de gran presencia de rocas. En la década de los años ochenta y noventa se desarrollaron varios conceptos estadísticos para el muestreo de suelos para definir el mejor método de muestreo, adecuado a un área de estudio específica (Sabbe y Marx, 1987; James y Wells, 1990; Crepin y Johnson, 1993; Petersen y Calvin, 1996).



Figura 69. Muestreo de suelos en Isla Barrientos

La profundidad del muestreo está determinada por uno de varios factores (Brown, 1999), características horizontales, estructura del suelo, presencia de raíces. El número de núcleos necesarios para obtener una muestra compuesta representativa oscila entre 10 y 20 núcleos.

En la toma de muestras es fundamental considerar la elección de las herramientas de muestreo y los materiales de los recipientes en los que se transportan las muestras. Según James y Wells (1990), los dispositivos de muestreo y/o recipientes de mezcla hechos de latón agregarán cobre (Cu) y zinc (Zn), de igual forma el metal galvanizado y el caucho. El contacto del suelo húmedo con los implementos de hierro agregará hierro (Fe). El pegamento en algunos tipos de bolsas de papel, si se humedece por el suelo mojado, puede agregar boro (B) a la muestra.

4.1.1.2 Precauciones en el transporte de muestras

Si el período de tiempo entre la toma de la muestra de campo y la llegada al laboratorio es de varios días, como es el caso de los suelos tomados en la Antártida, se deben tomar medidas para conservar su integridad. El suelo almacenado y transportado en recipientes herméticos está húmedo, puede sufrir cambios biológicos significativos a temperatura ambiente y/o elevada (Petersen y Calvin, 1996).

Entre los procesos de transformación bajo condiciones aeróbicas que pueden ocurrir, está la descomposición de la materia orgánica y la liberación de iones como fósforo (P), sulfato (SO_4^{2-}), boro (B) y nitrato (NO_3^-) en la solución del suelo, mientras que, bajo condiciones anaeróbicas, pueden resultar en descomposición de la materia orgánica y pérdida de nitrógeno (N) en el suelo. Para la conservación de las muestras de suelos antárticos la mejor estrategia de transportación es el congelamiento, que mantendrá la integridad biológica.

4.1.1.3 Procedimientos de muestreo

Normalmente se recomienda un muestreo preliminar exploratorio con sondas manuales o barrenas, o mediante la exposición de la parte superior del suelo con una pala. Las calicatas, proporcionan la mayoría de la información sobre los procesos pedogenéticos en un sitio y sus propiedades pueden revelar la evidencia de la deposición, la erosión, y el uso anterior de la tierra, a veces puede servir como un indicador aproximado del tiempo transcurrido desde la alteración del suelo (Robertson, 1999).

4.1.1.4 Determinación del número de muestras

El número de muestras se determina por la profundidad alcanzada por los contaminantes y el tiempo transcurrido desde que se produjo la contaminación. Se deberá tomar como mínimo cinco y máximo 20 muestras, cuando el contaminante no ha alcanzado una profundidad mayor a 80 centímetros. Cuando la profundidad de afectación alcance niveles superiores, el número de muestras a coleccionar dependerá del criterio de la entidad ambiental de control y del técnico encargado de la toma de muestras (Buduba, 2004).

Una alternativa técnica de definición es la sugerida por Robertson (1999) y Buduba (2004) que proponen la siguiente fórmula:

$$n = \left(\frac{t \times s}{D} \right)^2$$

Dónde:

t = probabilidad estadística con n-1 grados de libertad

n = es el número de muestras requeridas para la muestra compuesta, que permite obtener la probabilidad de caer, dentro de la gama +/- D alrededor de la media real.

s = es la derivación estándar del resultado.

El número de muestras requeridas, por lo tanto, depende de la rigurosidad de la prueba. Como un criterio de muestreo se recomienda tomar de 8 a 10 muestras para la caracterización del área mediante muestras compuestas con un porcentaje de variación no mayor al 10% alrededor de la media (DeVivo, Belkin y Lima, 2017).

El porcentaje de coeficiente de variación (%VC) es definido por:

%CV = 100 x s/media, con un nivel de probabilidad del 80%, t se encuentra entre 1,3 y 1,5 para n > 5 de este modo.

$$n \sim 0.02 \times (\%CV)^2$$

Si el CV% es alto, se necesita un número grande n de la muestra.

El número de las tomas define la representatividad de una muestra. La incertidumbre asociada con la representatividad de muestras heterogéneas excede con creces los inherentes a la recolección y análisis de muestras (Keith, 1988), realizar el proceso de preparación de muestras, como submuestreo, mezcla, conexión a tierra y tamizado, particularmente importante para obtener muestras representativas.

Los contaminantes acumulados en los suelos a poca profundidad no varían mucho temporalmente en un corto plazo. Sin embargo, pueden ocurrir variaciones verticales significativas en diferentes profundidades del suelo, donde se presentan distintas zonas con distintas propiedades físicas y químicas que influyen en la distribución de los contaminantes (Keith, 1988).

El muestreo aleatorio simple, también conocido como muestreo aleatorio, es el muestreo arbitrario de recolección de muestras mediante un proceso que proporciona a cada unidad de muestra de la población una representatividad adecuada. El muestreo aleatorio es el muestreo basado en probabilidad más simple y fundamental, diseñado para caracterizar en forma más precisa un medio de estudio. También es el punto de referencia con el que se comparan la eficiencia y el coste de otros (Zhang, 2007). El muestreo aleatorio simple supone que la variabilidad de un medio muestreado es insignificante. Una ventaja de usarlo es que el análisis estadístico de los datos es simple y directo.

a) Tipos de Muestreo

Aunque existen muchos tipos de diseños de muestreo, sólo dos son comúnmente utilizado en las ciencias del suelo y de la tierra, el aleatorio y el sistemático. Por lo general, se utilizan diseños de transectos o de cuadrícula, como se analizará con detalle más adelante.

I. Muestreo al azar:

Consiste en recorrer un lote al azar (figura 70), recolectando submuestras que luego son mezcladas para formar una muestra compuesta que es enviada al laboratorio. Para el caso de Ecuador, el lote es una Ha, para la cual se recomienda tomar un número mínimo de 10 muestras /Ha.

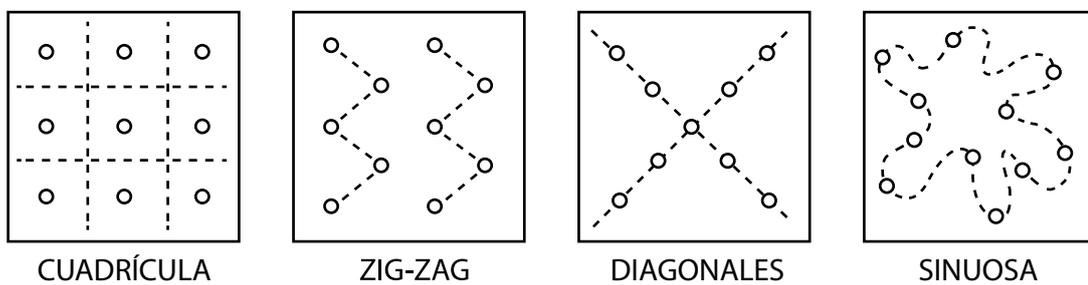


Figura 70. Diferentes patrones de recorrido para extraer submuestras en áreas (Buduba, 2004).

El inconveniente de este tipo de muestreo es que frecuentemente no se tiene en cuenta la variabilidad existente en cabeceras y sectores no homogéneos del lote. De todos los métodos en uso, tal vez el muestreo aleatorio sea el más adecuado. La selección de muestras se deja completamente a la suerte del sorteo sin tener en cuenta la variación en un suelo o población. Este es un método mediante el cual cada unidad de muestreo tiene una probabilidad igual e independiente de ser sorteado. En un campo homogéneo, suele ser un método satisfactorio. En el muestreo aleatorio simple, todas las muestras del tamaño especificado tienen la misma probabilidad de ser elegida (Zhang, 2007).

II. Muestreo al azar estratificado:

Consiste en dividir el campo en subunidades homogéneas, por ejemplo, loma y bajo, dentro de las cuales se toman muestras compuestas al azar, evitando cabeceras y cualquier desuniformidad que pueda aparecer en el lote.

Este tipo de muestreo se emplea en un campo heterogéneo. Es necesario para el efecto organizar subpoblaciones de modo que una población heterogénea se divide en partes, que corresponden a estratos, de carácter homogéneo, del cual se extrae una muestra o muestras de forma independiente en cada estrato. A manera de ejemplo, se propone el siguiente caso:

Un campo heterogéneo puede ser dividido en cuatro partes bastante homogéneas, designadas como estratos # 1, 2, 3 y 4 con la siguiente distribución:

- Estrato #1 = 118 del campo
- Estrato #2 = 114 del campo
- Estrato #3 = 118 del campo
- Estrato #4 = 112 del campo

Si se van a tomar 24 muestras del campo, entonces de acuerdo con la regla de proporcionalidad se deben tomar 3, 6, 3 y 12 muestras del estrato #1, 2, 3 y 4, respectivamente. El muestreo en sí en cada estrato se puede realizar de forma aleatoria o sistemática (Tan, 2005).

b) Criterios de toma de Muestras

I. Muestra compuesta

Una muestra compuesta es la mezcla de unidades de muestreo para formar una muestra única que se utiliza para el análisis químico, Este tipo de muestras ofrecen la ventaja de una mayor precisión mediante el uso de un gran número de unidades de muestreo por muestra, que se supone dan precisión al análisis (Cline, 1944) indica que esta suposición es válida sólo si:

1. El volumen de muestreo representa una población homogénea,
2. Cantidades iguales de cada unidad de muestreo contribuyen a la submuestra analizada,
3. No se han producido cambios en las muestras compuestas y submuestras antes del análisis que afectaría los resultados analíticos, y
4. El único objetivo es una estimación no sesgada de la media.

Para las muestras de suelo lo más recomendable es realizar muestras compuestas. Dentro de cada unidad de muestreo se toma una muestra de suelo que es en realidad una “muestra compuesta”. Es decir, una muestra de suelo se compone de varias submuestras tomadas aleatoriamente en el campo. Cada muestra compuesta está constituida por un número de submuestras se recomienda entre 10 – 20 submuestras. Como orientación hay que considerar que los suelos contaminados son heterogéneos (Buduba, 2004).

Una vez obtenida la última submuestra como indica la figura 71 y habiendo revisado la equivalencia volumétrica de todas las muestras, se colocan sobre una lona o material plástico limpio, no plástico para hidrocarburos, se mezclan y se divide en cuatro partes iguales, de las cuales se guarda una para repetir el cuarteo, hasta llegar a un peso final aproximado de 0.5 – 1 Kg (Buduba, 2004).

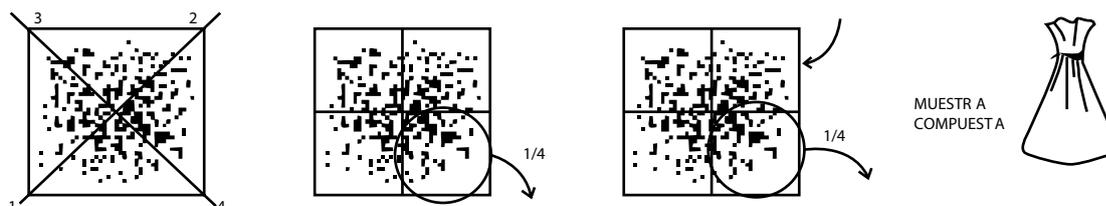


Figura 71. Obtención de la muestra compuesta por cuarteo a partir de todas las submuestras desmenuzadas y mezcladas (Buduba, 2004).

II. Muestreo sistemático

El diseño de muestreo más comúnmente utilizado para muchos estudios de campo es el muestreo sistemático utilizado ya sea por transectos o grillas. Según este método, el punto inicial del transecto o cuadrícula y/o su orientación deben seleccionarse al azar. La principal precaución en el uso del muestreo sistemático con un espaciado constante es que los objetos a muestrear no deben estar dispuestos de manera ordenada, dado que podría corresponder al espaciamiento a lo largo del transecto o de la grilla.

La elección de un transecto o una cuadrícula depende de varios factores, entre ellos, el tipo de investigación. Con frecuencia se emplean patrones espaciales debido a la facilidad con la que se pueden crear mapas de patrones derivados de las rejillas (figura 72).

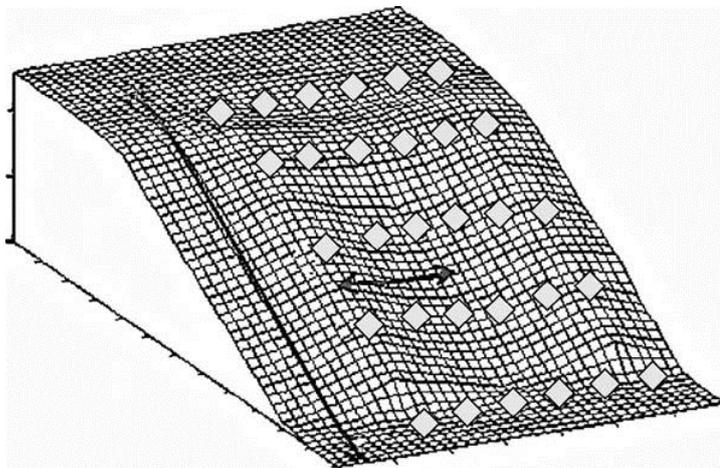


Figura 72. Ejemplo de un diseño de muestreo en cuadrícula compuesto por seis transectos paralelos en una pendiente. La flecha a través de la pendiente indica la longitud mínima del eje corto de la cuadrícula (Tan, 2005).

III. Selección del sitio y toma de muestra

Según Taylor et al, (2005), los datos de muestreo contienen cierto grado de incertidumbre. La varianza total de los datos de medición se puede expresar en términos de varianzas de muestreo debido a variaciones en la medición de la muestra y el tipo de muestreo. Ambas incertidumbres deben ser consideradas.

$$S^2_{\text{total}} = S^2_{\text{medición}} + S^2_{\text{muestra}}$$

Por lo tanto, la selección del sitio de muestreo de suelos para análisis de relevancia ambiental debe basarse en el análisis de:

- Definición de unidades estructurales representativas sobre la base del tipo de suelo a pequeña escala.
- Sobre la base de mapas a gran escala.
- Inspección visual de cartografía de alta resolución.
- Las evidencias visuales de la contaminación, levantadas en la visita exploratoria y en la información aportada por las partes litigantes.

- Información existente sobre el evento que motivó el litigio: Reportes, fotografías, testimonios de testigos propiedades específicas del suelo o fines de prueba, respectivamente.

Tomando en cuenta la importancia de los costos y la urgencia del muestreo de muchos proyectos de evaluación ambiental se recomienda un enfoque de muestreo secuencial con el fin de obtener datos válidos espacialmente. Este es el requisito previo esencial para extrapolaciones pertinentes, en particular en ecología, ecotoxicología o química ambiental ligados a una práctica pericial.

Se trazará una cuadrícula extendida sobre toda el área afectada. Las líneas distarán a 3 metros una de la otra. Cuando la extensión de la contaminación cubra grandes áreas, se escogerán las muestras más representativas de los nudos de la cuadrícula. Cuando el área contaminada sea pequeña o de forma irregular, se tomará una de las dos opciones:

- Usar una cuadrícula más pequeña y proceder a recoger las muestras,
- Colectar las muestras al azar.

Las muestras deberán ser representativas y deben cubrir toda el área contaminada. Los niveles de profundidad de recolección de las muestras dependerán del diagnóstico de contaminación efectuado en el sitio y del criterio de la entidad ambiental de control y del técnico encargado de la toma de muestras (Buduba, 2004).

En la práctica pericial ambiental se ha acordado la toma de no menos de 10 muestras por Ha afectada, pudiendo organizar dos muestras de cinco submuestras para el análisis de laboratorio.

Los parámetros químicos y biológicos para analizar deben estar relacionados con los posibles contaminantes, los mismos tendrán relación con las actividades industriales, comerciales o agrícolas que se realizan en el área de estudio. Los sedimentos de los sistemas acuáticos, tales como lagos, embalses, ríos, marismas y zonas costeras próximas pueden resultar contaminados por cualquiera de las siguientes vías: descargas líquidas directas, deposiciones húmedas o arrastre debido a suelos contaminados (Herranz y Pozo, 2022).

Los sedimentos se pueden dividir en:

- Sedimentos de fondo: son aquellos que permanecen siempre cubiertos por las aguas,
- Sedimentos de orilla: son los que han estado o pueden haber estado parte del tiempo sin cubrir por las aguas.

En ambos casos, pero sobre todo en el primero, se trata de muestras no estacionarias e inestables. Para el muestreo de sedimentos, se han establecido varias técnicas, teniendo en cuenta principalmente las características físicas del medio como son la profundidad y granulometría del fondo, posibilidad de penetración de los equipos de muestreo, presencia de vegetales, piedras grandes, etc., así como el destino de las muestras, ya sean para un análisis físico-químico, evaluación del contenido de compuestos orgánicos

o metales pesados (Herranz y Pozo, 2022).

IV. Toma de la muestra

Una vez definidas las características de las muestras a obtener y el instrumento de muestreo a utilizar, la extracción de las submuestras deberá realizarse con los siguientes criterios

- a) Los recipientes e instrumentos de muestreo para utilizar deberán estar convenientemente limpios y etiquetados, asimismo, el instrumento de muestreo también deberá limpiarse para evitar la contaminación cruzada. El recipiente donde se almacenarán los sedimentos para su remisión al laboratorio será, o bien una bolsa de plástico resistente o bien un recipiente de boca ancha; en cualquier caso, debe quedar bien cerrado y precintado, para minimizar las pérdidas de humedad y las posibles manipulaciones durante el transporte al laboratorio.
- b) Si al punto de muestreo se va a acceder vadeando, esta aproximación deberá hacerse contra corriente para evitar la perturbación de los sedimentos que se van a muestrear.
- c) El muestreador deberá manejarse siguiendo siempre las instrucciones del fabricante para su uso. Además:

- Deberá asegurarse de que se recoge la muestra de la profundidad requerida.
- Si el instrumento es de tipo “cilindro”, deberá asegurarse de que la penetración en el sedimento se realiza de forma perpendicular.
- Si el instrumento es de tipo “recogedor”, deberá asegurarse de que el contacto con el sedimento se realice suavemente para minimizar las posibles perturbaciones.
- Se repetirán la penetración y la extracción tantas veces como sea necesario hasta alcanzar la cantidad de muestra requerida y un mínimo de cuatro veces.

Para garantizar la calidad de las muestras, es importante, la selección de los materiales y equipos adecuados. A continuación, se sugiere un listado preliminar, a considerar:

- Envases para la recolección de la muestra: frascos estériles
- Hieleras de plástico o de otro material aislante con tapa (Coolers).
- Bolsas refrigerantes (“Blue Ice”) o bolsas de plástico impermeables y cerradas, con hielo.
- Solución de alcohol etílico al 70 %.
- Gasas o cotonetes de algodón, estériles.
- Muestreadores de agua.
- Mandil, cofia, mascarilla y guantes estériles desechables.
- Marcadores indelebles.

VI. Tipos de Barrenos

A continuación, se mencionan ocho tipos de barrenos utilizados para muestreo, los cuales se observan en la Figura 73.

- I. **Edelman:** Es el tipo de barreno más usado para suelos. Su diseño permite un mínimo de fricción durante la penetración en el suelo y poco esfuerzo para retirarlo.
- II. **Riverside:** Diseño muy útil para perforar suelos duros, y compactos, mezclados con grava fina por encima y por debajo del nivel del agua subterránea. Las extremidades muy agudas de la barrena clavan con un cierto ángulo hacia abajo, lo que le permite atravesar el suelo fácilmente.
- III. **Barrenos para suelos pedregosos:** Para suelos con gran contenido de grava, está construida en acero duro forjado en curva. Las puntas de corte son agudas y curvadas hacia fuera, lo que permite un diámetro de corte un poco mayor que el del cuerpo de la barrena (figura 69).



Figura 73. Tipos de barrenos

- IV. **Barreno espiral:** Esta barrena opera como un sacacorchos, y no extrae el suelo. Usualmente se aplica cuando hay que perforar capas duras, por ejemplo, en suelos calcáreos, y en combinación con otros tipos de barrena.
- V. **Colector de piedras:** Este complemento se utiliza para retirar las piedras sueltas dentro de un hoyo.
- VI. **Barrena para suelos blandos:** Este tipo especial de barreno Edelman tiene un cuerpo alargado susceptible a la torsión y se debe utilizar solamente para muestreo de suelos muy blandos.
- VII. **Barreno de mediacaña (tipo gubia):** Este tipo de barreno se utiliza para muestreo de perfiles de suelos cohesivos, más o menos blandos con un mínimo de alteración del perfil del suelo.
- VIII. **Muestreador de pistón:** El muestreador de pistón difiere en diseño y aplicación de todos los barrenos descritos previamente, y es muy útil para muestreo de perfiles de suelo menos cohesivos por debajo del nivel freático. También es válido para muestreo de sedimentos con contenido de arena, como lo muestra la Figura 74, tomada en el muestro de suelos, que se realizará en Isla Greenwich (Saenz, y Colazo, 2015; <https://www.clubensayos.com/Ciencia/Tipos-De-Barrenos/703439.html>).



Figura 74. Muestreo de Suelos

4.1.2 MUESTREO DE SEDIMENTOS

El muestreo de sedimentos representa una serie de retos debido a las dificultades operativas, generalmente estas se encuentran a cierta profundidad, que requiere su medición exacta, la elección de la herramienta adecuada y de habilidades y destrezas de parte del personal responsable de dicha tarea. Los equipos más empleados en estos trabajos son:

- **Draga Van Veen para sedimentos**

Las dragas de tipo draga Van Veen como de la Figura 75, son utilizadas para obtener muestras de fondos acuáticos. Se dispone de diversos tamaños y diseños. El modo operativo de todas las dragas Van Veen es el mismo, las mandíbulas se colocan abiertas, aguantándolas a través de un gancho; seguidamente se baja lentamente en el agua, y tan pronto como toca el fondo, el gancho se suelta y las mandíbulas se cierran, quedando dentro la muestra. Existen varios tipos, de capacidades desde 0,5 a 12 litros. La cantidad de muestra que se puede recoger depende de la compactación del sedimento².



Figura 75. Draga Van Veen

²<https://sp.eijkelkamp.com/productos/equipos-para-la-toma-de-muestras-de-aguas-subterr-neas-y-sedimentos/muestreador-de-sedimentos-draga-van-veen.html>

- **Muestreador de Ekman**

Las dragas tipo Ekman, como la que se indica en la Figura 76, se usan desde botes, miden 15 x 15 cm de boca y se construyen en bronce cromado o preferiblemente en acero inoxidable, para evitar problemas con la corrosión y disminuir la probabilidad de contaminación de las muestras obtenidas, con los metales de la draga. Las cucharas se unen a la caja donde se recibe la muestra, por un par de espigas provistas de fuertes resortes. Cada una de las cucharas cuenta con un cable o cadena que es parte del mecanismo de disparo. Este muestreador de acero inoxidable está diseñado para ser usado en sedimento blando, libre de residuos o vegetación.

Las muestras se pueden tomar de las capas superficiales y las mandíbulas de carga, mediante un dispositivo de muelles, evitan la pérdida de material siempre que no haya pequeñas piedras o tallos que impidan el cierre. Gracias a una abertura en la parte superior se puede observar la muestra antes de que sea recuperada. Este muestreador de 3.5 litros se completa con una cuerda sintética para alcanzar profundidades de hasta 30 metros (Herbich y Brahme, 1991).



Figura 76. Draga Ekman

- **Corer de gravedad**

Este equipo está diseñado para la toma de muestras en sedimento arenoso duro (Blomqvist, 1985; Tuit y Wait, 2020). Encima del cuerpo del corer de gravedad como lo muestra la figura 77, se hallan 4 aletas que dirigen la caída libre. También es posible aumentar el peso con hasta 24 lastres de 2 kg, colocados en estas aletas. En su formato estándar, el equipo incorpora debajo de las aletas 2 lastres de 7 Kg de peso. El tubo está fabricado en acero inoxidable AISI 316. En la boca del tubo después de la boquilla de corte, se halla un cierre tipo "gajos de naranja" que facilita la retención de la muestra,

en conjunto con el pistón trasero. El peso total del equipo es de 25 kg y de 86 kg cuando incorpora los pesos externos. La medida estándar del tubo corer es de 1000mm. Existen medidas opcionales de 1500mm y 2000mm³.



Figura 77. Corer de gravedad

- **Corer de pistón**

El corer de pistón permite la obtención de muestras no perturbadas de 2 metros en sedimento suave y de 4 metros de sedimentos barrosos (Glew et al., 2001; Gallmetzer et al., 2016). Este equipo se halla fabricado en acero inoxidable AISI 316 e incorpora un sistema disparador. El tubo del corer puede ser de acero inoxidable o de PVC transparente (ø110/99mm). Mediante un pistón ubicado en el fondo del tubo se garantiza el total mantenimiento de la muestra durante el ascenso⁴.

La limpieza de los dispositivos de muestreo de suelos, según la EPA, es fundamental para garantizar la calidad de las muestras y evitar su contaminación. Para el efecto se recomienda:

1. Lavar con agua del grifo y un cepillo de acero para eliminar la suciedad adherida,
2. Enjuagar con un producto de baja pureza disolvente orgánico y secar al aire o con acetona,
3. Enjuagar dos veces con agua destilada,
4. Enjuagar con acetona de espectrografía (Cereceda-Balic et al., 2002).
5. Enjuagar dos veces con hexano de grado espectrográfico y secado al aire, y finalmente (Steven et al., 2013).
6. Empaquetar en papel de aluminio limpio (Steven et al., 2013).
7. Otro método alternativo, simple y rápido, que se sugiere en caso de no contar con los materiales necesarios para la limpieza, consiste en empujar repetidamente la sonda del muestreador en el suelo circundante antes de proceder con la toma de muestras.

³ <http://www.ocean-net.info/instrumentacion/KC/corerdegravedad.htm>

⁴ <http://www.ocean-net.info/instrumentacion/KC/corerdepiston.htm>

4.1.3 ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LABORATORIO

Los resultados del análisis de los suelos y sedimentos, enviadas a los laboratorios elegidos (certificados), sirven de base para la interpretación y elaboración de informes de carácter técnico, siendo útiles para la toma de decisiones de investigación, periciales o legislativas, según como corresponda a los objetivos planteados, en el muestreo.

En este caso particular, ayudarán a definir la metodología de aislamiento de microorganismos edáficos, la metodología de tratamiento a emplearse y las técnicas de transporte y preservación de las muestras.

4.2 METODOLOGÍA DE MUESTREO DE SUELOS EN LA ANTÁRTIDA



Figura 78. Vista León Dormido y sus suelos en las inmediaciones de la Estación Maldonado

Los ecosistemas terrestres antárticos son frágiles ante las perturbaciones humanas. Exceptuando los suelos ontogénicos, los suelos antárticos son pobres como se observa en la figura 78, con bajo contenido orgánico, mal consolidado e inestable. Las comunidades vegetales que se desarrollan están representadas por criptógamas, briofitas, líquenes, algas y cianobacterias, que son vulnerable a daños físicos y perturbaciones (Tejedo et al., 2009).

El suelo es uno de los componentes más sensibles a cualquier perturbación y es esencial para las especies terrestres de microfauna y flora. Aproximadamente el 0,34% de la Antártida continente está libre de hielo (Fox et al., 1994), y las superficies terrestres son fácilmente perturbadas por las actividades humanas (Campbell et al., 1993).

El muestreo de suelos en condiciones polares, como la Antártida, presenta una serie de condicionamientos que es necesario considerar para asegurarse no solo de que la muestra sea representativa y cumpla con los objetivos del muestreo, sino que además debe brindar protección al frágil ecosistema de la Antártida. Para el efecto se deben elegir parcelas de muestreo, que con frecuencia son monitoreadas durante varios años.

El muestreo es una parte crítica en los métodos analíticos. Para evitar el sesgo en los resultados, es necesario emplear técnicas adecuadas para el cumplimiento de objetivos específicos, adicionalmente es necesario preservar la muestra para evitar alteraciones que afecten los resultados del análisis. La distribución de los compuestos monitoreados puede ser aleatoria, uniforme, irregular, estratificada o seguir un gradiente por lo que se recomienda realizar pruebas preliminares para establecer una distribución probable (Hildebrandt et al., 2006).

4.2.1 Muestreo de Suelos

Las técnicas de muestreo antes mencionadas, tienen vigencia y pueden ser modificadas en función de la disponibilidad de espacios libres de hielo, ausencia de colonias de animales, presencia de vegetación (musgos y líquenes), o la presencia de instalaciones de estaciones científicas o refugios.

En virtud de que los “suelos” antárticos, no son verdaderos suelos, la profundidad de muestreo con frecuencia no supera los 15cm, aunque varios autores recomiendan profundidades que varían entre 25-30cm (Steven et al., 2013). La probabilidad de encontrar los microorganismos que se necesitan es mayor en el horizonte superior de los suelos, donde existen trazas de materia orgánica que permiten su existencia.

Con fines exploratorios, allí donde no exista cobertura de vegetación y presencia de colonias, las técnicas de muestreo desarrolladas en este documento pueden ser empleadas en virtud del área de muestreo disponibles. De existir cobertura vegetal, se debe retirar con cuidado el material biológico y tomar la muestra en la cantidad adecuada que no genere una pérdida total del sustrato y devolver la vegetación a su sitio original, procurando ejercer la menor perturbación al medio.

Con propósito de evaluar el efecto del proceso de muestreo es fundamental georreferenciar el punto y fotografiar el antes y después del muestro para compararlo con su estado, un año después en la siguiente expedición. Esto permitirá mejorar los procesos de muestreo con el menor daño al ecosistema.

4.2.2 MUESTREO EN ÁREAS ABIERTAS

La metodología de muestreo empleada en espacios abiertos ha sido la de cuarteo que se muestra en la Figura 79. a, b, c y d ejecutada en la Isla Barrientos.





Figura 79. Toma de muestra compuesta a) División de la muestra b) Toma de la temperatura del suelo c) Proceso de cuarteo d) Procesamiento de la muestra

El número de muestras ha sido el de 10/Ha, tomadas a lo largo de la playa en la Isla Barrientos. Las muestras se mezclan uniformemente, se retira el material pétreo, cualquier residuo de carácter orgánico y se procede a aplicar la metodología de cuarteo para obtener una muestra representativa.

También se han recurrido a muestras puntuales en virtud de ciertas características del suelo, la figura 80 muestra el suelo al final de la pendiente en Isla Dee, se debe considerar también la presencia o ausencia de especies vegetales o animales o simplemente, por su ubicación en el contexto general de la isla (explanadas, hondonadas, pendientes, zonas intermareales, etc.)



Figura 80. Muestreo puntual en la base de la pendiente este de la Isla Dee

4.2.3 MUESTREO DE SUELOS PARA HIDROCARBUROS

Este muestreo se efectúa comúnmente en las inmediaciones de los sitios de almacenamiento de combustibles de las estaciones científicas. En base a la experiencia personal, para el muestreo se ha delimitado un área perimetral de 15m en torno a los tanques de almacenamiento de combustibles, en los sitios de estacionamiento de

maquinarias (tractores, cuadrones, botes), generador y planta de tratamiento de aguas residuales.

Estos sitios ofrecen la mayor probabilidad de encontrar los microorganismos con capacidad de degradar hidrocarburos. En la práctica, se deben seleccionar los sitios donde sean evidentes manchas de hidrocarburos o como en la figura 81 en sitios cuya actividad está relacionada con el empleo constante de maquinaria y combustibles.



Figura 81. Muestreo en los suelos adjuntos a los tanques de almacenamiento de combustibles de la Estación Arturo Prat de Chile en la Isla Greenwich.

De igual forma en la expedición ecuatoriana XIV, realizada en el 2010 se tomaron muestras de suelos en la antigua zona de almacenamiento de combustibles de la Estación rusa Bellingshausen, en la isla Rey Jorge, donde en los años 50 ocurrió un derrame de búnker, hasta la actualidad como lo muestra la figura 82 se observa los antiguos tanques de almacenamiento de combustibles.



Figura 82. Tanques de almacenamiento de combustibles de la Estación Bellingshausen

De igual forma, en la zona de almacenamiento de combustibles y en la sala de máquinas de la Estación Científica Pedro Vicente Maldonado, tal como muestra la Figura 83, se presentan espacios de suelos, con manchas de combustibles.



Figura 83. Área de muestreo de hidrocarburos en Maldonado año 2012

Un sitio común de muestreo para hidrocarburos, es el galpón de almacenamiento de maquinaria, que queda bajo cubierta durante la etapa invernal y como resultado del descenso de la temperatura, se rompen las mangueras, empaques y válvulas que producen derrames de aceites y combustibles, como se observa en la Figura 84 a y b. En el interior de los galpones se forman charcos y manchas de combustible que son fáciles de observar en el suelo.



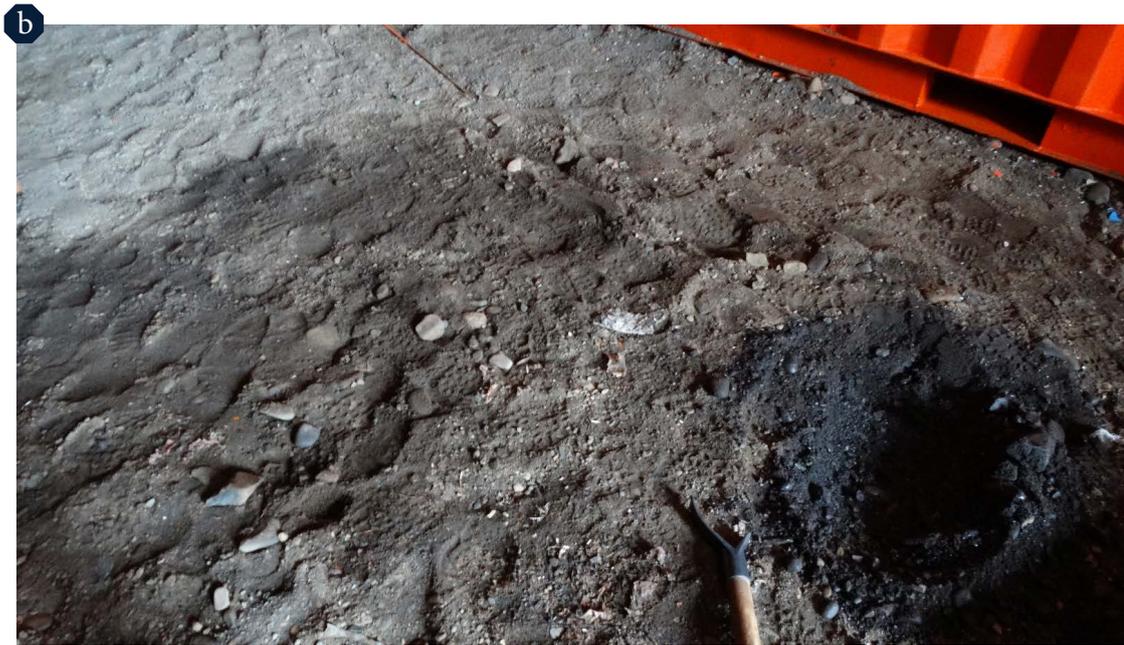


Figura 84. Derrames de combustible a) bajo el vehículo b) Manchas de hidrocarburos en el piso del galpón

En la figura 85 se muestra la dinámica de distribución del hidrocarburo desde el punto de goteo y su desplazamiento en dirección a la ligera pendiente formada en el suelo del galpón. Justamente en el punto de goteo es donde se toma la muestra para análisis.



Figura 85. Recolección de suelos contaminados

4.2.3.1 Toma de muestras

En el caso que las áreas contaminadas sean puntuales, se tomará una muestra de cada sitio. Si se trata de un área grande, se tomarán varias muestras, en tal forma que la muestra global sea representativa de toda el área afectada. Se recomienda recolectar al menos cinco kilogramos, como lo muestra la Figura 85, retirar el material pétreo u otro material extraño. Debido a la afinidad de los hidrocarburos con el material de las fundas con cierre hermético, las muestras seleccionadas se introducen dentro de un sobre de papel aluminio, para evitar la pérdida de hidrocarburos y su influencia en la determinación de la concentración real.

Al tomar muestras de compuestos orgánicos, los envases con materiales plásticos deben evitarse ya que contienen ftalatos y otros aditivos plásticos que podrían migrar a la muestra, y contaminarla produciendo errores en los resultados del análisis. Por otro lado, estos materiales son porosos y provocan pérdidas de compuestos volátiles, y su superficie facilita la actividad microbiana y su colonización, lo que lleva a la degradación del objetivo de investigación (Zhang, 2007). Finalmente, se debe proceder con la técnica de cuarteo y tomar un kg de suelos para su transporte bajo refrigeración.

4.2.3.2 Muestreo en sitios neutros

Para determinar el área de influencia de las estaciones y monitorear en ellas la presencia de hidrocarburos que no son el resultado de la migración desde los focos de contaminación, el muestreo debe realizarse en las zonas intermedias entre el mar y las edificaciones, tal como se muestra en la figura 86, donde se ve la Bahía Fildes en la Isla Rey Jorge en la que se hallan las estaciones Bellingshausen y Eduardo Frey.



Figura 86. Zona potencial de muestreo de hidrocarburos en Isla rey Jorge

Cuando se trata de monitorear la presencia de hidrocarburos de origen exógeno, traídos por las corrientes marinas y la circulación de embarcaciones por la Antártida, es necesario escoger un sitio que excluya la influencia de las estaciones científicas y en él tomar muestras en la zona libre de la marea donde se acumula materia orgánica arrojada por el mar como lo señala la figura 87.

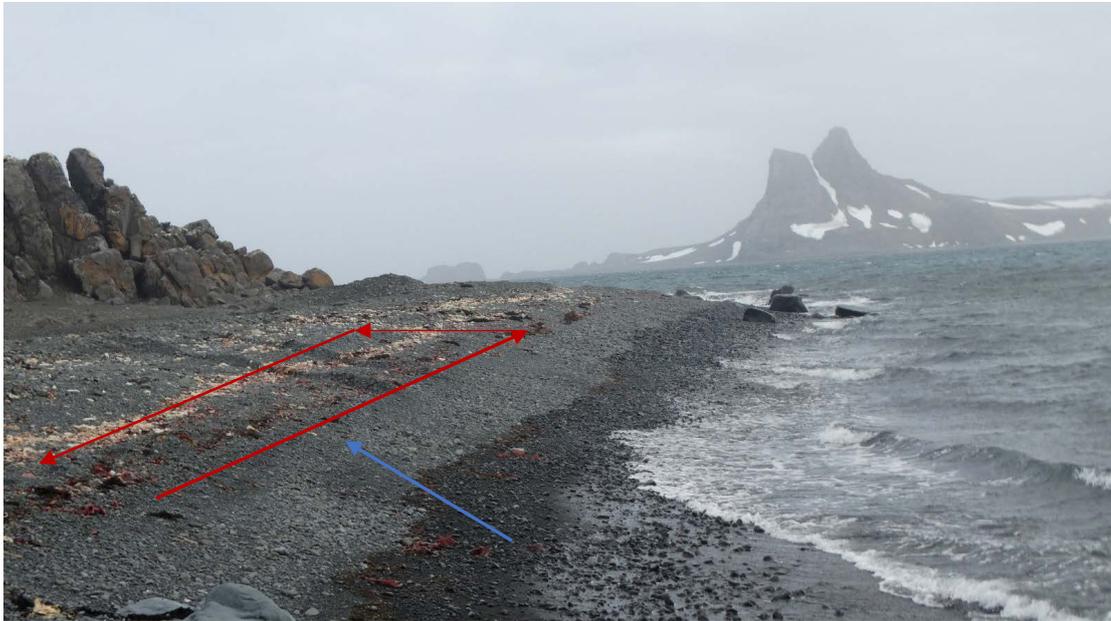


Figura 87. Muestreo en sitios que excluyen la influencia local

La zona marcada de color rojo en la Figura 87 es el espacio adecuado para investigar la presencia de hidrocarburos procedente del mar. La flecha de color celeste marca el límite de la subida de mareas, antes de la cual no es procedente el muestreo, en virtud de su constante lavado.

4.2.4 MUESTREO DE SUELOS EN BUSCA DE QUIMIOLITOTRÓFICOS

En la Antártida no existen verdaderos suelos, sino que se trata de proceso de formación, donde son muy activos los microorganismos quimio lito tróficos, que crecen a expensas de las reacciones de óxido-reducción de elementos minerales y de una escasa fuente de carbono procedente de las excretas de aves, mamíferos, musgos y líquenes muertos, así como de algas y de restos de animales marinos que terminan en las playas.



Figura 88. Roca en proceso de meteorización física y biológica

En la Figura 88, se observa una roca en proceso de fragmentación, en cuya superficie se observa un líquen cuya actividad biológica libera ácidos orgánicos que hidrolizan la roca y facilitan su fragmentación (pedogénesis).



Figura 89. Roca meteorizada

En la Figura 89, se muestra a la misma roca un año después, donde se observa que el proceso de fragmentación se ha acelerado, el tamaño de los fragmentos es más fino. La acción conjunta del clima, radiación y microorganismos terminarán generando las condiciones para el emplazamiento de musgos y líquenes de otras especies.



Figura 90. Suelos en proceso de formación

En la Figura 90, se muestran suelos que, en virtud de la acción conjunta de los factores ambientales y la actividad biológica de microorganismos, líquenes y musgos, han iniciado su formación, en estos se pueden hallar a los microorganismos quimiolitotróficos, y a los saprófitos que aprovechan la escasa materia orgánica formada por los organismos fotosintéticos. Debido a que estos sitios son escasos, las muestras deben ser puntuales.

Para el aislamiento de este tipo de microorganismo se recomienda tomar muestras puntuales, con el propósito de reducir el impacto del muestreo, sin embargo, es necesario hacer tomas sistemáticas anuales para evidenciar los cambios en las propiedades físico-químicas de los suelos y los cambios en la dinámica y diversidad microbiana.

4.2.5. MUESTREO DE SUELOS PARA SAPRÓFITOS

Debido a la escasez de materia orgánica de los suelos antárticos, para aislar microorganismos saprófitos, los espacios ideales son los cercanos a los sitios de anidamiento y descanso de mamíferos marinos y aves (petreles, scúas, pingüinos). Es fundamental hacerlo en las inmediaciones a las colonias, no en forma directa, para evitar violentarlas y provocar reacciones agresivas por parte de los animales, o a su vez, aprovechar para el muestreo, la ausencia de estos animales.



Figura 91. Zona de descanso de lobos marinos

La línea roja de la figura 91, muestra el límite a acceso para la toma de muestras. En las inmediaciones a los nidos de aves el mejor sitio es la zona de pendiente, allí donde el suelo está cubierto por musgos y líquenes, quienes aprovechan los nutrientes de las eyecciones avícolas, tal como se observa en la figura 92.



Figura 92. Nido de petreles junto a la Base Pedro Vicente Maldonado

De igual forma ocurre en la Isla Barrientos, junto a la colonia de pingüinos (Figura 93). Para el muestreo, es importante proceder de igual forma, como se ha señalado anteriormente.



Figura 93. Sitio de muestreo en Barrientos

4.2.6 MUESTREO DE SUELOS PARA METABOLITOS Y DIVERSIDAD MICROBIANA

Para evaluar la diversidad microbiana natural y los metabolitos de los suelos antárticos libres de la influencia humana, se escogen sitios, alejados a las estaciones y donde las corrientes marinas no accedan en forma directa. Para la Estación Maldonado, uno de estos sitios es Punta Ambato (Punta Agüedo), mostrado en la Figura 94. Este lugar, ubicado dentro de la misma Isla, pero cuyo acceso es por mar, se ha mantenido aislado de las perturbaciones humanas.



Figura 94. Vista Punta Ambato

Para la toma de muestras, se retira con cuidado la vegetación superficial y se recoge una alícuota de suelo desarrollado bajo la capa vegetal, como la de líquenes que muestra la Figura 95. En este sentido, es necesario removerle de su sitio, para llegar al suelo y obtener pequeñas porciones, hasta tener una cantidad representativa de suelo, del área de estudio, en varios puntos de toma.

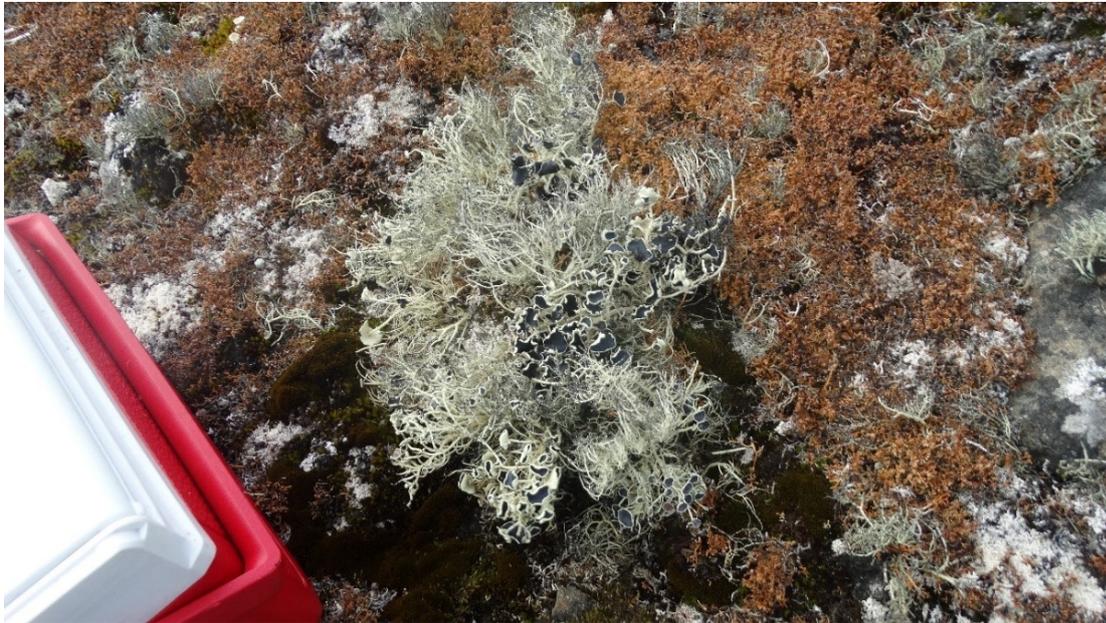


Figura 95. Cubierta liquénica y de musgos de Punta Ambato

4.2.7 TRANSPORTE DE MUESTRAS

El transporte de muestras es una de las etapas de mayor responsabilidad, debido a los problemas logísticos relacionados con las expediciones. La principal dificultad está asociada a la posibilidad de refrigerar las muestras en contenedores especiales y a la conservación de su refrigeración hasta el Ecuador. En la Figura 96 se muestra la forma correcta de embalaje de las muestras de suelo tomadas en la Antártida.



Figura 96. Empaquetado de las muestras de suelos

El segundo está relacionado con los trámites de tránsito que se deben hacer en Punta Arenas en el Instituto Antártico Chileno, para lo cual el investigador debe presentar el certificado de autorización de toma de muestras por parte de la autoridad ambiental nacional, del INOCAR, y la certificación emitida por el Director de la expedición, donde se señale el contenido de los recipientes, en relación al tipo de muestra, cantidad, ubicación (coordenadas), nombre del responsable y tipo de embalaje.

Si no es factible el envío de las muestras refrigeradas en contenedores hasta el Ecuador, es posible que sean llevadas por el investigador. Para el efecto se debe autoclavar los suelos e impregnarlo con las cepas aisladas. Si no es factible hacerlo, se pueden transportar las cepas microbianas impregnadas en papel filtro estéril dentro de tubos falcón. En la Figura 97 se indica el traslado de muestras hacia Ecuador.

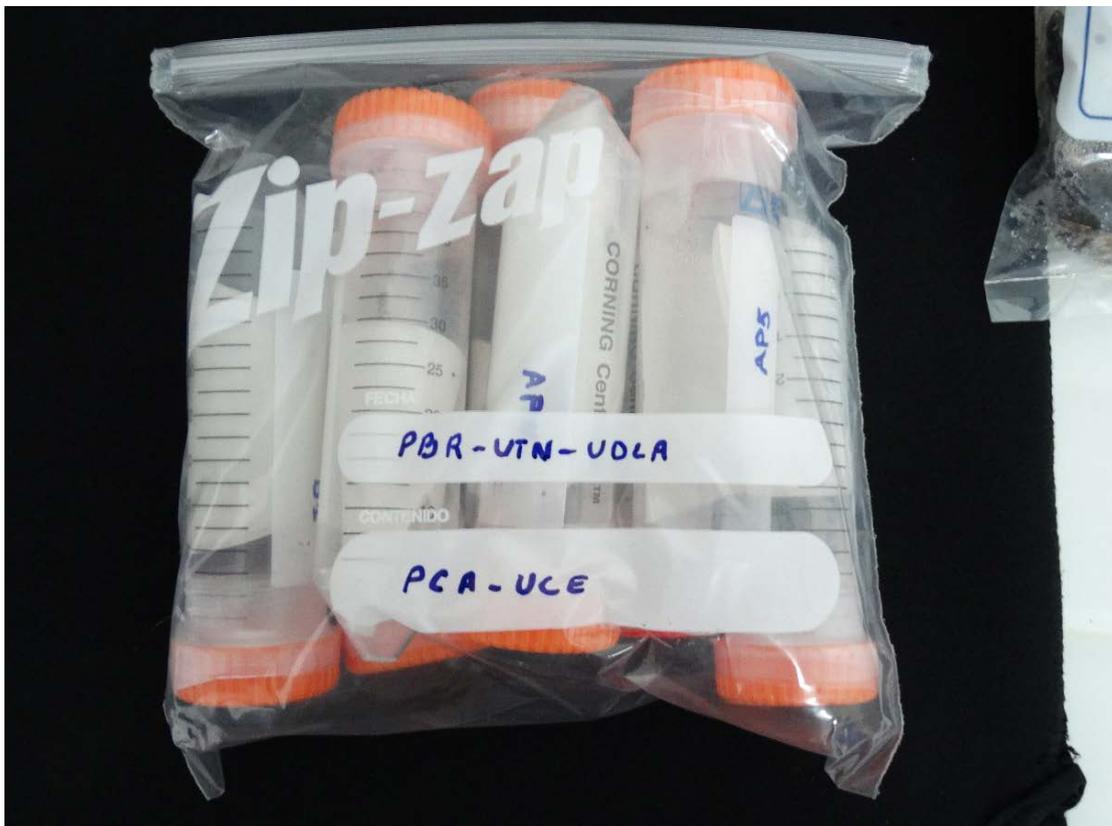


Figura 97. Microorganismos transportados en papel filtro





BIBLIOGRAFÍA

- Barboza, L. G. A., A. Cózar, B. C. Gimenez, T. L. Barros, P. J. Kershaw and L. Guilhermino. (2019). Macroplastics pollution in the marine environment. *World Seas: an Environmental Evaluation*. Elsevier. 305-328.
- Barreno, E., & Pérez-Ortega, S. (2003). *Biología de los líquenes*. Consejería de Medio Ambiente, Ordenación del Territorio e Infraestructuras del Principado de Asturias y KRK ediciones, 65-82.
- Baniya, C. B., & Rai, H. (2013). Terricolous lichens in Himalayas: Patterns of species richness along elevation gradient. *Terricolous Lichens in India*, H. Rai and D. Upreti, Eds.
- Benavent, I. G. (2017). *Filogeografía y biología de líquenes Antártidos* (Doctoral dissertation, Universidad Complutense de Madrid).
- Blettler, M. C. M., M. A. Ulla, A. P. Rabuffetti and N. Garello. (2017). Plastic pollution in freshwater ecosystems: macro-, meso-, and microplastic debris in a floodplain lake. *Environmental Monitoring and Assessment*, 189 (11): 581.
- Blomqvist, S. (1985). Reliability of core sampling of soft bottom sediment—an in situ study. *Sedimentology*, 32(4), 605-612.
- Boerger, C. M., Lattin, G. L., Moore, S. L., & Moore, C. J. (2010). Plastic ingestion by planktivorous fishes in the North Pacific Central Gyre. *Marine Pollution Bulletin*, 60(12), 2275–2278. <https://doi.org/10.1016/J.MARPOLBUL.2010.08.007>
- Bond, T., Ferrandiz-Mas, V., Felipe-Sotelo, M., & van Sebille, E. (2018). The occurrence and degradation of aquatic plastic litter based on polymer physicochemical properties: A review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 48(7–9), 685–722. <https://doi.org/10.1080/10643389.2018.1483155>
- Brown, A. J. (1999). Soil sampling and sample handling for chemical analysis. *Soil analysis: An interpretation manual*. Eds. KI Peverill, LA Sparrow, DJ Reuter. Melbourne. CSIRO Publishing, 35-54
- Buduba, C. (2004). Muestreo de suelos. *Criterios básicos*. *Patagonia Forestal*, 1, 9-12.
- Campbell, I. B., Balks, M. R., & Claridge, G. G. C. (1993). A simple visual technique for estimating the impact of fieldwork on the terrestrial environment in ice-free areas of Antarctica. *Polar Record*, 29(171), 321-328
- Caruso, G., Bergami, E., Singh, N., & Corsi, I. (2022). Plastic occurrence, sources, and impacts in Antarctic environment and biota. *Water Biology and Security*, 1(2). <https://doi.org/10.1016/j.watbs.2022.100034>
- Cereceda-Balic, F., Kleist, E., Prast, H., Schlimper, H., Engel, H., & Günther, K. (2002).

- Description and evaluation of a sampling system for long-time monitoring of PAHs wet deposition. *Chemosphere*, 49(3), 331-340.
- Cheshire, A., E. Adler, J. Barbière, Y. Cohen, S. Evans, S. Jarayabhand, L. Jetic, R. Jung, S. Kinsey and E. Kusui. (2013). IOC Guidelines on Survey and Monitoring of Marine Litter. UNEP Regional Seas Reports and Studies (186).
- Cline, M.G. (1944). Principles of soil sampling. *Soil Sci.* 58:275- 288
- Cózar, A., Echevarría, F., González-Gordillo, J. I., Irigoien, X., Úbeda, B., Hernández-León, S., Palma, Á. T., Navarro, S., García-de-Lomas, J., Ruiz, A., Fernández-de-Puelles, M. L., & Duarte, C. M. (2014). Plastic debris in the open ocean. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(28), 10239–10244. https://doi.org/10.1073/PNAS.1314705111/SUPPL_FILE/PNAS.1314705111.SAPP.PDF
- Crepin, J., & Johnson, R. L. (1993). Soil sampling for environmental assessment. *Soil sampling and methods of analysis*, 5-24.
- Cubas, P., Núñez, J., Crespo, A., & Divakar, P. K. (2010). Líquenes: que son y su uso como bioindicadores. *GEMM/Proyecto de Innovación*, 123, 1-9.
- Dauvergne, P. (2018). The power of environmental norms: marine plastic pollution and the politics of microbeads. *Environmental Politics*, 27 (4): 579-597.
- de Paz, G. A., & Burgaz, A. R. (2009). Líquenes epifíticos del Hayedo de Montejo de la Sierra (Madrid). Editorial Complutense.
- Derraik, J. G. (2002). The pollution of the marine environment by plastic debris: a review. *Marine pollution bulletin*, 44(9), 842-852.
- DeVivo, B., Belkin, H., & Lima, A. (Eds.). (2017). *Environmental geochemistry: site characterization, data analysis and case histories*. Elsevier
- Eriksen, M., Borgogno, F., Villarrubia-Gómez, P., Anderson, E., Box, C., & Trenholm, N. (2020). Mitigation strategies to reverse the rising trend of plastics in Polar Regions. *Environment international*, 139, 105704.
- Flores, D. I. V. (2014). Los líquenes, una alternativa para el control de fitopatógenos. *Fitosanidad*, 18(1), 51-57.
- Fox, A. J., Paul, A., & Cooper, R. (1994). Measured properties of the Antarctic ice sheet derived from the SCAR Antarctic digital database. *Polar Record*, 30(174), 201-206
- Gallmetzer, I., Haselmair, A., Stachowitsch, M., & Zuscin, M. (2016). An innovative piston corer for large-volume sediment samples. *Limnology and Oceanography: Methods*, 14(11), 698-717

- Gan, Q., Cui, J., & Jin, B. (2023). Environmental microplastics: Classification, sources, fates, and effects on plants. *Chemosphere*, 313, 137559. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2022.137559>
- Garcés de Granada, E., Correa de Restrepo, M., Coba de Gutiérrez, B., Orozco de Amézquita, M., Zapata, A. C., Anacona Chingana, A., & Sabogal, S. P. (2003). *Morfología y Clasificación de los Hongos*.
- Glew, J. R., Smol, J. P., & Last, W. M. (2001). Sediment core collection and extrusion. Tracking environmental change using lake sediments: basin analysis, coring, and chronological techniques, 73-105.
- Gola, D., Kumar Tyagi, P., Arya, A., Chauhan, N., Agarwal, M., Singh, S. K., & Gola, S. (2021). The impact of microplastics on marine environment: A review. *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management*, 16, 100552. <https://doi.org/10.1016/j.enmm.2021.100552>
- Hanvey, J. S., P. J. Lewis, J. L. Lavers, N. D. Crosbie, K. Pozo and B. O. Clarke. 2017. A review of analytical techniques for quantifying microplastics in sediments. *Analytical Methods*, 9 (9): 1369-1383.
- Hartmann, N. B., Hüffer, T., Thompson, R. C., Hassellöv, M., Verschoor, A., Daugaard, A. E., Rist, S., Karlsson, T., Brennholt, N., Cole, M., Herrling, M. P., Hess, M. C., Ivleva, N. P., Lusher, A. L., & Wagner, M. (2019). Are We Speaking the Same Language? Recommendations for a Definition and Categorization Framework for Plastic Debris. *Environmental Science and Technology*, 53(3), 1039–1047. https://doi.org/10.1021/ACS.EST.8B05297/ASSET/IMAGES/MEDIUM/ES-2018-05297K_0006.GIF
- Herbich, J. B., & Brahme, S. B. (1991). Literature review and technical evaluation of sediment resuspension during dredging.
- Herranz, J. E., & Pozo, M. (2022). Sepiolite and Other Authigenic Mg-Clay Minerals Formation in Different Palustrine Environments (Madrid Basin, Spain). *Minerals*, 12(8), 987.
- Herrera, A., M. Asensio, I. Martínez, A. Santana, T. Packard and M. Gómez. (2018). Microplastic and tar pollution on three Canary Islands beaches: An annual study. *Marine pollution bulletin*, 129 (2): 494-502.
- Herrera-Campos, M. A., Lücking, R., Pérez-Pérez, R. E., Miranda-González, R., Sánchez, N., Barcenás-Peña, A., ... & Nash III, T. H. (2014). Biodiversity of lichens in Mexico. *Revista mexicana de biodiversidad*, 85, S82-S99.
- Hidalgo, M., Umaña, M., & Chaves, J. (2009). Documento borrador de referencia Protocolo de manejo de colecciones de hongos.
- Hidalgo-Ruz, V., Gutow, L., Thompson, R. C., & Thiel, M. (2012). Microplastics in the marine environment: A review of the methods used for identification and

quantification. *Environmental Science and Technology*, 46(6), 3060–3075. https://doi.org/10.1021/ES2031505/ASSET/IMAGES/MEDIUM/ES-2011-031505_0006.GIF

Hildebrandt, A., Lacorte, S., & Barceló, D. (2006). Sampling of water, soil and sediment to trace organic pollutants at a river-basin scale. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 386, 1075-1088

Hu, K., Yang, Y., Zuo, J., Tian, W., Wang, Y., Duan, X., & Wang, S. (2022). Emerging microplastics in the environment: Properties, distributions, and impacts. *Chemosphere*, 297, 134118. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2022.134118>

Huereca Delgado, A., Salcedo Martínez, S. M., Alvarado Vázquez, M., & Moreno Limón, S. (2018). Los líquenes: Definición, características, importancia y usos potenciales. *Biología y sociedad*, 1(2), 16-27.

<http://www.ocean-net.info/instrumentacion/KC/corerdepiston.htm>

http://www.maser.com.co/producto.php?idProducto=758&color=33&categorias_id=128

<http://www.ocean-net.info/instrumentacion/KC/corerdegravedad.htm>

<https://sp.eijkelkamp.com/productos/equipos-para-la-toma-de-muestras-de-aguas-subterr-neas-y-sedimentos/muestreador-de-sedimentos-draga-van-veen.html>

James, D. W., & Wells, K. L. (1990). Soil sample collection and handling: Technique based on source and degree of field variability. *Soil testing and plant analysis*, 3, 25-44.

Jones, J. (2018). *Soil analysis handbook of reference methods*. CRC press.

Keith, L. H. (1988). *Principles of environmental sampling*.

Kett, A., Dong, S., Andrachuk, H., & Craig, B. (2008). *Aprendiendo con Líquenes: Uso de Líquenes Epifitos como Indicadores Biológicos de Contaminación del Aire*. Citizens Environment Watch, Canada.

Knap, A. H., Binkley, K. S., & Artz, R. S. (1988). The occurrence and distribution of trace organic compounds in Bermuda precipitation. *Atmospheric Environment* (1967), 22(7), 1411-1423

Kovač Viršek, M., Palatinus, A., Koren, Š., Peterlin, M., Horvat, P., & Kržan, A. (2016). Protocol for Microplastics Sampling on the Sea Surface and Sample Analysis. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, 118, e55161. <https://doi.org/10.3791/55161>

- Kuhar, J. F., Castiglia, V. C., & Papinutti, V. L. (2013). Reino Fungi: morfologías y estructuras de los hongos.
- Lacerda, A. L. d. F., Rodrigues, L. dos S., van Sebille, E., Rodrigues, F. L., Ribeiro, L., Secchi, E. R., Kessler, F., & Proietti, M. C. (2019). Plastics in sea surface waters around the Antarctic Peninsula. *Scientific Reports* 2019 9:1, 9(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-40311-4>
- Laglbauer, B. J. L., Franco-Santos, R. M., Andreu-Cazenave, M., Brunelli, L., Papadatou, M., Palatinus, A., Grego, M., & Deprez, T. (2014). Macrodebris and microplastics from beaches in Slovenia. *Marine Pollution Bulletin*, 89(1–2), 356–366. <https://doi.org/10.1016/J.MARPOLBUL.2014.09.036>
- Lenzi, J., Bresesti, F., Lozoya, J. P., De Feo, B., Krojmal, E., Lacerot, G., Braun, C., & Teixeira de Mello, F. (2022). Diet and debris ingestion of skuas on Fildes Peninsula, King George Island, Antarctica. *Marine Pollution Bulletin*, 185, 114211. <https://doi.org/10.1016/J.MARPOLBUL.2022.114211>
- LI, W. C., H. Tse and L. FOK. (2016). Plastic waste in the marine environment: A review of sources, occurrence and effects. *Science of the Total Environment*, 566: 333-349.
- Lippiatt, S., S. Opfer and C. Arthur. (2013). Marine debris monitoring and assessment: recommendations for Monitoring Debris Trends in the Marine Environment. NOAA Technical Memorandum NOS-OR&R-46.
- Lot, A., & Chiang-Cabrera, F. (Eds.). (1986). Manual de herbario: administración y manejo de colecciones, técnicas de recolección y preparación de ejemplares botánicos. Consejo Nacional de la flora de México.
- Lovecraft, H. P. (2007). En las montañas de la locura: Orden y Caos III (Vol. 3). Edaf.
- Alejandra, A. M. Y. (2009). Manual de Prácticas de Laboratorio de Micología.
- Lozoya, J. P., Rodríguez, M., Azcune, G., Lacerot, G., Pérez-Parada, A., Lenzi, J., Rossi, F., & de Mello, F. T. (2022). Stranded pellets in Fildes Peninsula (King George Island, Antarctica): New evidence of Southern Ocean connectivity. *Science of The Total Environment*, 838, 155830. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2022.155830>
- Mason, B.J. (1992). Preparation of soil sampling protocols: sampling techniques and strategies. EPA/600/R-92/128. Las Vegas
- Molina-Montenegro, M. A., Torres-Díaz, C., Carrasco-Urra, F., González-Silvestre, L. A., & Gianoli, E. (2012). Plasticidad fenotípica en dos poblaciones antárticas de *Colobanthus quitensis* (Caryophyllaceae) bajo un escenario simulado de cambio global. *Gayana. Botánica*, 69(1), 152-160.
- Montoya, H., Fiestas, I., Cruz, R., Quispe, R., y Rodríguez, V. (2019). Comunidades criofílicas de los glaciares del nevado de Allinacpac, Andes del sur de Perú, departamento de Puno: variabilidad fenotípica de la cianobacteria *Nostoc*

- commune (Nostocales, Nostocaceae) Cryophilic communities of the Allincapac mountain gl. *Arnaldoa*, 26(2), 657–674.
- Nash, T. (2008). Lichen Biology. In CAMBRIDGE (Arizona St, Vol. 2, Issue 2).
- Okalebo, J. R., Gathua, K. W., & Woome, P. L. (2002). Laboratory methods of soil and plant analysis: a working manual second edition. *Sacred Africa*, Nairobi, 21, 25-26
- Otálora, M. G., Martínez, I., Brien, H., Molina, C., y Aragón, G. (2010). Multiple origins of high reciprocal symbiotic specificity at an intercontinental spatial scale among gelatinous lichens (Collemataceae, Lecanoromycetes). *Molecular Phylogenetics*
- Øvstedal, DO y Smith, RL (2001). Líquenes de la Antártida y Georgia del Sur: una guía para su identificación y ecología. Prensa de la Universidad de Cambridge
- Petersen, R.G., Calvin, L.D. (1996). Sampling. In: D.L. Sparks, A.L. Page, P.A. Helmke, Rh. Loeppert (eds.), *Methods of Soil Analysis Part 3 Chemical Methods* 1-19. Madison, Soil Science Society of America.
- Puasa, N. A., Zulkharnain, A., Verasoundarapandian, G., Wong, C. Y., Zahri, K. N. M., Merican, F., Shaharuddin, N. A., Gomez-Fuentes, C., & Ahmad, S. A. (2021). Effects of Diesel, Heavy Metals and Plastics Pollution on Penguins in Antarctica: A Review. *Animals* 2021, Vol. 11, Page 2505, 11(9), 2505. <https://doi.org/10.3390/ANI11092505>
- Purvis, W. (2000). Lichens. natural history museum.
- Robertson, G. P. (Ed.). (1999). *Standard soil methods for long-term ecological research (Vol. 2). Long-Term Ecological Research.*
- Romeo, T., B. Pietro, C. Pedà, P. Consoli, F. Andaloro and M. C. Fossi. 2015. First evidence of presence of plastic debris in stomach of large pelagic fish in the Mediterranean Sea. *Marine pollution bulletin*, 95 (1): 358-361.
- Ryan, P. G., C. J. Moore, J. A. van Franeker and C. L. Moloney. (2009). Monitoring the abundance of plastic debris in the marine environment. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 364 (1526): 1999-2012.
- Sabbe, W. E., & Marx, D. B. (1987). Soil sampling: spatial and temporal variability. *Soil testing: Sampling, correlation, calibration, and interpretation*, 21, 1-14
- Sancho, L. G., & Pintado, A. (2011). Ecología vegetal en la Antártida. *Ecosistemas*, 20(1).
- Sergio Pérez-Ortega, Miguel Verdú, Isaac Garrido-Benavent, Sonia Rabasa, T.G. Allan Green, Leopoldo G. Sancho & Asunción de los Ríos (2023). Invariant properties of mycobiont-photobiont networks in Antarctic lichens. *Global Ecology and Biogeography*. DOI: <https://doi.org/10.1111/geb.13744>

- Shomura, R. S. and M. L. Godfrey. (1990). Proceedings of the Second International Conference on Marine Debris, 2-7 April 1989, Honolulu, Hawaii.
- Spribile, T., Tuovinen, V., Resl, P., Vanderpool, D., Wolinski, H., Aime, M. C., ... & McCutcheon, J. P. (2016). Basidiomycete yeasts in the cortex of ascomycete macrolichens. *Science*, 353(6298), 488
- Spribile, T., Resl, P., Stanton, D. E., & Tagirdzhanova, G. (2022). Evolutionary biology of lichen symbioses. *New Phytologist*, 234(5), 1566-1582.
- Steven, B., Lionard, M., Kuske, C. R., & Vincent, W. F. (2013). High bacterial diversity of biological soil crusts in water tracks over permafrost in the high arctic polar desert. *PLoS One*, 8(8), e71489.
- Tan, K. H. (2005). Soil sampling, preparation, and analysis. CRC press.
- Taylor, P. D., Ramsey, M. H., & Potts, P. J. (2005). Spatial contaminant heterogeneity: quantification with scale of measurement at contrasting sites. *Journal of Environmental Monitoring*, 7(12), 1364-1370.
- Tejedo, P., Justel, A., Benayas, J., Rico, E., Convey, P., & Quesada, A. (2009). Soil trampling in an Antarctic Specially Protected Area: tools to assess levels of human impact. *Antarctic Science*, 21(3), 229-236.
- Teuten, E. L., S. J. Rowland, T. S. Galloway and R. C. Thompson. (2007). Potential for plastics to transport hydrophobic contaminants. *Environmental Science & Technology*, 41 (22): 7759-7764
- Tuit, C. B., & Wait, A. D. (2020). A review of marine sediment sampling methods. *Environmental Forensics*, 21(3-4), 291-309.
- Vince, J. and B. D. Hardesty. 2017. Plastic pollution challenges in marine and coastal environments: from local to global governance. *Restoration Ecology*, 25 (1): 123-128.
- Waller, C. L., Griffiths, H. J., Waluda, C. M., Thorpe, S. E., Loaiza, I., Moreno, B., Pacherres, C. O., & Hughes, K. A. (2017). Microplastics in the Antarctic marine system: An emerging area of research. *Science of The Total Environment*, 598, 220–227. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2017.03.283>
- Wang, W., Gao, H., Jin, S., Li, R., & Na, G. (2019). The ecotoxicological effects of microplastics on aquatic food web, from primary producer to human: A review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 173, 110–117. <https://doi.org/10.1016/J.ECOENV.2019.01.113>
- Wright, S. L., Thompson, R. C., & Galloway, T. S. (2013). The physical impacts of microplastics on marine organisms: A review. *Environmental Pollution*, 178, 483–492. <https://doi.org/10.1016/J.ENVPOL.2013.02.031>

Xu, B., Liu, F., Brookes, P. C., & Xu, J. (2018). Microplastics play a minor role in tetracycline sorption in the presence of dissolved organic matter. *Environmental Pollution*, 240, 87–94. <https://doi.org/10.1016/J.ENVPOL.2018.04.113>

Zhang, C. (2007). *Fundamentals of environmental sampling and analysis*. John Wiley & Sons

Zhang, M., Haward, M., & McGee, J. (2020). Marine plastic pollution in the polar south: Responses from Antarctic Treaty System. *Polar Record*, 56, e36. <https://doi.org/10.1017/S0032247420000388>.



AGRADECIMIENTOS

Gracias a la Universidad Técnica del Norte y a sus autoridades, por hacernos partícipes de su visión en el desarrollo de la investigación, al contar con los laboratorios, apoyo de docentes y estudiantes.

Gratitud también a quienes han permitido el desarrollo de la investigación antártica en el país: A la Armada del Ecuador, a través de la Dirección General de Intereses Marítimos (DIGEIM), y el Instituto Oceanográfico y Antártico de la Armada del Ecuador (INOCAR), por el apoyo logístico y técnico brindado.



ISBN: 978-9942-572-02-8



9 789942 572028