



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE BOTÁNICA

MONITOREO E IMPACTO DEL OZONO ATMOSFÉRICO EN
FOLLAJE Y POLEN DE *Pinus hartwegii* LINDL. DEL VALLE
DE MÉXICO

TOMÁS HERNÁNDEZ TEJEDA

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTOR EN CIENCIAS

Montecillo, Texcoco, Estado de México

2014

La presente tesis titulada: "**Monitoreo e impacto del ozono atmosférico en follaje y polen de *Pinus hartwegii* Lindl. del Valle de México**" fue realizada por el alumno **Tomás Hernández Tejeda**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS

BOTÁNICA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO



Dra. María de Lourdes de la Isla de Bauer

ASESOR



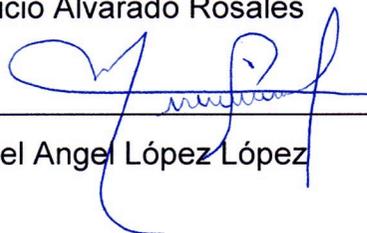
Dr. Alejandro Velázquez Martínez

ASESOR



Dr. Dionicio Alvarado Rosales

ASESOR



Dr. Miguel Angel López López

Al Dr. Paul Robert Miller

(1933-2005)

USDA Forest Service

Riverside, CA, USA

Pionero e incansable investigador del impacto de la contaminación atmosférica sobre los ecosistemas forestales de California, Estados Unidos de Norteamérica.

AGRADECIMIENTOS

Al Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), por la oportunidad brindada para continuar con mi preparación académica.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el apoyo económico durante mi estancia en el Colegio de Postgraduados.

A la Dra. Maria de Lourdes de la Isla de Bauer, por su dirección, sabios consejos y orientación profesional antes, durante y después del desarrollo de la presente investigación.

A todos los profesores del Colegio de Postgraduados que me compartieron sus enseñanzas y experiencias en el campo de la investigación científica, especialmente al Dr. J. Jesús Vargas Hernández, Dr. Alejandro Velázquez Martínez, Dr. Dionicio Alvarado Rosales, Miguel Angel López López y Dr. Víctor Manuel Cetina Alcalá.

Al Servicio Forestal Canadiense por el apoyo económico y logístico para realizar parte del presente estudio, particularmente al Dr. Roger M. Cox y Dr. John Malcolm, de Fredericton, New Brunswick, Canadá, quienes facilitaron su laboratorio, aportando el material y equipo para realizar los experimentos de fumigación artificial de los granos de polen de *Pinus hartwegii* con ozono, así como para llevar a cabo el análisis e interpretación de las concentraciones de ozono registradas con los monitores pasivos en el Valle de México.

A la Embajada Canadiense en la Ciudad de México por su apoyo en la logística del envío y recepción de los monitores pasivos de ozono.

A distintas Instituciones Educativas y de Investigación de los Estados Unidos y Canadá, donde laboran el Dr. Sagar V. Krupa, Dr. William W. Manning, Dr. John M. Skelly y Dr. Mark E. Fenn, por sus consejos y apoyo incondicional.

Al Dr. Ignacio Benítez Riquelme y al M. C. Efraín Velasco Bautista un sincero agradecimiento por sus comentarios y sugerencias en el análisis estadístico y discusión de resultados.

Al Ing. Aquileo Guzmán Perdomo, Sr. Lázaro Carrillo Carrillo, Dr. Abel Quevedo Nolasco y al Dr. Víctor Manuel Perea Estrada, por su apoyo en las labores de campo y colecta de información, así como por sus valiosos comentarios para mejorar este documento.

A todas aquellas personas que de manera directa o indirecta hicieron posible la realización de este trabajo de investigación científica.

| CONTENIDO | Pág. |
|--|-------------|
| ÍNDICE DE FIGURAS | vii |
| ÍNDICE DE CUADROS | viii |
| RESUMEN | ix |
| ABSTRACT | x |
| INTRODUCCIÓN GENERAL, OBJETIVOS E HIPÓTESIS | xi |
| CAPÍTULO I. VARIACIÓN ESPACIAL Y ESTACIONAL DE LA CONCENTRACIÓN DE OZONO ATMOSFÉRICO EN TRES ÁREAS FORESTALES | 1 |
| Introducción | 1 |
| Materiales y métodos | 5 |
| Resultados y discusión | 10 |
| Conclusiones | 20 |
| Bibliografía | 21 |
| CAPÍTULO II. EVALUACIÓN CUALITATIVA DEL DAÑO FOLIAR INDUCIDO POR OZONO SOBRE <i>Pinus hartwegii</i> Lindl. EN TRES ÁREAS FORESTALES | 25 |
| Introducción | 25 |
| Materiales y métodos | 28 |
| Resultados y discusión | 32 |
| Conclusiones | 42 |
| Bibliografía | 43 |
| CAPÍTULO III. IMPACTO DEL OZONO SOBRE EL ALARGAMIENTO DEL TUBO POLÍNICO Y LA GERMINACIÓN DEL POLEN DE <i>Pinus hartwegii</i> Lindl. | 47 |
| Introducción | 47 |
| Materiales y métodos | 51 |
| Resultados y discusión | 56 |
| Conclusiones | 62 |
| Bibliografía | 63 |

ÍNDICE DE FIGURAS

Pág.

CAPÍTULO I

| | |
|---|----|
| I.1. Componentes de los monitores pasivos “Can Oxy Plates™” para medir ozono atmosférico..... | 7 |
| I.2. Correlación entre el monitor electrónico y el pasivo de ozono con datos del 1 de julio de 1997 al 12 mayo de 1998. Ambos tipos de monitores (electrónico y pasivo) se instalaron en el Desierto de los Leones, D. F..... | 11 |
| I.3. Concentración de ozono para cada fecha de monitoreo en cada una de las tres localidades forestales en estudio..... | 14 |
| I.4. Fechas de monitoreo de ozono en tres diferentes elevaciones del Ajusco, Distrito Federal..... | 16 |
| I.5. Fechas de monitoreo de ozono en tres diferentes elevaciones del Desierto de los Leones, Distrito Federal..... | 17 |
| I.6. Fechas de monitoreo de ozono en tres diferentes elevaciones de Zoquiapan, Estado de México..... | 18 |

CAPÍTULO II

| | |
|---|----|
| II.1. Evaluación cualitativa del daño por ozono en <i>P. hartwegii</i> , durante 1997 y 1998, a 3 elevaciones del Ajusco, D. F..... | 37 |
| II.2. Evaluación cualitativa del daño por ozono en <i>P. hartwegii</i> , durante 1997 y 1998, a 3 elevaciones del Desierto de los Leones, D. F..... | 38 |
| II.3. Evaluación cualitativa del daño por ozono en <i>P. hartwegii</i> , durante 1997 y 1998, a 3 elevaciones de Zoquiapan, Méx..... | 40 |

CAPÍTULO III

| | |
|--|----|
| III.1. Cámaras especiales para fumigación artificial con ozono. (Modificación con autorización del Dr. Roger M. Cox del Servicio Forestal Canadiense)... | 54 |
|--|----|

ÍNDICE DE CUADROS

Pág.

CAPÍTULO I

- I.1. Localización de los 10 sitios de monitoreo permanente donde se instalaron los monitores pasivos de ozono y el monitor electrónico..... 6
- I.2. Análisis de varianza de las mediciones de la concentración de ozono en las localidades del Valle de México, a diferentes elevaciones..... 12

CAPÍTULO II

- II.1. Escala de evaluación cualitativa para determinar los daños por oxidantes fotoquímicos en pinos..... 29
- II.2. Número de árboles con índices de daño foliar ligero y severo en tres localidades del Valle de México, de acuerdo con la prueba de X^2 32
- II.3. Número de árboles con índices de daño foliar ligero y severo en cada una de las tres elevaciones del Ajusco, D. F..... 33
- II.4. Número de árboles con índices de daño foliar ligero y severo en cada una de las tres elevaciones del Desierto de los Leones, D. F..... 33
- II.5. Número de árboles con índices de daño foliar ligero y severo en cada una de las tres elevaciones de Zoquiapan, Méx..... 34

CAPÍTULO III

- III.1. Localidad, coordenadas, estrato y número de lotes donde se colectó el polen de *P. hartwegii* del Valle de México..... 52
- III.2. Cuadrados medios (CM) y grados de libertad (gl) del análisis de varianza para el porcentaje de germinación (%G) y el alargamiento del tubo polínico (AT) de los granos de polen de *P. hartwegii* fumigados con ozono durante 3 ó 6 días consecutivos..... 56
- III.3. Valores promedio del porcentaje de germinación (%G) y el alargamiento del tubo polínico en μ (AT) de los granos de polen de *P. hartwegii* fumigados con diferentes concentraciones de ozono durante 3 ó 6 días consecutivos..... 57

MONITOREO E IMPACTO DEL OZONO ATMOSFÉRICO EN FOLLAJE Y POLEN DE *Pinus hartwegii* LINDL. DEL VALLE DE MÉXICO

Tomás Hernández Tejeda, Dr.

Colegio de Postgraduados, 2014

RESUMEN

Existen diversos factores que pueden influir sobre el deterioro de los ecosistemas forestales del Valle de México y en particular del proceso normal de fecundación y formación de la semilla en los bosques de *Pinus hartwegii* Lindl., entre los que destacan la contaminación atmosférica por oxidantes fotoquímicos, especialmente el ozono. El objetivo general fue determinar las concentraciones de ozono atmosférico dentro de tres áreas forestales del Valle de México, así como su impacto sobre el follaje y el polen de *P. hartwegii*. En los bosques de El Ajusco, D. F.; Desierto de los Leones, D. F., y Zoquiapan, Estado de México, se establecieron los nueve sitios de un décimo de hectárea, donde se monitoreo el ozono atmosférico, se realizó la evaluación cualitativa del daño foliar por ozono y se colectó el polen. El monitoreo del ozono se llevó a cabo con los monitores pasivos "Can Oxy Plates™"; la determinación del daño foliar se hizo con la escala de evaluación cualitativa del Dr. Miller y la fumigación artificial de los granos de polen se realizó en los laboratorios del Servicio Forestal Canadiense, en Fredericton, New Brunswick. Los resultados obtenidos señalan que los monitores pasivos manifestaron un alto grado de confiabilidad en sus lecturas, al comparar su eficiencia contra un monitor electrónico de ozono, instalado en el convento del Desierto de los Leones. En El Ajusco y en el Desierto de los Leones, D. F. las concentraciones de ozono atmosférico observadas, indujeron un mayor grado de daño en el follaje de *P. hartwegii*, en comparación con el área testigo ubicada en Zoquiapan; sin embargo, en ella también se observaron los síntomas característicos de daño, tales como el moteado y/o bandeado clorótico de las acículas de mayor edad, defoliación prematura y mortalidad de ramas, aunque con menor intensidad. Asimismo, bajo condiciones controladas de fumigación artificial, el ozono atmosférico redujo estadísticamente, tanto la capacidad germinativa de los granos de polen, como el alargamiento o elongación del tubo polínico de *P. hartwegii*.

Palabras clave: daño foliar, fumigación artificial, granos de polen, monitoreo de ozono, *Pinus hartwegii*.

OZONE MONITORING AND DAMAGE ON *Pinus hartwegii* Lindl. FOLIAGE AND POLLEN

Tomás Hernández Tejeda, Dr.
Colegio de Postgraduados, 2014

ABSTRACT

There are several factors that could damage the Valley of Mexico forest ecosystems and particularly the normal fecundation and seed formation process of the *Pinus hartwegii* Lindl. forests, between them there is the photochemical oxidant air pollution, especially ozone. The general objective was to assess the atmospheric ozone concentrations inside of three Valley of Mexico forests, as well as its damage on *P. hartwegii* foliage and pollen. In the El Ajusco, D. F.; Desierto de los Leones, D. F., and Zoquiapan, State of Mexico, nine permanent plots of 1,000 m² each one were established, to monitor atmospheric ozone, to carry out the foliar damage qualitative assessment, and to collect the pollen grains. The ozone monitoring was performed with the "Can Oxy Plates™" passive samplers; the foliar damage assessment was done with the Dr. Miller's qualitative assessment scale; and the artificial ozone fumigation was made in the Canadian Forest Service laboratory at Fredericton, New Brunswick. The results point out that the passive samplers show a very high confidence of the ozone concentrations, in comparison with the electronic ozone monitor, installed in the Desierto de los Leones station. In El Ajusco and Desierto de los Leones, the atmospheric ozone concentrations reached every day, induced a highest *P. hartwegii* foliar damage, in contrast to the control place located at Zoquiapan; however, in such forest area the chlorotic mottling and/or banding of the older needles, premature defoliation, and branch mortality were observed, but with a less intensity. Besides, under controlled fumigation conditions, the ozone statistically reduced the pollen grains germination capability, as well as the tube length of *P. hartwegii*.

Key words: foliar damage, artificial fumigation, pollen grains, ozone monitoring, *Pinus hartwegii*.

INTRODUCCIÓN GENERAL, OBJETIVOS E HIPÓTESIS

La supervivencia del recurso forestal está influida por diversos factores de carácter biótico y abiótico. Entre los factores abióticos de mayor importancia en zonas forestales cercanas a las áreas urbanas se encuentra la contaminación ambiental, misma que no ha recibido la atención merecida en nuestro país.

En la Cuenca del Valle de México se registran a diario altas concentraciones de ozono, especialmente hacia el sur y suroeste de la zona metropolitana de la Ciudad de México, donde se localizan de manera natural bosques de *Pinus hartwegii* Lindl., especie que tiene la particularidad de crecer de manera natural, en las partes más altas de las montañas del centro y sur de la República Mexicana, tales como las ubicadas al sur y suroeste de la zona metropolitana de la Ciudad de México.

Los bosques de la Cuenca tienen la función de servir como áreas de recreación y esparcimiento para los habitantes de la Ciudad de México. Además, contribuyen a la retención de partículas fitotóxicas y diluyen las altas concentraciones de contaminantes atmosféricos, especialmente de ozono, que son aerotransportados por los vientos que cruzan sobre la Ciudad.

El *P. hartwegii* no es una especie forestal de alto valor económico y se ubica en localidades poco accesibles; sin embargo, desde el punto de vista ecológico dicha especie juega un papel muy importante, ya que proporciona diversos servicios ambientales, tales como: captación de agua, captura de carbono, hábitat natural de fauna silvestre, formación y retención del suelo, entre otros.

En nuestro país no se tienen registros de monitoreo de ozono ni de ningún otro contaminante atmosférico, en las áreas remotas donde se encuentran creciendo de manera natural las especies forestales, arbustivas y herbáceas. Tampoco se ha estudiado el impacto del ozono sobre las especies forestales nativas e introducidas al Valle de México; además, no se sabe en qué medida el polen de dichas especies

se ve afectado por las altas concentraciones de ozono que a diario se alcanzan, y además son muy pocos los estudios sobre la evaluación del daño por ozono en algunas especies forestales.

El objetivo general del presente trabajo es determinar las concentraciones de ozono atmosférico dentro de tres áreas forestales de la Cuenca Atmosférica del Valle de México, así como el impacto del ozono atmosférico sobre el follaje y el polen de *P. hartwegii*. De manera particular se pretende determinar el patrón de concentración altitudinal y temporal del ozono; cuantificar el daño foliar por ozono en los árboles adultos ubicados dentro del área de estudio, que incluye los nueve sitios de muestreo permanente de *P. hartwegii*; y exponer artificialmente los granos de polen de dicha especie, bajo condiciones de laboratorio y colectados en los sitios de muestreo permanente del área de estudio, a concentraciones conocidas de ozono.

La hipótesis general que se plantea es que las concentraciones de ozono atmosférico que se alcanzan a diario en el Valle de México, son uno de los factores que dañan el follaje e inhiben los procesos reproductivos de *P. hartwegii* y consecuentemente su regeneración natural.

El área de estudio se ubicó dentro del Valle de México, en tres diferentes localidades forestales, donde se encuentra *P. hartwegii* creciendo de manera natural y cuyas coordenadas van desde 19°13'12"N hasta 19°19'24"N y desde 98°43'08"W hasta 99°16'32"W (Cuadro I.1).

Los sitios de muestreo permanente, tanto para la evaluación cualitativa del daño por ozono en árboles adultos como para la colecta del polen, se establecieron en tres localidades conocidas como: Ajusco, Distrito Federal; Parque Recreativo y Cultural Desierto de los Leones, Distrito Federal y Zoquiapan, Estado de México; ésta última sirvió como área testigo y está ubicada dentro de una estación académico-experimental forestal, propiedad de la Universidad Autónoma Chapingo.

Dentro de cada localidad se establecieron tres sitios de muestreo permanente de 1,000 m² cada uno, a diferentes altitudes sobre el nivel del mar y con exposición

hacia la Ciudad de México, denominadas estratos alto, medio y bajo, los cuales coinciden exactamente con la parte alta, media y baja, donde se encuentran los rodales naturales de *P. hartwegii*.

El total de sitios de muestreo permanente fue de nueve, en los que se instalaron los monitores pasivos de ozono, donde se realizó la evaluación cualitativa del daño foliar por ozono y en los que se colectó el polen.

CAPITULO I

VARIACIÓN ESPACIAL Y ESTACIONAL DE LA CONCENTRACIÓN DE OZONO ATMOSFÉRICO EN TRES ÁREAS FORESTALES

INTRODUCCIÓN

Actualmente la Zona Metropolitana del Valle de México (ZMVM), conocida también como Cuenca Atmosférica de la Ciudad de México (CACM) o simplemente como Valle de México, presenta severas alteraciones hidrológicas y ecológicas; tres cuartas partes de sus bosques de coníferas y encinos han desaparecido y se han desecado casi todos sus lagos originales, mientras que dos tercios de sus tierras no urbanizadas presentan un alto grado de erosión. Además, se ha señalado que las áreas forestales que rodean a la Ciudad de México están perturbadas y son susceptibles al daño por los insectos, enfermedades e impacto de la contaminación atmosférica (Quadri y Sánchez, 1994; Rodríguez, 2002).

En la atmósfera del Valle de México se tiene una amplia variedad de sustancias fitotóxicas que afectan la calidad del aire, entre las cuales se encuentran las siguientes: 1) Ozono y otros oxidantes fotoquímicos, 2) plomo, 3) monóxido de carbono, 4) óxidos de azufre, 5) óxidos de nitrógeno, 6) hidrocarburos y 7) partículas suspendidas totales. El ozono antropogénico es generado por una reacción fotoquímica, de carácter reversible, en donde la luz ultravioleta del sol interviene directamente sobre los precursores, tales como el dióxido de nitrógeno y el oxígeno atmosférico, que dan lugar a la formación del ozono, liberándose además de energía, compuestos tales como el monóxido de nitrógeno.

La dificultad de contar con energía eléctrica, dentro de las áreas forestales, para poner a funcionar continuamente un monitor electrónico ha obligado a fabricar monitores pasivos de ozono; entre los más comunes se tiene a los de tipo Ogawa (Manning y colaboradores, 1996), Holandés (Scheeren y Adema, 1996) y Can Oxy Plates™ (Cox y Malcolm, 1999).

En la actualidad los monitores pasivos han sido utilizados para determinar la calidad del aire en centros de trabajo, hogares y en el ambiente exterior. Durante las dos últimas décadas ha habido un gran interés en el uso de dichos artefactos para medir concentraciones de ozono ambiental en los estudios sobre evaluación de efectos ecológicos por periodos de una, dos o hasta cuatro semanas, de las concentraciones de ozono atmosférico (Krupa y Legge, 2000; Krupa y colaboradores, 2001). A pesar de que esos monitores presentan algunas desventajas, su uso ha sido atractivo debido a que son muy baratos, fáciles de instalar y no requieren de corriente eléctrica para operar.

Manning y colaboradores (1996) compararon los resultados de los monitores pasivos tipo Ogawa con datos de un monitor electrónico de ozono. En general los dos grupos de datos fueron similares, de acuerdo con el análisis de correlación entre ambos ($r=0.76$). Los autores concluyeron, después de un análisis estadístico adicional, que las pequeñas diferencias entre el monitoreo pasivo y el electrónico se debieron aparentemente sólo al error experimental.

Cox y Malcolm (1999) han empleado los monitores pasivos de ozono denominados "Can Oxy Plate™" desde 1996 para evaluar la sanidad de los bosques de Canadá, con el apoyo del Servicio Forestal Canadiense, especialmente del grupo de trabajo que integra la Red de Sanidad Forestal. Sus resultados indican correlaciones altamente significativas entre los datos de los monitores pasivos y los activos ($r = 0.88$).

El uso de los muestreadores pasivos, como aquel utilizado en los sitios de monitoreo permanente de la salud de los bosque en Canadá, indica que los monitores pasivos son capaces de determinar diferencias espaciales y temporales en las exposiciones a O_3 de los sitios de estudio (Cox y colaboradores, 2001).

El primer estudio en México sobre monitoreo electrónico de ozono dentro de una área forestal se inició en 1990, en el parque recreativo y cultural Desierto de los Leones, Distrito Federal, con el apoyo técnico del Servicio Forestal de los Estados Unidos. Los primeros datos de dicho monitoreo se publicaron en 1994 (Miller *et al.*); además, se realizaron varios reportes de las concentraciones de ozono y los

principales parámetros meteorológicos que se registraron en el parque desde el 23 de abril de 1990, mismos que se presentaron en la Reuniones de Trabajo de la Comisión Forestal de América del Norte (North American Forestry Commission), FAO.

Miller y colaboradores (1994) concluyeron que la razón de comparar las concentraciones estacionales de ozono entre el área de Los Ángeles California, USA y de la Ciudad de México fue la de ayudar a entender las condiciones en las que la vegetación forestal está expuesta en ambas regiones; además de dilucidar la manera en que las diferencias climáticas y la posición geográfica pueden influir en la formación del ozono. Los autores observaron que las concentraciones de ozono en la Ciudad de México durante el verano son menores que en Los Ángeles, debido a la temporada de lluvias y nubosidad; sin embargo, señalaron que en invierno ocurre lo contrario.

Diversos autores han publicado, desde hace más de tres décadas, sus resultados sobre el grado de daño en la vegetación, inducido por el ozono y otros oxidantes fotoquímicos en el Valle de México (Hernández-Tejeda, 1981; Hernández-Tejeda, 1984; Bauer y colaboradores, 1985; Bauer y Hernández-Tejeda, 1986; Hernández-Tejeda y Bauer, 1986; Bauer y Krupa, 1990; Miller y colaboradores, 2002).

En un transecto altitudinal entre la ciudad de México y Cuernavaca, Mor, se evaluó el daño por ozono en la vegetación forestal de la parte más alta de las montañas, donde se establecieron 9 sitios de muestreo permanente de un décimo de hectárea cada uno. Se observó que la especie más afectada fue *Pinus hartwegii*, a pesar de que su distribución fue más restringida; sin embargo, *P. montezumae* también mostró los daños característicos en las acículas de mayor edad, aunque con menor intensidad. Además, se determinó que a mayor distancia de la fuente de emisión de los contaminantes atmosféricos, menor fue el grado de daño observado en las acículas de las dos especies de pino (Hernández-Tejeda, 1994).

La intención de conocer la variación estacional y espacial de la concentración de ozono, en las tres áreas forestales bajo estudio, es conocer las concentraciones de ozono que inducen los daños en *P. hartwegii* del Valle de México, principalmente.

Los objetivos de este capítulo son: a) Validar el uso de los monitores pasivos “Can Oxy Plates™” bajo las condiciones ambientales del Valle de México y b) Determinar la variación espacial y estacional de las concentraciones de ozono mediante el uso de los monitores pasivos de ozono, en las tres localidades forestales del Valle de México.

La hipótesis sugerida es que las concentraciones de ozono varían en todas las elevaciones de las tres localidades bajo estudio.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización del área de estudio

El área de estudio se localiza dentro Valle de México, en donde se seleccionaron tres localidades forestales: Ajusco y Desierto de los Leones, en el Distrito Federal, y Zoquiapan en el Estado de México. Las dos primeras se encuentran al sur, mientras que la última, considerada como área testigo, se ubica al este de la Ciudad de México.

La superficie total del Valle de México es de 9,560 km² y dentro del él se ubica uno de los mayores complejos urbanos del mundo conocido como la Zona Metropolitana del Valle de México (ZMVM), a una altitud promedio de 2,240 msnm y con una extensión de 3,540 km²; se localiza sobre la porción sur y suroeste de una cuenca lacustre de fondo plano, limitada por grandes cadenas montañosas de origen volcánico. Consta de 16 Delegaciones Políticas y 18 Municipios conurbados del Estado de México, que representa el 37% del Valle y está integrada por una parte del Estado de México, el sur de Hidalgo, el sureste de Tlaxcala y casi la totalidad del Distrito Federal (CAM, 2003).

Medición del ozono atmosférico con monitores pasivos

La distribución en campo de los monitores pasivos de ozono ("Can Oxy Plates™") respondió a la necesidad de evaluar la parte más baja, la intermedia y la más alta donde crece de manera natural *Pinus hartwegii* en cada localidad del área de estudio (Cuadro I. 1).

Las mediciones de ozono se llevaron a cabo en tres sitios, a diferentes elevaciones sobre el nivel del mar, en cada una de tres localidades forestales seleccionadas, durante el periodo del 1 de julio de 1997 al 14 de diciembre de 1998.

El número total de sitios en que se expusieron los monitores pasivos fue de 10, incluyendo un sitio complementario, donde se colocaron ambos tipos de monitores (electrónico y pasivo). Cada 14 días se instalaron 20 monitores pasivos; es

decir, dos por sitio y se removieron al mismo tiempo igual número de ellos. El número total de los monitores pasivos expuestos, durante los 18 meses continuos de monitoreo, fue de 666 con la finalidad de conocer la concentración y distribución del ozono atmosférico en tres localidades forestales del Valle de México.

Cuadro I.1. Localización de los 10 sitios de monitoreo permanente donde se instalaron los monitores pasivos de ozono y el monitor electrónico.

| Localidad | Coordenadas | Elevación (msnm) | |
|-------------------------------|------------------------------|-------------------------|----------------|
| Zoquiapan, Méx. | 19°19'24"N 98°43'08"W | Alta | (3,320) |
| | 19°18'28"N 98°42'32"W | Media | (3,240) |
| | 19°17'24"N 98°42'28"W | Baja | (3,125) |
| Ajusco, D. F. | 19°13'44"N 99°14'52"W | Alta | (3,400) |
| | 19°13'36"N 99°15'24"W | Media | (3,225) |
| | 19°13'12"N 99°16'32"W | Baja | (3,095) |
| | 19°16'44"N 99°19'36"W | Alta | (3,540) |
| Desierto de los Leones, D. F. | 19°16'20"N 99°19'34"W | Media | (3,370) |
| | 19°15'44"N 99°19'32"W | Baja | (3,245) |
| | 19°19'16"N 99°18'20"W | Monitor activo | (2,940) |

Las estructuras que protegen los dos monitores se colgaron con un cordón, entre las ramas de árboles adultos, a una altura de 2 m sobre el nivel del suelo, para evitar ser vistos por las personas, pero permitiendo el libre paso del aire ambiente.

Para evitar sesgos por oxidación natural (no atribuible al ozono) del reactivo usado en los monitores durante el periodo de medición de ozono, se expusieron monitores pasivos testigo, completamente sellados; de esta manera los valores obtenidos en los monitores expuestos en campo se ajustaron con base en los valores registrados en los monitores sellados.

Todos los monitores colectados en campo se transportaron y almacenaron en bolsas de plástico cerradas herméticamente, que contenían carbón activado en una pequeña bolsita de malla. El análisis de todos los monitores pasivos, tanto testigos como expuestos, se llevó a cabo en el laboratorio del Dr. Roger M. Cox, en Fredericton, New Brunswick, Canadá.

Los monitores pasivos "Can Oxy Plates™" (Fig. I.1) contienen un reactivo llamado índigo. El "isatin", producto de la ozonólisis del índigo, es fácilmente extraíble para el análisis por espectrofotometría. El índigo se colocó en papel Gel

Blot, que se cortó en cuadros de 34 mm y se sumergió durante 2 minutos en una suspensión de agua con 3 g l^{-1} del reactivo, en un baño ultrasónico a temperatura de 30° C . Los papeles se secaron en una estufa a 60° C , descartándose aquellos que no se impregnaron uniformemente (Cox y Malcolm, 1999).



Figura I.1. Componentes de los monitores pasivos “Can Oxy Plates™” para medir ozono atmosférico.

Para determinar las concentraciones del ozono atmosférico registradas por los monitores pasivos, se procedió de la manera siguiente: Los papeles con el reactivo se removieron de los monitores y se les extrajo el “isatin” con etanol a 60° C en matraces Erlenmeyer de 500 ml. Las eluciones se decantaron en filtros de fibra de vidrio tipo A/E, para remover material suspendido antes de aforar el volumen estándar. La absorbancia se determinó a 408 nm , misma que se convirtió a cantidades molares de “isatin”, usando una curva estándar de calibración.

Validación de los monitores pasivos de ozono “Can Oxy Plates™”

Se compararon las mediciones de ozono atmosférico obtenidas con los monitores pasivos “Can Oxy Plates™” contra las de un monitor electrónico o activo (U. V Photometric Ozone Analyzer, Model 1003-RS; Dasibi Environmental Corporation. Glendale, CA, US). Ambos tipos de monitores se colocaron en el Ex-Convento del Desierto de los Leones, Distrito Federal, con el objeto de validar el uso de los monitores pasivos en el Valle de México. La estructura con el monitor pasivo se colgó de un mástil sobre la azotea, exactamente donde se encontraba la toma de la muestra para el monitor electrónico.

Se realizó un análisis de correlación con datos de los dos tipos de monitores durante el periodo del 1 de julio de 1997 al 12 de mayo de 1998, para determinar la precisión de los monitores pasivos. Las concentraciones de ozono registradas por el monitor electrónico se tomaron de la base de datos generada desde hace varios años en el Ex-Convento del Desierto de los Leones, D. F. Los datos horarios se promediaron por periodos de 14 días, con el fin de que la información del monitor activo coincidiera exactamente con el lapso de registro de los monitores pasivos.

Análisis de la variación espacial y estacional en la concentración de ozono

Los datos de ozono registrados con monitores pasivos a lo largo de 37 fechas se analizaron con el paquete estadístico SAS (SAS Institute, 1996) mediante el procedimiento de análisis de varianza de medidas repetidas (Moser *et al.*, 1990; Gumpertz y Brownie, 1993); esto es, mediciones en diferentes fechas, en los mismos sitios considerando localidad (L) y elevación (E) dentro de localidad, con el modelo siguiente:

$$Y_{ijkl} = \mu + L_i + E_{j(i)} + \alpha_{k(ij)} + F_l + (F*L)_{li} + F^*E(L)_{li(j)} + \beta_{ijkl}$$

Donde:

Y_{ijkl} = valor observado en la l -ésima fecha en la k -ésima repetición en la j -ésima elevación de la i -ésima localidad; $\mu + L_i + E_{j(i)} + \alpha_{k(ij)}$ representan los efectos entre sujetos (localidades), con: μ = media de la concentración de ozono; L_i = efecto

de la *i*-ésima localidad; $E_{j(i)}$ = efecto de la *j*-ésima elevación dentro de la *i*-ésima localidad; $\alpha_{k(ij)}$ = error asociado a la *k*-ésima repetición en la *j*-ésima elevación dentro de la *i*-ésima localidad; $F_l + (F^*L)_{li} + F^* E(L)_{li(j)} + \beta_{ijkl}$ representan los efectos dentro de sujetos (localidades) asociados a la concentración de ozono, con: F_l = efecto de la *l*-ésima fecha de monitoreo; $(F^*L)_{li}$ = efecto de la interacción de la *l*-ésima fecha de monitoreo con la *i*-ésima localidad; $F^* E(L)_{li(j)}$ = efecto de la interacción de la *l*-ésima fecha de monitoreo con la *j*-ésima elevación dentro de la *i*-ésima localidad; β_{ijkl} es el error de muestreo asociado a cada fecha de monitoreo.

Se decidió utilizar este modelo estadístico debido a la necesidad de determinar si hubo diferencias en las concentraciones de ozono registradas entre y dentro de las tres localidades bajo estudio. El modelo contempla las fechas de monitoreo y las elevaciones donde se llevó a cabo el monitoreo pasivo de ozono.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Validación de los monitores pasivos de ozono “Can Oxy Plates™”

La concentración de ozono registrada con los monitores pasivos tuvo una correlación positiva elevada ($r = 0.80$; $p < 0.001$) con los datos registrados por el monitor electrónico (Fig. 1.2). Este valor de correlación es muy similar al que se ha encontrado en otros estudios comparativos entre monitores pasivos y activos (electrónicos) de ozono, donde el valor de “r” ha fluctuado entre 0.76 y 0.88 (Manning y colaboradores, 1996; Cox y Malcolm, 1999).

El alto grado de correlación obtenido indica que los datos registrados por los monitores pasivos son confiables, tanto como aquellos generados por un monitor electrónico; además, la alta precisión comprobada y respaldada por innumerables estudios con diversos monitores de este tipo, hace confiable, redituable, y conveniente, su utilización en el monitoreo de ozono para las áreas forestales del Valle de México. Cabe hacer mención que esta fue la primera vez que se utilizó este tipo de monitores pasivos en elevaciones mayores a 3,000 msnm.

En otros estudios donde se han utilizado los monitores pasivos para registrar las concentraciones de ozono se ha recomendado su empleo por ser muy económicos, fáciles de instalar y sobre todo muy confiables en sus determinaciones (Manning y colaboradores, 1996; Scheeren y Adema, 1996; Cox y Malcolm, 1999; Krupa y Legge, 2000; Cox y colaboradores, 2001; Krupa y colaboradores, 2001; Cox 2003).

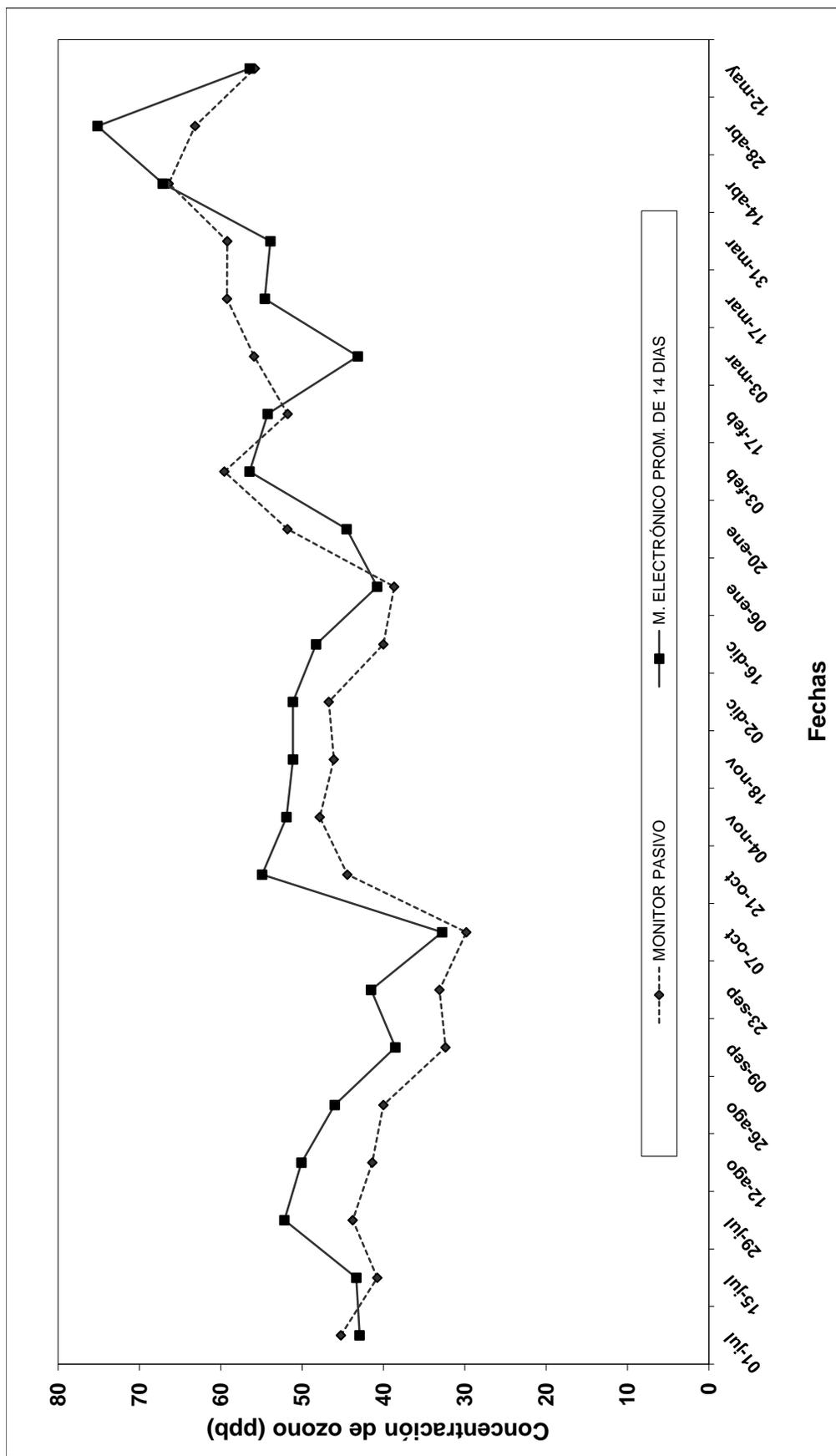


Fig. I.2. Correlación entre el monitor electrónico y el pasivo con datos de ozono del 1 de julio de 1997 al 12 mayo de 1998. Ambos tipos de monitores (electrónico y pasivo) se instalaron en el Desierto de los Leones, D. F.

Diferencias en la concentración de ozono entre y dentro de localidades

El análisis de varianza de medidas repetidas mostró la existencia de diferencias estadísticas altamente significativas ($p \leq 0.01$), entre localidades y entre elevaciones dentro de una misma localidad en la concentración de ozono atmosférico promedio durante el periodo de medición (Cuadro I.2). Los valores promedio mayores se registraron en el Ajusco, y en el Desierto de los Leones D. F., con 49 y 48 ppb, respectivamente. El valor menor se observó en Zoquiapan, con 37 ppb.

Cuadro I.2. Análisis de varianza de las mediciones de la concentración de ozono en las localidades del Valle de México, a diferentes elevaciones.

| Fuente de variación | gl | Cuadrados medios | Valor de F | Pr > F |
|---|-----|------------------|------------|---------|
| a) Análisis entre sujetos (localidades) | | | | |
| Localidad (Loc) | 2 | 9398.49356 ** | 357.28 | 0.0017 |
| Elevación (Ele)/(Loc) | 6 | 423.23314 ** | 16.09 | 0.0002 |
| Error | 9 | 26.30571 | | |
| b) Análisis dentro de sujetos (localidades) | | | | |
| Fecha | 36 | 2352.31137 ** | 87.19 | <0.0001 |
| Fecha*Loc | 72 | 159.53002 ** | 5.91 | <0.0001 |
| Fecha*Ele/(Loc) | 216 | 58.93584 ** | 2.18 | <0.0001 |
| Error (Fecha) | 324 | 26.97910 | | |

Dentro de cada localidad se observaron diferentes concentraciones promedio de ozono, de acuerdo con la elevación sobre el nivel del mar. Por ejemplo, en el Ajusco, el promedio registrado fue del orden de 47 ppb en las elevaciones baja y alta, en cambio en la elevación media la concentración fue de 53 ppb. En el Desierto de los Leones a medida que se incrementó la elevación sobre el nivel del mar, se incrementó ligeramente la concentración de ozono, cuyos valores fueron 47, 49 y 49 ppb. En contraste, en Zoquiapan las concentraciones en las elevaciones baja, media y alta fueron 38, 38 y 35 ppb, respectivamente.

La concentración promedio de ozono no mostró un patrón uniforme entre ni dentro de localidades; mientras que en algunas disminuyó con la elevación, en otras ocurrió todo lo contrario. La única explicación a lo anterior es que la ubicación topográfica de los sitios permanentes de monitoreo de ozono, que se localizan a distancias variables de la fuente de origen del contaminante atmosférico y el patrón

de vientos dominantes, que cruzan sobre la Ciudad de México, del nor-noreste con rumbo hacia al sur-suroeste (Jáuregui y colaboradores 1981), a velocidades de 0.5 a 1.5 m seg⁻¹, por las tardes de la mayor parte del año (Jáuregui, 2002), definieron la concentración registrada entre y dentro de cada localidad.

Los sitios de monitoreo permanente no se ubicaron a la misma altura sobre el nivel del mar, debido a la distribución natural de la especie en estudio en cada localidad. *P. hartwegii* tiene un rango variable de adaptación a las alturas, ya que puede crecer desde los 3,000 hasta 3,800 msnm en la región del Popocatepetl y el Iztaccíhuatl (Martínez, 1948). La elevación baja de Zoquiapan no coincide con aquella del Ajusco, ni mucho menos con la del Desierto de los Leones. Lo mismo sucede en las elevaciones media y alta de todas las localidades. Los sitios de muestreo permanente se localizan en el rango que va desde los 3,095 en el Ajusco hasta los 3,540 msnm en el Desierto de los Leones (Cuadro I.1).

Variación estacional de la concentración de ozono en el área de estudio

El análisis de varianza mostró que existen diferencias estadísticas altamente significativas ($p < 0.01$) en la concentración de ozono a lo largo del periodo de monitoreo (Cuadro I.2). La Figura I.3 muestra que la concentración de ozono varía en forma cíclica a lo largo del año; durante el periodo de septiembre a octubre, de ambas fechas de monitoreo, se presentaron las menores concentraciones, con valores mínimos de 19 ppb y en el periodo de abril a mayo de 1998 se presentaron los picos de mayor concentración, con valores máximos de hasta 74 ppb; posiblemente este ciclo de variación se repitió en mayo de 1997, pero que no fue determinado debido al retraso en la llegada del equipo de monitoreo pasivo. Cabe hacer mención que la idea original fue monitorear el área de estudio durante dos años consecutivos.

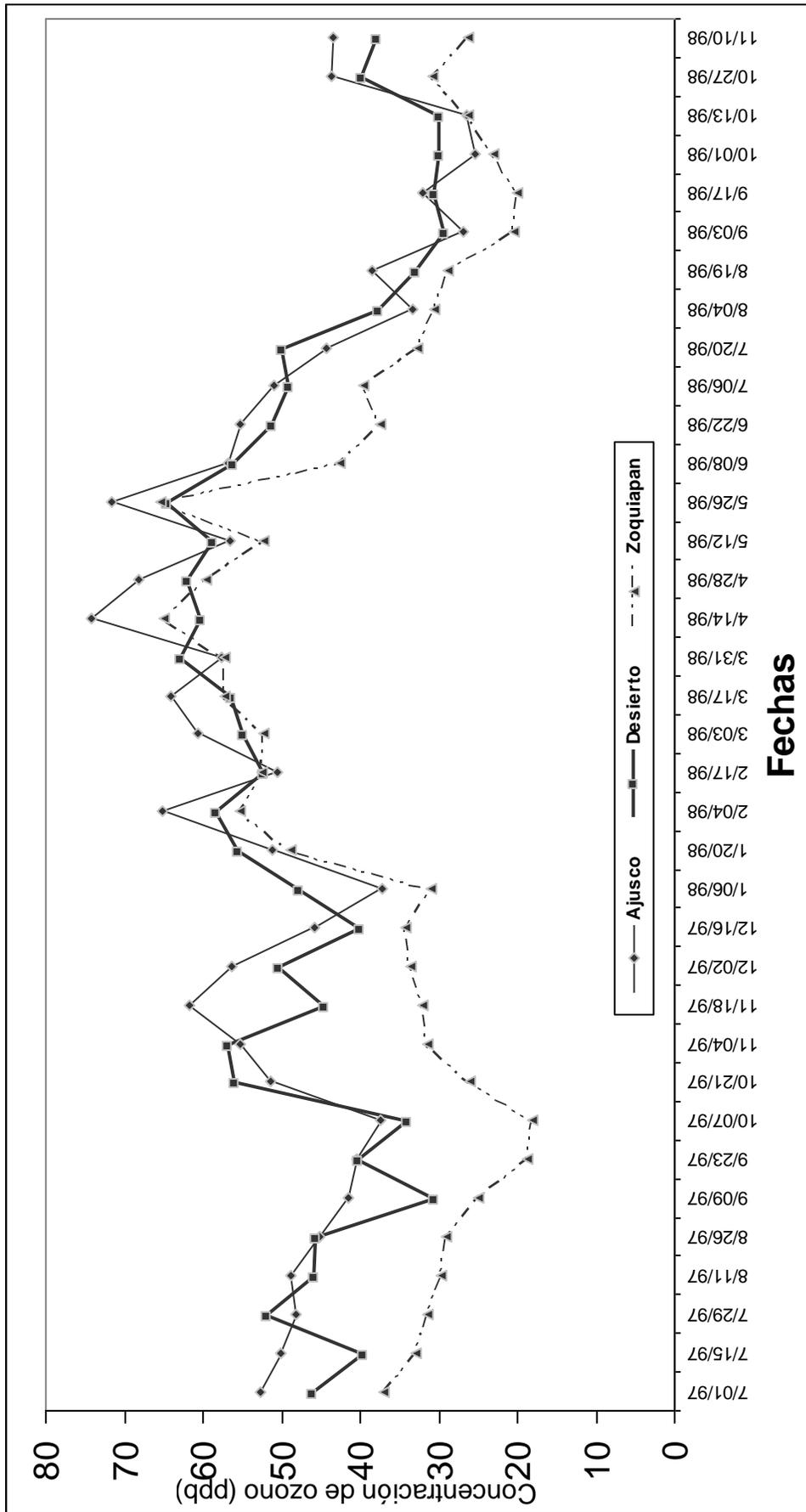


Figura I.3. Concentración de ozono para cada fecha de monitoreo pasivo en cada una de las tres localidades forestales en estudio.

Asimismo, la tendencia estacional de distribución de las concentraciones de ozono en el área de estudio no muestra un patrón uniforme entre las localidades, al existir una interacción significativa ($p < 0.01$) entre estos dos factores (Cuadro I.2). Este efecto de interacción se demuestra al comparar los valores en cada localidad correspondientes a las mismas fechas de medición (Fig. I.3). Por ejemplo, las concentraciones de ozono siempre fueron menores en Zoquiapan, en comparación con el Ajusco y el Desierto de los Leones, pero la diferencia entre ellas no fue uniforme a lo largo del año. Sin embargo, en las dos últimas localidades las concentraciones fueron muy similares entre ellas.

Los picos de la concentración estacional de ozono fueron más pronunciados en el Ajusco que en las otras dos localidades (Fig. I.3), posiblemente debido a que fue mayor la intensidad del viento que cruzó por el Ajusco en octubre de 1998, que en octubre de 1997. Además, la topografía también juega un papel muy importante en la distribución de las concentraciones de ozono.

Dentro del Valle de México, las capas de inversión que se forman en épocas de invierno, evitan la dispersión natural de la contaminación atmosférica. En dicha época las turbulencias originadas por las altas y bajas presiones atmosféricas hacen que los contaminantes atmosféricos se distribuyan hacia diferentes direcciones, de modo que el área testigo tampoco escapa de las altas concentraciones de ozono que llegan hasta ella.

Efecto de la época del año sobre el gradiente altitudinal de ozono

El análisis de varianza también muestra que existe una interacción significativa ($p < 0.01$) de la fecha de medición con la elevación del sitio, lo cual genera diferencias estacionales en el patrón altitudinal de concentración de ozono en las tres localidades de estudio (Cuadro I.2). Por ejemplo, en el Ajusco la concentración de ozono registrada en julio y octubre de 1997 y 1998 fue mayor en la elevación media, en contraste con las otras dos elevaciones; además, los datos registrados en 1998 fueron superiores a las de 1997 en dichos meses de monitoreo. Asimismo, en enero de 1998 las tres elevaciones registraron una concentración muy parecida, pero

mayor a la de abril, que se incrementó ligeramente a medida que aumentó la elevación (Fig. I.4). Las condiciones orográficas del lugar influyeron en gran medida para definir el patrón local de dispersión del ozono; es decir, en el Ajusco se tienen planicies y barrancas pronunciadas, de modo que la topografía al ser muy heterogénea reduce en gran medida la dispersión del ozono atmosférico.

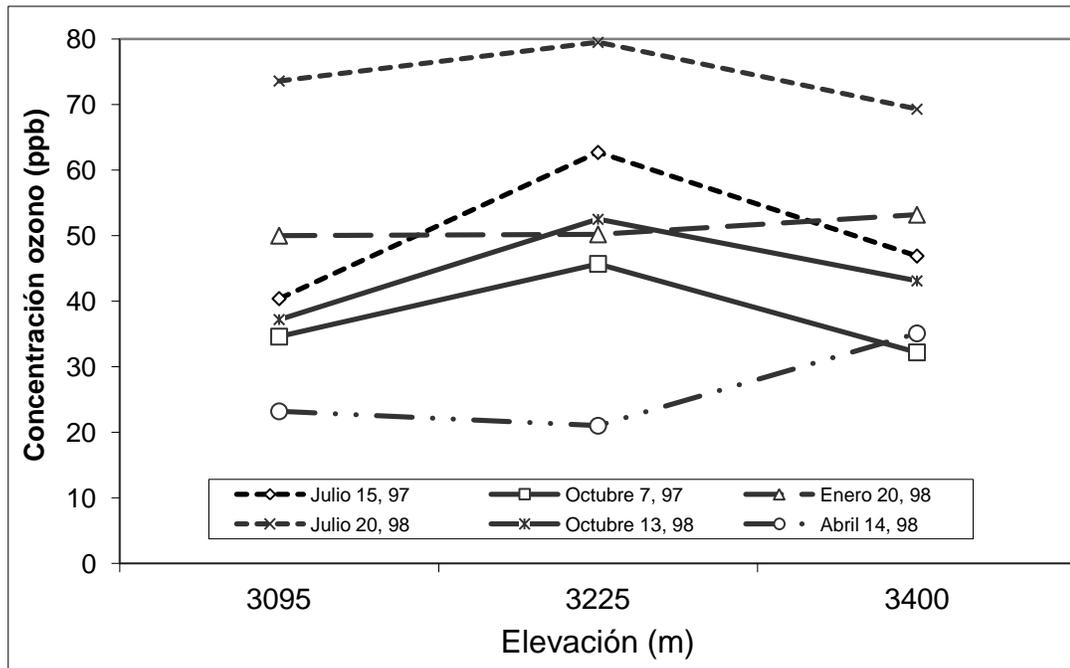


Figura I.4. Fechas de monitoreo de ozono en tres diferentes elevaciones del Ajusco, Distrito Federal.

En el Desierto de los Leones la concentración de ozono varió ligeramente en cada una de las tres elevaciones, a excepción de la elevación media en julio de 1997. Al igual que en el Ajusco, en 1998 se registraron mayores concentraciones de ozono que en 1997. Además, tanto en el invierno como en la primavera, los datos registrados mostraron la misma tendencia, aunque fueron mayores en el invierno (Fig. I.5). De acuerdo con lo anterior es posible que los vientos dominantes y la topografía homogénea de dicha localidad favorezcan la dispersión del ozono atmosférico.

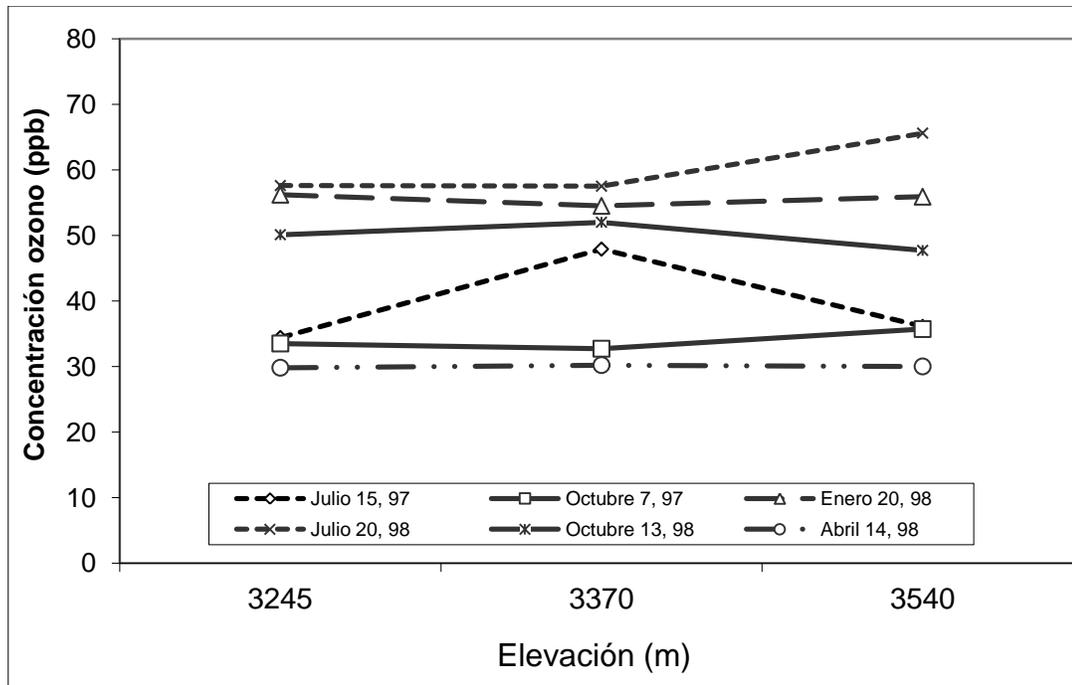


Figura I.5. Fechas de monitoreo de ozono en tres diferentes elevaciones del Desierto de los Leones, Distrito Federal.

En Zoquiapan, de acuerdo con la elevación, las concentraciones de ozono variaron ligeramente en las diferentes fechas de medición. En el verano y otoño de 1998 se registraron mayores concentraciones de ozono que en aquellos de 1997. En el invierno de 1998 los datos registrados fueron superiores a los de primavera del mismo año (Fig. I.6). Es importante señalar que dicha localidad se encuentra ubicada al este de la Ciudad de México y que por lo tanto no está expuesta directamente a la contaminación atmosférica; sin embargo, en el invierno y primavera se llegan a registrar datos de ozono tan altos como los observados en el Desierto de los Leones, D. F., debido a las turbulencias, especialmente en primavera.

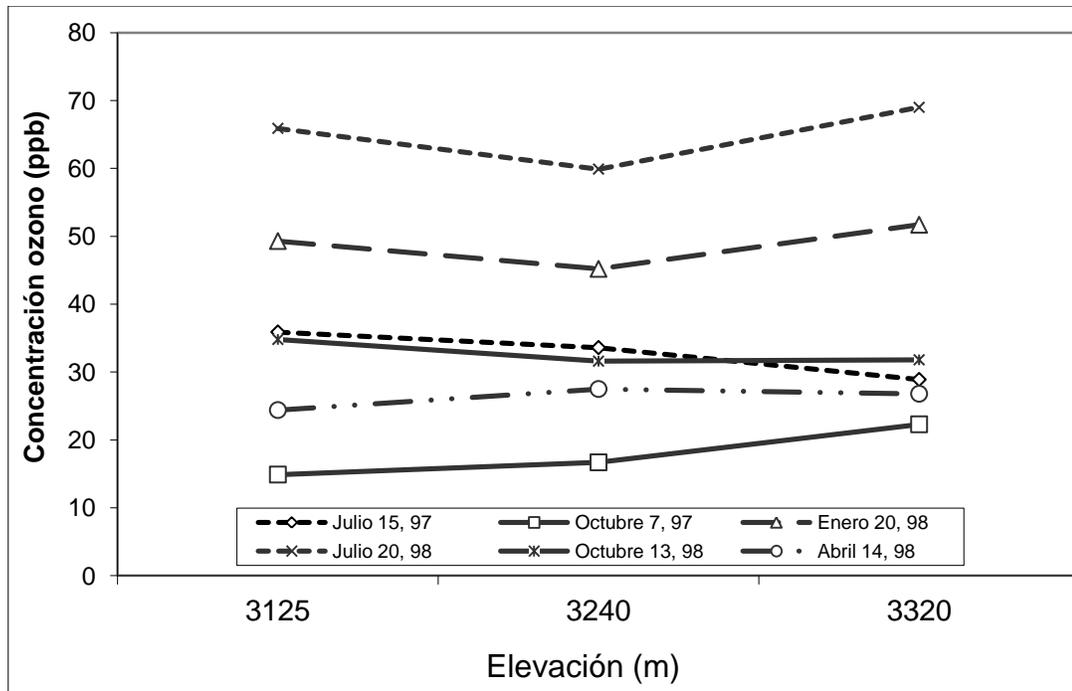


Figura 1.6. Fechas de monitoreo de ozono en tres diferentes elevaciones de Zoquiapan, Estado de México.

El análisis de las tendencias de las concentraciones de ozono por periodos individuales de monitoreo y en lugares determinados, señala que no existe un patrón o tendencia definida del comportamiento del ozono entre y dentro las tres localidades forestales del Valle de México. Es decir, el estudio no confirma que haya un gradiente altitudinal en la concentración de ozono, lo cual podría deberse a las variaciones ambientales críticas que ocurren a mayores elevaciones dentro del Valle y a los factores orográficos del área de estudio.

Es importante señalar que en la parte más alta de las montañas, los suelos son más pobres, las temperaturas muy extremas y la disponibilidad de agua en el suelo es escasa, situación que también influye directamente la expresión de los síntomas inducidos por el ozono atmosférico sobre la vegetación.

El resultado observado en un sitio de muestreo permanente con *P. hartwegii* de un transecto altitudinal al sur del Valle de México, indicó que el mayor grado de daño en el follaje se registró en el sitio de mayor elevación (Hernández-Tejeda, 1984). Sin embargo, la elevación de aquel sitio coincidió con la más baja de una de

las tres localidades en estudio; por lo tanto, no es posible afirmar ni generalizar que a mayor altitud, mayor daño en *P. hartwegii*. En el citado trabajo no se tuvieron otros puntos de referencia con elevaciones similares o mayores a las observadas en el estudio actual.

El monitoreo pasivo de ozono, a diversas alturas sobre el nivel del mar y en diversas localidades forestales dentro de una misma cuenca no se había llevado a cabo en nuestro país, por lo que no es posible comparar o discutir los resultados obtenidos con los de otras publicaciones científicas. Sin embargo, en un estudio realizado en Canadá se menciona que el uso de los muestreadores pasivos en un monitoreo extensivo, como aquel utilizado en los sitios de medición permanente de la salud de los bosques, permitió la categorización de los sitios de monitoreo y el análisis potencial de causa-efecto de ciertas respuestas en la salud de dichos bosques. La variación espacial y el efecto aparente de la elevación sobre la exposición a ozono, demuestra la importancia de la topografía y las características de la cubierta forestal (Cox y colaboradores, 2001).

Los daños que ha experimentado la vegetación durante más de tres décadas, principalmente *P. hartwegii* del Valle de México, son inducidos por las constantes concentraciones de ozono atmosférico generado antropogénicamente (Hernández-Tejeda y colaboradores, 1982; Hernández-Tejeda y Bauer, 1984; Bauer y colaboradores, 1985; Hernández-Tejeda y Bauer, 1986; Bauer y Krupa, 1990; Miller y colaboradores, 2002). En esta ocasión se tuvo la oportunidad de monitorear las concentraciones de ozono, durante 18 meses consecutivos, a diversas elevaciones sobre el nivel del mar, donde se encuentra distribuida de manera natural la especie forestal antes citada. Los datos registrados del monitoreo pasivo durante esta campaña, realizada en las tres áreas forestales del Valle de México, permiten confirmar los resultados obtenidos durante la evaluación cualitativa del daño por el ozono atmosférico en el follaje de *P. hartwegii* en el área de estudio (Capítulo II).

CONCLUSIONES

Los monitores pasivos “Can Oxy Plates™” son confiables y recomendables para monitorear ozono en las áreas forestales del Valle de México, al presentar una correlación positiva de 0.80 contra los valores registrados con un monitor electrónico (activo).

El análisis de los datos del monitoreo pasivo indica que las concentraciones de ozono atmosférico no mostraron un patrón uniforme entre, ni dentro de las tres localidades, durante el periodo de medición de 18 meses. En algunas localidades disminuyó la concentración de ozono a mayor elevación sobre el nivel del mar, mientras que en otras ocurrió todo lo contrario.

Existe una variación estacional en las concentraciones de ozono registradas, de modo que en otoño se observaron los mayores valores de ozono atmosférico y en primavera los menores.

LITERATURA CITADA

- Bauer, L. I. de; T. Hernández-Tejeda. 1986. Contaminación: Una amenaza para la vegetación en México. Colegio de Postgraduados. Chapingo, México. 84 p.
- Bauer, L. I.; T. Hernández-Tejeda; W. J. Manning. 1985. Ozone causes needle injury and tree decline in *Pinus hartwegii* at high altitudes in the mountains around Mexico City. *Journal of Air Pollution Control Association* 35(8):838.
- Bauer, L. I. de; S. V. Krupa. 1990. The Valley of Mexico: Summary of observational studies on its air quality and effects on vegetation. *Environmental Pollution* 65:109-118.
- CAM (Comisión Ambiental Metropolitana), 2003. Programa para mejorar la calidad del aire de la Zona Metropolitana del Valle de México. Talleres Gráficos del Distrito Federal. México, D. F. 386p.
- Cox, R. M. 2003. The use of passive sampling to monitor forest exposure to O₃, NO₂ and SO₂: A review and some case studies. *Environmental Pollution* 126:301-311.
- Cox, R. M.; J. W. Malcolm. 1999. Passive ozone monitoring for forest health assessment. *Water, Air, and Soil Pollution* 116:339-344. Netherlands.
- Cox, R. M.; J. W. Malcolm; R. N. Hedges; T. P. W. Williams. 2001. Sampling ozone exposure of Canadian forests at different scales: Some case studies. In: *Proceedings of the International Symposium on Passive Sampling of Gaseous Air Pollutants in Ecological Effects Research*. The Scientific World 1:1-13.
- Gumpertz, M. L.; C. Brownie. 1993. Repeated measures in randomized block and split-plot experiments. *Can. J. For. Res.* 23:625-639.
- Hernández-Tejeda, T. 1981. Reconocimiento y evaluación del daño por gases oxidantes en pinos y avena del Ajusco, D. F. Tesis profesional. Departamento de Fitotecnia, UACH. Chapingo, Méx. 90 p.

- Hernández-Tejeda, T. 1984. Efecto de los gases oxidantes en sobre algunas especies del género *Pinus* nativas del Valle de México. Tesis de Maestría en Ciencias. Centro de Fitopatología, Colegio de Postgraduados. Chapingo, Méx. 109 p.
- Hernández-Tejeda, T.; L. I. de Bauer. 1986. Photochemical oxidant damage on *Pinus hartwegii* at the Desierto de los Leones, D. F. *Phytopathology* 76(3):377.
- Hernández-Tejeda, T.; L. I. de Bauer; S. V. Krupa. 1982. Daños por gases oxidantes en pinos y avena, reconocimiento y evaluación en el Ajusco, D. F. *Revista Chapingo* 33.34:19-28. México.
- Hernández-Tejeda, T.; C. Nieto de Pascual Pola. 1996. Effects of oxidant air pollution on *Pinus maximartinezii* Rzedowski in the Mexico city region. *Environmental Pollution* 92(1):79-83.
- Jáuregui, E. 2002. The climate of the Mexico City Air Basin: Its effects on the formation and transport of pollutants. *In: Urban Air Pollution and Forests: Resources at Risk in the Mexico City Air Basin. Ecological Studies* 156. M. E. Fenn, L. I. Bauer, and T. Hernández-Tejeda (Eds). Springer-Verlag. New York, USA. pp. 86-117.
- Jáuregui, E.; D. Klaus; W. Lauer. 1981. An estimation of SO₂ transport in Mexico City. *Geofis. Int.* 20:55-79.
- Krupa, S. V.; A. H. Legge. 2000. Passive sampling of ambient, gaseous air pollutants: An assessment from an ecological perspective. *Environmental Pollution* 107:31-45.
- Krupa, S. V.; M. Nosal; D. L. Peterson. 2001. Use of passive sampling ozone (O₃) samplers in vegetation effects assessment. *Environmental Pollution* 112:303-309.
- Manning, W. J.; S. V. Krupa; C. J. Bergweiler; K. I. Nelson. 1996. Ambient ozone (O₃) in three Class I wilderness areas in the Northeastern USA: measurements with Ogawa passive samplers. *Environmental Pollution* 91(3):399-403.

- Martínez, M. 1948. Los pinos mexicanos. Editorial Botas, S. A. Segunda Edición. México, D. F. 361 p.
- Miller, P. R.; L. I. de Bauer; A. Quevedo; T. Hernández-Tejeda. 1994. Comparison of ozone exposure characteristics in forested regions near Mexico City and Los Angeles. *Atmospheric Environment* 28:141-148.
- Miller, P. R., L. I. de Bauer; T. Hernández-Tejeda. 2002. Oxidant exposure and effects on pine forests in the Mexico City and Los Angeles, California air basins. *In: Urban Air Pollution and Forests: Resources at Risk in the Mexico City Air Basin. Ecological Studies* 156. M. E. Fenn, L. I. Bauer, and T. Hernández-Tejeda (Eds). Springer-Verlag. New York, USA. pp. 335-351.
- Moser, E. B.; A. M. Saxton; S. R. Pezeshki. 1990. Repeated measures analysis of variance: application to tree research. *Can. J. For. Res.* 20:524-535.
- Quadri, G.; L. R. Sánchez. 1994. La ciudad de México y la contaminación atmosférica. Editorial Limusa. México, D. F. 316 p.
- Rodríguez, C. 2002. Forest in the basin of Mexico: Types, geographic distribution, and condition. *In: Urban Air Pollution and Forests: Resources at Risk in the Mexico City Air Basin. Ecological Studies* 156. M. E. Fenn, L. I. Bauer, and T. Hernández-Tejeda (Eds). Springer-Verlag. New York, USA. pp. 68-85.
- SAS Institute. 1996. SAS/STAT Guide for personal computers. Version 6.0. Cary, NC. USA.
- Scheeren, B. A.; E. H. Adema. 1996. Monitoring ambient ozone with a passive measurement technical method, field results and strategy. *Water, Air, and Soil Pollution* 91:335-350. Netherlands.

CAPITULO II

EVALUACIÓN CUALITATIVA DEL DAÑO FOLIAR INDUCIDO POR OZONO SOBRE *Pinus hartwegii* Lindl. EN TRES ÁREAS FORESTALES

INTRODUCCIÓN

La contaminación atmosférica generada por el creciente uso de los combustibles de origen fósil es un posible factor negativo que contribuye a los cambios observados en los bosques de Norteamérica y Europa. La contaminación influye sobre los ecosistemas forestales de diversas maneras y a diferentes niveles de organización biológica, incluyendo cambios citológicos y bioquímicos, procesos de crecimiento y desarrollo del árbol, funciones fisiológicas y productividad forestal. Los estudios sobre la pérdida de vigor y la creciente mortalidad de algunas especies forestales han enfocado su interés en documentar la extensión, causas y consecuencias ecológicas y económicas potenciales de los trastornos citológicos y bioquímicos (McLaughlin, 1985).

Los cambios que ocurren en la salud de los ecosistemas forestales debidos a la contaminación atmosférica se registran rutinariamente tanto a escala nacional como internacional. Los métodos de detección y los diseños de monitoreo probablemente no son los más adecuados en la detección temprana y en la atribución final de la causa-efecto. Sólo donde el monitoreo se ha ligado temporal o espacialmente con la investigación, se han establecido dichas relaciones (Percy y colaboradores, 1999).

La sintomatología inducida por el ozono atmosférico en las acículas del género *Pinus* se ve como un moteado y/o bandedo clorótico, defoliación prematura, acortamiento de las acículas de mayor edad y mortalidad marcada de las ramas inferiores de la copa. Este daño característico se ha observado desde hace varios años en especies de pino del norte del Continente Americano, tales como *Pinus ponderosa*, *P. strobus* y *P. hartwegii* (Middleton y Haagen-Smit, 1961; Richards, et

at., 1968; Jacobson y Hill, 1970; Miller, 1973; McLaughlin, 1985; Miller y colaboradores, 1994; Miller *et al.*, 2002).

Krupa y Bauer (1976) fueron los pioneros en la detección de la sintomatología típica del daño por ozono en la vegetación del Valle de México. En un recorrido exploratorio por el sur del Distrito Federal, observaron por vez primera el moteado y bandeado clorótico inducido por ozono atmosférico en el follaje de *P. leiophylla*; además de diversos tipos de daño en algunas especies arbustivas y herbáceas.

Existe una recopilación de información para nuestro país donde se hace referencia a los primeros estudios descriptivos llevados a cabo en el Valle de México a partir de los años 70, con la ayuda de especies de plantas indicadoras de contaminantes atmosféricos. Los autores también informan de otros estudios sobre frijol, soya y algunas especies de pino. Además, se da a conocer el comportamiento histórico, poblacional, vehicular e industrial desde la fundación de la Ciudad de México (Bauer y Krupa, 1990).

Se han publicado diversos trabajos sobre la respuesta a los oxidantes fotoquímicos de algunas especies de pino localizadas en el Valle de México, entre las que destacan: *P. hartwegii*, *P. montezumae* y *P. maximartinezii* (Hernández-Tejeda, 1981; Hernández-Tejeda, 1984; Bauer y colaboradores, 1985; Hernández-Tejeda y Bauer, 1986; Miller y colaboradores, 1994; Hernández-Tejeda y Nieto, 1996). En la mayoría de dichos estudios se utilizó la escala de evaluación cualitativa generada por el Dr. Miller, para especies del género *Pinus*, que permite categorizar la condición de los árboles, de acuerdo con el grado de daño inducido por el ozono atmosférico, generado por los procesos fotoquímicos que ocurren en la atmósfera, debido al consumo indiscriminado de los combustibles de origen fósil (Miller, 1973).

Cuantificar el daño debido al impacto de los contaminantes atmosféricos sobre la vegetación, permitirá conocer el grado de deterioro de las especies de importancia económica sujetas a este tipo de condición crítica, que ocurre cotidianamente alrededor de las grandes urbes (Bauer y Hernández-Tejeda, 1986; Hernández-Tejeda y Bauer, 1989; Miller *et al.*, 1990; Miller *et al.*, 1994; Percy *et al.*, 1999; Miller *et al.*, 2002).

Particularmente, el conocer la condición en que se encuentran los bosques del Valle de México, por el impacto de los oxidantes fotoquímicos, especialmente por el ozono atmosférico, es una tarea que debe ser atendida por la comunidad científica con el objeto de generar la información que permita a los tomadores de decisiones proponer alternativas para mejorar las condiciones actuales y darles un futuro más promisorio a las comunidades vegetales, lo que a su vez ayudará a prevenir o disminuir su deterioro, con lo que se tendrían servicios ambientales de mejor calidad o en mayor cantidad. Asimismo, los resultados sentarán las bases para legislar y generar normas de calidad del aire más estrictas que las actuales para proteger los bosques que rodean el Valle de México.

El propósito del estudio fue determinar el daño por el ozono atmosférico, registrado con monitores pasivos, sobre el follaje de árboles adultos de *P. hartwegii* dentro y entre localidades, ubicadas en tres elevaciones sobre el nivel del mar, en cada una de las tres áreas forestales del Valle de México.

Los objetivos planteados fueron: a) determinar el índice del daño foliar por ozono dentro de cada localidad, b) comparar el índice del daño entre localidades y, c) relacionar las concentraciones de ozono con el daño foliar observado. Las hipótesis sugeridas fueron: que el índice del nivel de daño por ozono en el follaje de *P. hartwegii* es menor en 1998 que en 1997, independientemente de la localidad bajo estudio y; que las concentraciones de ozono registradas en las tres localidades fueron suficientes para ocasionar un daño foliar a *P. hartwegii*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización del área de estudio

El área de estudio se localiza dentro Valle de México, en donde se seleccionaron tres localidades forestales: Ajusco y Desierto de los Leones, en el Distrito Federal, y Zoquiapan en el Estado de México. Las dos primeras se encuentran al sur, mientras que la última, considerada como área testigo, se ubica al este de la Ciudad de México.

Evaluación cualitativa del daño por ozono en el follaje de *P. hartwegii*

Con el apoyo de la escala de evaluación cualitativa de daños por oxidantes fotoquímicos en pinos, propuesta y utilizada por Miller (1973), se determinó el daño por ozono en *P. hartwegii* del Valle de México, en los mismos sitios donde se midieron las concentraciones de ozono atmosférico, con monitores pasivos; es decir, se evaluaron todos los árboles adultos localizados dentro de los nueve sitios de muestreo permanente, correspondientes a tres elevaciones sobre el nivel del mar del área de estudio. Sin embargo, no se llegó hasta la categorización del daño sugerida por Miller, porque se generó un nuevo ordenamiento de datos para poder realizar el análisis estadístico correspondiente.

La escala de Miller consta de cuatro parámetros a saber: retención, condición y longitud de acículas, y mortalidad de ramas. Para evaluar el daño se divide la copa del árbol en dos niveles: superior e inferior. La mortalidad de ramas es el parámetro que se determina únicamente en el nivel inferior de la copa. La evaluación se realiza en cada año de crecimiento del follaje. La calificación total se obtiene al sumar los datos registrados de cada uno de los 4 parámetros antes mencionados, para cada árbol (Cuadro II.1).

Con el objeto de determinar la evolución del daño por ozono en el follaje de *P. hartwegii* de todas las localidades y elevaciones, de un año con respecto al siguiente, se generó un índice de daño para cada árbol, el cual se obtiene al restar la

calificación total de la segunda evaluación a la de la primera. El índice se utilizará por vez primera en un estudio de este tipo, con la intención llevar a cabo un análisis estadístico que permita reforzar la evaluación cualitativa que se realiza con la escala de Miller. Así que, de manera arbitraria, pero de acuerdo con una secuencia lógica de eventos, se pensó en generar un índice de daño foliar sencillo y confiable, que permite evaluar estadísticamente el comportamiento o evolución del daño por ozono en el follaje de los pinos bajo estudio a través del tiempo.

Cuadro II.1. Escala de evaluación cualitativa para determinar los daños por oxidantes fotoquímicos en pinos*

| PARÁMETROS | CALIFICACIÓN |
|--|---------------------|
| Retención de hojas (Número de años retenidas) | |
| Nivel superior de la copa | 0 - 6 |
| Nivel inferior de la copa | 0 - 6 |
| Condición de hojas (Un valor dado para cada brote anual) | |
| Nivel superior de la copa | |
| Verde | 4 |
| Bandeado y/o moteado clorótico | 2 |
| Amarillamiento uniforme o necrosis | 0 |
| Nivel inferior de la copa | |
| Verde | 4 |
| Bandeado y/o moteado clorótico | 2 |
| Amarillamiento uniforme o necrosis | 0 |
| Longitud de hojas | |
| Nivel superior de la copa | |
| Promedio igual o mayor a la longitud normal | 1 |
| Promedio menor a la longitud normal | 0 |
| Nivel inferior de la copa | |
| Promedio igual o mayor a la longitud normal | 1 |
| Promedio menor a la longitud normal | 0 |
| Mortalidad de ramas (Exclusivo del nivel inferior de la copa) | |
| Mortalidad normal | 1 |
| Mortalidad marcada | 0 |

* Paul R. Miller (1973).

Entonces, al hacer la resta de las calificaciones totales de ambas fechas de evaluación, se obtendrá un índice de daño foliar para cada uno de los árboles evaluados. Así que, aquellos árboles que presentaron un índice de 0, 1 ó 2, se integraron en el grupo denominado de **daño ligero** y los que tuvieron un índice de 3,

4 ó 5 se les concentró en otro conocido como de **daño severo**, con el objeto de tener mayor número de conteos en cada grupo y además evitar las advertencias del paquete estadístico que requiere de un número de observaciones mayor a 5. Por lo tanto, lo que se analizó estadísticamente fueron tales índices, agrupado en dos nuevas categorías.

Las fechas de inicio y término de la evaluación cualitativa estuvieron en función de la mejor época de desarrollo de los síntomas en coníferas, que ocurre en el verano; de modo que la primera se realizó en julio de 1997 y la segunda en septiembre de 1998, con el propósito de conocer el daño sobre el follaje debido a las concentraciones de ozono registradas durante la etapa de monitoreo. Durante este mismo periodo de tiempo se registraron las concentraciones de ozono con los monitores pasivos canadienses en todos los sitios de muestreo permanente.

Es importante mencionar que el número total de árboles en cada una de las tres localidades, incluyendo las tres elevaciones, fue de 16, 17 y 18 en Ajusco, Desierto de los Leones y Zoquiapan, respectivamente.

Análisis estadístico

Con el objeto de conocer si el índice del daño inducido por el ozono sobre el follaje de los pinos, en las tres localidades bajo estudio, varió en la evaluación de 1998 con respecto a la de 1997, y dado que se trata de una variable de tipo ordinal, los datos de campo se sometieron a un análisis estadístico no paramétrico, donde se aplicó la Prueba de X^2 , que es útil para probar bondad de ajuste, independencia entre dos criterios de clasificación y homogeneidad entre varias poblaciones (Infante y Zárate, 1984; Ramírez y López, 1993).

Los resultados de la evaluación cualitativa, del daño foliar por ozono sobre los pinos en estudio, se arreglaron de modo que las diferencias que se obtuvieron de restar la calificación final de cada árbol de 1998 a la de 1997 fueron las que se analizaron estadísticamente. Es decir, para este tipo de análisis, no se realizó la categorización del de daño, como lo sugiere Miller, sino que se compararon entre sí los árboles de cada elevación y localidad individualmente, mediante su índice del

nivel de daño generado para este estudio, tal y como se indica en la sección de materiales y métodos de este capítulo, en las elevaciones de cada una de las tres localidades.

La regla de decisión es rechazar H_0 si:

$$X^2 \geq X^2_{\alpha (h-1) (c-1)}$$

Donde:

$X^2_{\alpha (h-1) (c-1)}$ es el cuantil correspondiente a un nivel de significancia α con $(h-1)$ $(c-1)$ grados de libertad.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis estadístico

No es posible llevar cabo un análisis estadístico de los datos generados cualitativamente con la metodología de Miller debido a que los resultados de los árboles evaluados se agrupan por categorías. Por lo tanto, se sugirió utilizar un índice de daño por ozono en el follaje de *P. hartwegii*, para analizar los datos de cada árbol individualmente y no agrupados en categorías.

El análisis estadístico no paramétrico de daño por ozono atmosférico en el follaje de *P. hartwegii*, a tres elevaciones sobre el nivel del mar en las tres localidades, proviene de los datos obtenidos de las evaluaciones de 1997 y 1998 realizados con el apoyo de la escala de Miller.

Los árboles con daño ligero y con daño severo se encontraron en las 3 localidades bajo estudio. El índice de daño foliar en Zoquiapan indicó que el daño ligero se registró en 12 de los 18 árboles evaluados; por el contrario, en el Ajusco 5 de 16 árboles manifestaron el daño severo (Cuadro II.2).

Cuadro II.2. Número de árboles con índices de daño foliar ligero y severo en tres localidades del Valle de México, de acuerdo con la prueba de X^2 .

| Localidades | Daño ligero | Daño severo | Total |
|--------------|--------------------|--------------------|-------|
| | Contados/esperados | Contados/esperados | |
| Ajusco | 11/10.03 | 5/5.96 | 16 |
| Desierto | 9/10.66 | 8/6.33 | 17 |
| Zoquiapan | 12/11.29 | 6/6.70 | 18 |
| Total | 32 | 19 | 51 |

La prueba de Pearson indica que $X^2_{0.05, 51} < 0.5874$

| Prueba de Pearson | X^2 | Prob > X^2 |
|-----------------------|-------|--------------|
| Todas las localidades | 1.064 | 0.5874 |

De acuerdo con la prueba de Pearson, en las 3 localidades no hay diferencias estadísticas significativas. Entonces, el índice de daño por ozono en el follaje de los árboles de las tres localidades, indica que a pesar de que en el Desierto de los

Leones hubo el mayor número de árboles con el daño severo, no es diferente estadísticamente del Ajusco y de Zoquiapan. Por otra parte, es importante señalar que la concentración de ozono atmosférico promedio, durante el periodo de medición, fue de 48 ppb en el Desierto de los Leones, en comparación con aquellas de 49 y 37 ppb del Ajusco y Zoquiapan, respectivamente.

Del mismo modo, el índice de daño foliar por ozono, en cada una de las tres elevaciones del Ajusco, señaló que los árboles con daño ligero y con daño severo se encontraron en todas ellas. Es importante hacer mención que en la elevación más baja fue donde se apreció un mayor número de árboles con daño severo, en comparación con las elevaciones media y alta. En el caso del daño ligero, éste fue muy similar en todas las elevaciones (Cuadro II.3).

Cuadro II.3. Número de árboles con índices de daño foliar ligero y severo en cada una de las tres elevaciones del Ajusco, D. F.

| Localidad | Daño ligero | Daño severo | Total |
|------------------|--------------------|--------------------|--------------|
| Ajusco baja | 3/4.12 | 3/1.87 | 6 |
| Ajusco media | 4/3.43 | 1/1.56 | 5 |
| Ajusco alta | 4/3.43 | 1/1.56 | 5 |
| Total | 11 | 5 | 16 |

Por otra parte, el índice del nivel de daño foliar por ozono en las 3 elevaciones del Desierto de los Leones, señaló que los árboles tanto con el daño ligero como con el daño severo se presentaron en las tres. Sin embargo, el número de árboles afectados con el daño severo se incrementó a medida que aumentó la elevación y en el caso del daño ligero ocurrió todo lo contrario (Cuadro II.4).

Cuadro II.4. Número de árboles con índices de daño foliar ligero y severo en cada una de las tres elevaciones del Desierto de los Leones, D. F.

| Localidad | Daño ligero | Daño severo | Total |
|------------------|--------------------|--------------------|--------------|
| Desierto baja | 4/2.64 | 1/2.35 | 5 |
| Desierto media | 3/3.17 | 3/2.82 | 6 |
| Desierto alta | 2/3.17 | 4/2.82 | 6 |
| Total | 9 | 8 | 17 |

Finalmente, en Zoquiapan el índice del nivel de daño foliar por ozono manifestó que existen árboles con ambos tipos de daño en todas las elevaciones a excepción de la elevación alta. Las elevaciones baja y media mostraron un comportamiento similar en cuanto al número de árboles con daño ligero y con daño severo. Sin embargo, en la elevación alta únicamente se observó el daño ligero (Cuadro II.5).

Cuadro II.5. Número de árboles con índices de daño foliar ligero y severo en cada una de las tres elevaciones de Zoquiapan, Méx.

| Localidad | Daño ligero | Daño severo | Total |
|-----------------|-------------|-------------|-------|
| Zoquiapan baja | 3/4 | 3/2 | 6 |
| Zoquiapan media | 3/4 | 3/2 | 6 |
| Zoquiapan alta | 6/4 | 0/2 | 6 |
| Total | 12 | 6 | 18 |

La prueba de Pearson para el Ajusco indica que $X^2_{0.05, 16} < 0.4559$, para el Desierto $X^2_{0.05, 17} < 0.2988$ y para Zoquiapan $X^2_{0.05, 18} < 0.1054$

| Prueba de Pearson | X^2 | Prob > X^2 |
|-------------------|-------|--------------|
| Ajusco | 1.571 | 0.4559 |
| Desierto | 2.416 | 0.2988 |
| Zoquiapan | 4.500 | 0.1054 |

En las 9 elevaciones no hubo diferencias estadísticas significativas.

En estudios previos ya se ha detectado y evaluado la presencia del daño por ozono en *P. hartwegii* del Valle de México. Ahora bien, lo relevante en esta ocasión será observar el comportamiento del daño entre y dentro de las localidades. El interés de utilizar un índice va más allá del manejo estadístico que se le pueda dar a los datos obtenidos de la evaluación cualitativa del daño foliar por ozono en pinos. La idea surgió por la necesidad de determinar en qué localidades o elevaciones avanza más rápido el daño y en cuales lo hace más lentamente, ya que aparentemente todos los árboles responden de manera diferencial al impacto del ozono.

Se esperaba que en Zoquiapan no existieran diferencias estadísticas significativas entre 1997 y 1998 en ninguna elevación, debido a que las concentraciones promedio de ozono siempre fueron menores a aquellas registradas en el Ajusco y Desierto de los Leones, durante los 18 meses de monitoreo pasivo continuo; sin embargo, dicha localidad no se escapó del efecto del ozono sobre el follaje de los pinos.

Es posible concluir que las concentraciones de ozono presentes en el Ajusco, Desierto de los Leones y Zoquiapan, fueron suficientes para que se agravaran los daños por ozono en el follaje de los árboles adultos de *P. hartwegii* evaluados entre 1997 y 1998, independientemente de la elevación sobre el nivel del mar de cada uno de los sitios de muestreo permanente.

Tomando en cuenta los resultados previos y de acuerdo con la evaluación visual, se puede afirmar que en Zoquiapan el daño por ozono en el follaje se agravó menos; es decir, hubieron varios árboles que mantuvieron su mismo nivel de daño durante ambas evaluaciones, en contraste con el Ajusco, donde ninguno de ellos mostró el mismo nivel de daño que se observó en el año anterior. En Zoquiapan el rango promedio del índice del nivel de daño varió de 1 a 11; en cambio, en el Ajusco dicho rango varió de 3 a 14, lo cual indica que el daño por ozono fue mayor en esta última localidad, misma que registró las mayores concentraciones promedio de ozono durante el periodo de monitoreo pasivo.

Los resultados anteriores permiten confirmar la sospecha que se tenía en otros estudios (Hernández-Tejeda, 1981; Hernández-Tejeda y Bauer, 1986), en los que el ozono presumiblemente era el responsable del deterioro de *P. hartwegii* en el Valle de México.

La categorización sugerida por la metodología de evaluación de Miller agrupa a los árboles que presentan síntomas similares, sin embargo, por tratarse de un rango numérico, dado al libre albedrío, es posible que existan árboles con daños muy parecidos pero que al caer en el rango inmediato inferior o superior, ya no puedan ser considerados dentro de una categoría específica. Por ejemplo, los árboles que tienen una calificación final entre 9 y 14 caben en la categoría del daño severo, en

cambio los que están entre 15 y 21 caen en la del daño moderado. Considerando que el rango entre 9 y 14 contiene 6 unidades, pero entre el 14 y el 15, solo hay una unidad, entonces es aquí donde se pierde la lógica y continuidad de la escala, porque se separan abruptamente los árboles con daños muy semejantes.

Se espera que en donde las concentraciones de ozono fueron más altas, mayor sea el índice y viceversa; consecuentemente, donde se observe un mayor índice significará que el daño foliar por ozono evolucionó más rápidamente de una evaluación a la siguiente, lo que significará que ese grupo de árboles será más sensible al daño por ozono que los demás.

Análisis porcentual

El análisis porcentual del grado de daño por ozono atmosférico en el follaje de *P. hartwegii*, a 3 elevaciones sobre el nivel del mar en cada localidad, proviene de los datos obtenidos de las evaluaciones de 1997 y 1998. En el Ajusco, Distrito Federal, en ambas evaluaciones se presentó sólo el tipo de daño severo y moderado. Así, en la de 1997 el daño severo representó un 44 % y el moderado el 56 %, en promedio de las 3 elevaciones. Mientras que en la de 1998, el primero de ellos se incrementó a 62 % y el segundo disminuyó a 38 %. Por otra parte, es conveniente resaltar que el daño muy severo y el ligero no se apreciaron en ninguna de las 3 elevaciones.

Asimismo, no se observó tendencia alguna respecto al número de árboles afectados en las 3 elevaciones durante las 2 evaluaciones; es decir, la altitud sobre el nivel del mar no influyó sobre la expresión de los síntomas inducidos por el ozono sobre el follaje de los pinos del Ajusco, D. F. (Fig. II.1).

Los estudios previos donde se utilizó la metodología de Miller en la misma especie forestal, señalan que el tipo de daño muy severo se observó en el Ajusco (Hernández-Tejeda y colaboradores, 1982; Hernández-Tejeda y Bauer, 1984). Lo anterior sugiere que no todos los individuos responden de la misma manera al daño ocasionado por el ozono atmosférico o quizá que con el paso del tiempo dicha especie se ha ido adaptando a las condiciones críticas de contaminación atmosférica prevaletentes en la actualidad.

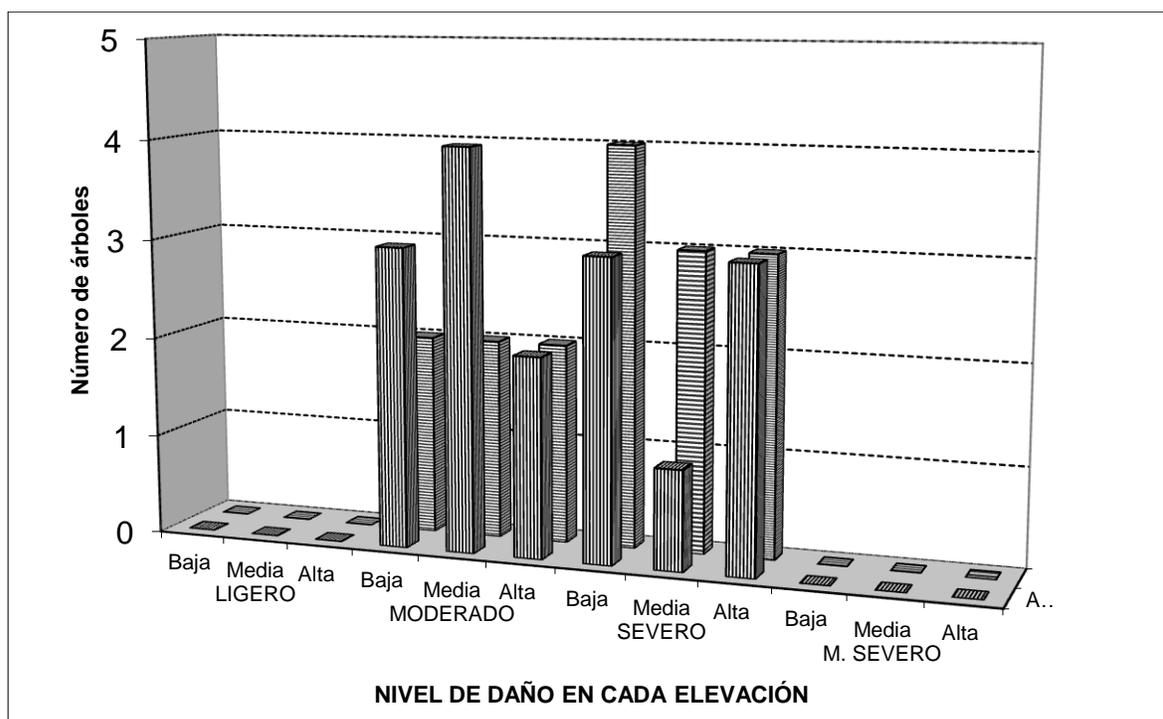


Figura II.1. Evaluación cualitativa del daño por ozono en *P. hartwegii*, durante 1997 y 1998, a 3 elevaciones del Ajusco, D. F.

En contraste con los estudios antes citados, en esta ocasión se tuvo la oportunidad de cuantificar las concentraciones de ozono atmosférico tanto en el Ajusco, como en el Desierto de los Leones y Zoquiapan. Así que con los datos registrados por los monitores pasivos fue posible establecer la relación directa entre las concentraciones de ozono y los daños foliares observados en los pinos.

De acuerdo con lo anterior, se concluye que los tipos de daño severo y moderado observados en los árboles de los sitios de muestreo permanente, localizados a tres diferentes elevaciones sobre el nivel del mar en el Ajusco, se deben a las concentraciones ambientales de ozono de 25 a 74 ppb, cuyo promedio fue de 49 ppb.

Para el Desierto de los Leones, Distrito Federal, en la evaluación de 1997 la elevación alta mostró los tipos de daño: muy severo, severo y moderado; en la media el severo y el moderado; y en la baja solo el moderado. El daño muy severo incidió en un 6 %, el severo en un 35 % y el moderado en un 59 %, en promedio de las 3

elevaciones. Durante la de 1998 se registraron los mismos tipos de daño en todas las elevaciones, a excepción de la baja donde no se registró el tipo de daño severo. Así, el daño muy severo se mantuvo en la misma proporción del 6 %, mientras que el severo aumentó a 47 % y el moderado disminuyó a 47 %.

En esta localidad tampoco se presentó tendencia alguna respecto al número de árboles dañados en las 3 elevaciones, durante las 2 evaluaciones; es decir, la altitud sobre el nivel del mar no influyó sobre la expresión de los síntomas inducidos por el ozono sobre el follaje de los pinos (Fig. II.2).

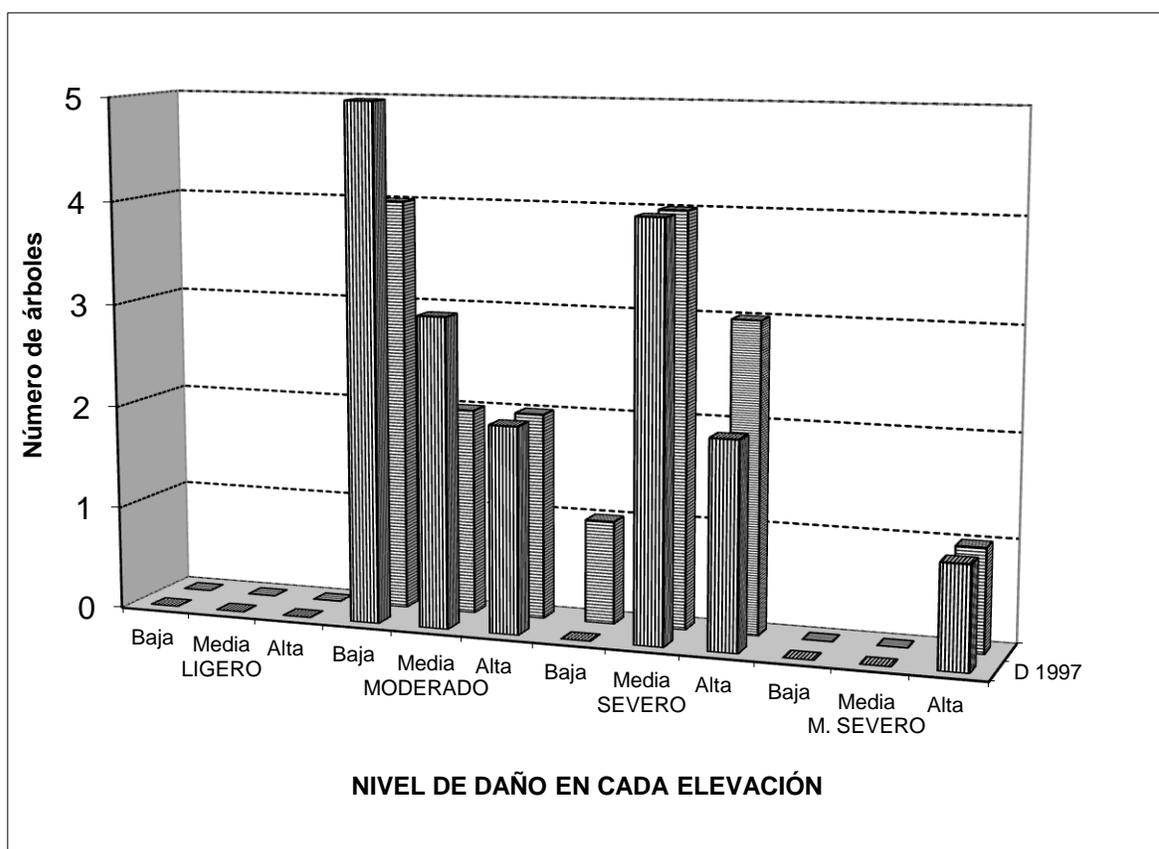


Figura II.2. Evaluación cualitativa del daño por ozono en *P. hartwegii*, durante 1997 y 1998, a 3 elevaciones del Desierto de los Leones, D. F.

La sintomatología del daño por ozono en *P. hartwegii* del Desierto de los Leones se detectó posteriormente a la del Ajusco (Bauer y colaboradores, 1985); sin embargo, no fue sino hasta esta fecha cuando se evaluó el grado de daño foliar, en dicha localidad.

De acuerdo con lo mencionado anteriormente, se concluye que los tipos de daño muy severo, severo y moderado observados en los árboles adultos de los sitios de muestreo permanente, localizados a tres diferentes elevaciones sobre el nivel del mar en el Desierto de los Leones, se deben a las concentraciones ambientales de ozono de 29 a 64 ppb, cuyo promedio fue de 48 ppb.

En Zoquiapan, Estado de México en la evaluación de 1997, la elevación alta manifestó los tipos de daño severo y moderado; en la media el moderado y ligero; y en la baja los daños: severo, moderado y ligero. De manera que el daño severo representó el 17 %, el moderado el 72 % y el ligero el 11 %, en promedio de las 3 elevaciones. En la evaluación de 1998 sólo se registraron los daños severo y moderado en las tres elevaciones; de modo que el daño severo se incrementó a 33 %, el moderado disminuyó a 67 % y el ligero a 0%, en promedio de las 3 elevaciones.

Al igual que en las dos localidades anteriores, en ésta tampoco se observó ninguna tendencia en el número de árboles afectados en las 3 elevaciones, durante las dos evaluaciones (Fig. II.3).

No existen publicaciones sobre la sintomatología del daño foliar por ozono en *P. hartwegii* de Zoquiapan, Méx. Esta es la primera evaluación del grado de daño foliar, donde también se observa el moteado y bandeado clorótico, aunque con menor intensidad al del Ajusco y el Desierto de los Leones.

De acuerdo con lo mencionado anteriormente, se concluye que los tipos de daño severo, moderado y ligero observados en los árboles adultos de los sitios de muestreo permanente, localizados a tres diferentes elevaciones sobre el nivel del mar en Zoquiapan, se deben a las concentraciones ambientales de ozono de 18 a 65 ppb, cuyo promedio fue de 37 ppb.

Los síntomas observados durante la evaluación cualitativa en campo fueron idénticos a los que induce el ozono atmosférico en el follaje de *P. hartwegii* bajo condiciones controladas de fumigación artificial, consistentes en moteado clorótico, clorosis y necrosis apical de las acículas de mayor edad (Miller y colaboradores, 1990).

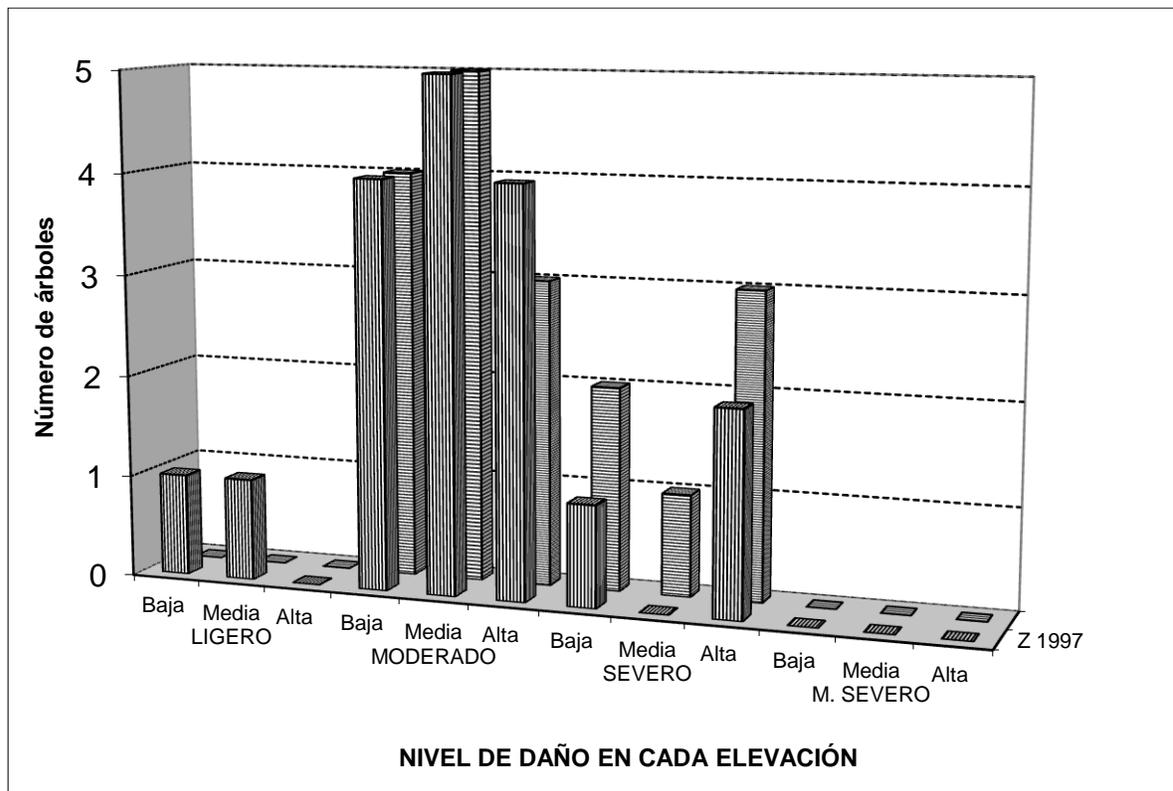


Figura II.3. Evaluación cualitativa del daño por ozono en *P. hartwegii*, durante 1997 y 1998, a 3 elevaciones de Zoquiapan, Méx.

La dinámica del daño por ozono atmosférico en las tres localidades con *P. hartwegii*, ubicadas dentro del Valle de México, sugiere que de no reducirse las emisiones de los precursores de ozono en el Valle de México, esta especie forestal llegará desaparecer del ecosistema o a reducir notablemente su cobertura forestal y consecuentemente los servicios ambientales que brinda a los habitantes de la Ciudad de México.

De acuerdo con lo anterior se puede asegurar que en el Ajusco y en el Desierto de los Leones, las concentraciones de ozono, registradas durante el periodo de monitoreo pasivo (Capítulo I), indujeron un mayor grado de daño en el follaje de *P. hartwegii*, en comparación con Zoquiapan.

Los resultados obtenidos en el capítulo III confirman también que el ozono atmosférico no solo daña el follaje de *P. hartwegii*, sino que reduce significativamente

la germinación y el crecimiento de los tubos polínicos de los granos de polen de dicha especie forestal.

CONCLUSIONES

El ozono atmosférico afecta la retención, condición y crecimiento de las acículas, así como la mortalidad de ramas de los árboles adultos de *P. hartwegii*, del Ajusco, Desierto de los Leones y Zoquiapan, independientemente de la elevación sobre el nivel del mar.

El índice del nivel de daño por ozono en el follaje de los árboles bajo estudio para cada localidad indica que en 1998 el nivel de daño fue mayor que en 1997. Es decir, al paso del tiempo se agravan los daños en el follaje entre y dentro de todas las localidades bajo estudio.

Los daños foliares, conocidos como severo, moderado y ligero, observados en *P. hartwegii*, son inducidos por las concentraciones de ozono atmosférico registradas, durante el mismo periodo de evaluación, en las 3 localidades forestales bajo estudio.

Las concentraciones de ozono presentes en el Ajusco, Desierto de los Leones y Zoquiapan, fueron suficientes para que se manifestaran los daños en el follaje de los árboles adultos de *P. hartwegii* evaluados entre 1997 y 1998.

LITERATURA CITADA

- Bauer, L. I.; T. Hernández-Tejeda; W. J. Manning. 1985. Ozone causes needle injury and tree decline in *Pinus hartwegii* at high altitudes in the mountains around Mexico City. *Journal of Air Pollution Control Association* 35(8):838.
- Bauer, L. I. de; T. Hernández-Tejeda. 1986. Contaminación: Una amenaza para la vegetación en México. Colegio de Postgraduados. Chapingo, México. 84 p.
- Bauer, L. I. de; S. V. Krupa. 1990. The Valley of Mexico: Summary of observational studies on its air quality and effects on vegetation. *Environmental Pollution* 65:109-118.
- Hernández-Tejeda, T. 1981. Reconocimiento y evaluación del daño por gases oxidantes en pinos y avena del Ajusco, D. F. Tesis profesional. Departamento de Fitotecnia, UACH. Chapingo, Méx. 90 p.
- Hernández-Tejeda, T. 1984. Efecto de los gases oxidantes en sobre algunas especies del género *Pinus* nativas del Valle de México. Tesis de Maestría en Ciencias. Centro de Fitopatología, Colegio de Postgraduados. Chapingo, Méx. 109 p.
- Hernández-Tejeda, T.; L. I. de Bauer. 1984. Evolución del daño por gases oxidantes en *Pinus hartwegii* y *Pinus montezumae*, var. Lindley en el Ajusco, D. F. *Agrociencia* 56:183-194. México.
- Hernández-Tejeda, T.; L. I. de Bauer. 1986. Photochemical oxidant damage on *Pinus hartwegii* at the Desierto de los Leones, D. F. *Phytopathology* 76(3):377.
- Hernández-Tejeda, T.; L. I. de Bauer. 1989. La supervivencia vegetal ante la contaminación atmosférica. Editorial Futura, S. A. Texcoco, Méx. 79 p.
- Hernández-Tejeda, T.; L. I. de Bauer; S. V. Krupa. 1982. Daños por gases oxidantes en pinos y avena, reconocimiento y evaluación en el Ajusco, D. F. *Revista Chapingo* 33.34:19-28. México.

- Hernández-Tejeda, T.; C. Nieto de Pascual Pola. 1996. Effects of oxidant air pollution on *Pinus maximartinezii* Rzedowski in the México City region. *Environmental Pollution* 92(1):79-83.
- Infante Gil, S.; G. Zárate de Lara. 1984. *Métodos estadísticos*. Editorial Trillas. México, D. F. 643 p.
- Jacobson, J. S.; A. C. Hill. 1970. Recognition of air pollution injury to vegetation: A Pictorial Atlas. Informative Report 1. Air Pollution Control Association Pittsburgh, Pennsylvania, USA. s/p.
- Krupa, S. V.; L. I. de Bauer. 1976. La ciudad daña los pinos del Ajusco. *Revista Panagfa* 4(31):5-7. México.
- McLaughlin, S. B. 1985. Effects of air pollution on forests: A critical review. *Journal of the Air Pollution Control Association* 35(5):512-534.
- Middleton, J. T.; A. J. Haagen-Smit. 1961. The occurrence, distribution, and significance of photochemical air pollution in the United States, Canada, and Mexico. *J. Air Pollution Control Association* 11(3):129-134.
- Miller, P. R. 1973. Oxidant-induced community change in a mixed conifer forest. *En: Air pollution damage to vegetation*. J. A. Naegele (Ed). *Adv. Chem. Ser.* 122:101-117. Am. Chem. Soc. Washington, U.S.A.
- Miller, P. R.; T. D. Leininger; L. I. de Bauer; T. Hernández-Tejeda. 1990. Responses of Mexican conifer species to simulated ambient ozone exposure profile. Progress Report. North American Forestry Commission. Riverside, CA. USA. 7p.
- Miller, P. R.; L. I. de Bauer; A. Quevedo; T. Hernández-Tejeda. 1994. Comparison of ozone exposure characteristics in forested regions near Mexico City and Los Angeles. *Atmospheric Environment* 28(1):141-148.
- Miller, P. R.; L. I. de Bauer; T. Hernández-Tejeda. 2002. Oxidant exposure and effects on pine forests in the Mexico City and Los Angeles, California air basins. *In: Urban Air Pollution and Forests: Resources at Risk in the Mexico*

- City Air Basin. *Ecological Studies* 156. M. E. Fenn, L. I. Bauer, and T. Hernández-Tejeda (Eds). Springer-Verlag. New York, USA. pp. 335-351.
- Percy, K.; J. Bucher; J. Kape; M. Ferretti; R. Heath; H. E. Jones; D. Karnosky; R. Matyssek; G. Muller-Starck; E. Paoletti; U. Rosengren-Brinck; L. Sheppard; J. Skelly; G. Weetman. 1999. State of science and knowledge gaps with respect to air pollution impacts on forests: Reports from concurrent IUFRO 7.04.00 working party sessions. *Water, Air, and Soil Pollution* 116:443-448.
- Ramírez, M. E.; Q. López. 1993. *Métodos estadísticos no paramétricos*. Editorial de Difusión Cultural de la UACH. Chapingo Méx. 223 p.
- Richards, B. L.; O. C. Taylor; G. F. Edmunds. 1968. Ozone needle mottle of pine in southern California. *J. Air Pollution Control Association* 18(2):73-77.

CAPITULO III

IMPACTO DEL OZONO SOBRE EL ALARGAMIENTO DEL TUBO POLÍNICO Y LA GERMINACIÓN DEL POLEN DE *Pinus hartwegii* Lindl.

INTRODUCCIÓN

Los cambios en los procesos reproductivos inducidos por la contaminación atmosférica no son tan fácilmente observables o reconocibles en los ecosistemas forestales, como ocurre con los síntomas foliares en las especies arbóreas. Sin embargo, se ha comprobado que la contaminación atmosférica puede afectar la reproducción de las plantas al inhibir en mayor o menor grado la fotosíntesis y a la vez ocasionar cambios en la distribución de los metabolitos; además, los eventos críticos en los ciclos reproductivos pueden afectarse directamente por la exposición a los contaminantes atmosféricos. La reducción de la capacidad germinativa y del alargamiento del tubo polínico del polen obviamente afecta de manera negativa la producción de semillas y por lo tanto la capacidad reproductiva de los árboles (Percy y colaboradores, 1999).

Diversos investigadores han señalado que la sensibilidad de los granos de polen a la exposición de ozono se correlaciona con la sensibilidad foliar al ozono en muchas variedades de cultivos agrícolas anuales (Feder, 1968; Feder y Sullivan, 1969; Mumford y colaboradores, 1972; Harrison y Feder, 1974. Por otra parte, Wolters y Martens (1987) señalaron que la germinación y el alargamiento del tubo polínico de los granos de polen son afectados por los contaminantes atmosféricos tanto *in vivo* como *in vitro*. Ambos autores mencionan que la estimulación o inhibición de ambos parámetros de viabilidad dependen de la especie, así como del tipo de contaminante y su concentración, del tiempo de exposición y de la humedad relativa presente durante el tiempo de exposición.

En 1983 Benoit y colaboradores (1983) colectaron polen en árboles de *Pinus strobus* que se comportaron como sensibles, intermedios y tolerantes a la contaminación atmosférica por oxidantes fotoquímicos, de acuerdo con la

manifestación de los síntomas foliares. Al fumigar los granos de polen observaron que el porcentaje de germinación se redujo significativamente ($P \leq 0.05$) cuando se expusieron a 0.15 ppm de ozono durante 4 horas, bajo condiciones de alta humedad (agua libre); sin embargo, la longitud promedio de los tubos polínicos no se redujo significativamente. En cambio, la sensibilidad del polen al ozono durante su desarrollo y madurez no se correlacionó con la sensibilidad del follaje del *P. strobus*, quizá porque el polen de los pinos está menos hidratado que el polen de los cultivos agrícolas, que es más activo fisiológicamente, debido a sus periodos reproductivos cortos.

En otro trabajo se estimó la viabilidad del polen colectado en 16 árboles de *Abies balsamea*, creciendo de manera natural en tres sitios con diferentes grados de contaminación atmosférica, generados por una procesadora de aluminio, una de químicos y una carboeléctrica. Los resultados indicaron que el porcentaje de germinación y el alargamiento del tubo polínico variaron notablemente entre árboles individuales; en la mayoría de los casos dicha variación estuvo correlacionada positivamente con el grado de contaminación del sitio. Los autores apreciaron que la germinación de los granos de polen fue más sensible a la contaminación atmosférica que el alargamiento de los tubos polínicos (Kormutak y colaboradores, 1994).

Algunos estudios relacionados con los efectos de la contaminación atmosférica sobre el polen de especies arbóreas incluyen los realizados por Cox (1983, 1985, 1987, 1988 y 1992), quien ha observado que la aspersion simulada de lluvia ácida afecta la germinación y el alargamiento del tubo polínico de los granos de polen en algunas especies forestales de Canadá. Asimismo, este autor ha señalado que la liberación prematura o retrasada del polen puede imposibilitar la fertilización del óvulo y afirma que la posibilidad de recolonización de un área forestal decrecerá si la reproducción sexual se reduce.

Smith (1981) aseguró que la reproducción sexual en las especies forestales es muy importante para mantener su flexibilidad genética y la persistencia de la mayoría de las especies en comunidades forestales naturales. Cox (1989) afirmó que independientemente de la manera en que los contaminantes afectan al polen, la

repercusión genética de la contaminación atmosférica también se refleja en cambios en la competencia entre los granos de polen sobre el estilo, dando como resultado una reducción en la variación genética de la siguiente generación.

En la mayoría de las especies de pinos de nuestro país la polinización ocurre generalmente durante la primavera (Niembro-Rocas, 1986). Al momento de la polinización, las brácteas de los estróbilos femeninos están ligeramente separadas y los granos de polen entran entre las brácteas y se anidan en el exudado micropilar (Mirov, 1969). El estado de receptividad de las flores femeninas por lo general dura de 1 a 3 días, al cabo de los cuales las escamas se cierran como resultado de su crecimiento (Niembro-Rocas, 1986). La mayoría de los granos de polen que entran a la cámara polínica inician su germinación unos días después, especialmente si la temperatura del óvulo es de 30° a 32° C (McWilliam, 1959); sin embargo, solo unos cuantos sobreviven y llegan a emitir su tubo polínico completamente en forma normal (Stockwell, 1939, citado por Niembro-Rocas, 1986).

El crecimiento del tubo polínico ocurre en completa oscuridad y posiblemente con baja concentración de oxígeno, debido a que el micrópilo se cierra después de terminada la polinización (McWilliam, 1960). El grano de polen crece muy lentamente durante los siguientes 11 meses posteriores a la polinización. Al llegar el invierno el crecimiento del tubo polínico se detiene para reanudarse en la primavera del siguiente año (Niembro-Rocas, 1986).

La única área forestal en México donde se monitorea continuamente ozono, además de la velocidad y dirección del viento, temperatura y radiación solar, es en el Parque Nacional Forestal "Desierto de los Leones", D. F., con información disponible desde 1990, a excepción de algunos periodos cortos de tiempo debido a reparación del equipo de monitoreo, a obras de mantenimiento o fallas en el suministro de energía eléctrica. Miller y colaboradores (1994) dieron a conocer los primeros datos del monitoreo de ozono y su influencia sobre la salud del bosque en dicha área forestal.

Con la ayuda de monitores pasivos se logró cuantificar la concentración promedio de ozono dentro de cada una de las tres áreas forestales del Valle de

México bajo estudio, durante un periodo de 18 meses (julio de 1997 a diciembre de 1998). La concentración de ozono registrada fue de 49 y 48 ppb en el Ajusco y en el Desierto de los Leones, D. F., respectivamente. En cambio en Zoquiapan, Méx., fue de 37 ppb, concentración menor a aquella observada en las otras dos localidades.

En las áreas forestales del sur de la Ciudad de México se ha observado el impacto negativo de los oxidantes fotoquímicos sobre la vegetación natural e introducida desde hace casi 30 años (Krupa y Bauer, 1976; Bauer y Hernández, 1986, Miller y colaboradores, 2002); sin embargo, hasta la fecha no se había señalado el efecto del ozono sobre la germinación y el alargamiento del tubo polínico de los granos de polen de *Pinus hartwegii*. Es posible que la reducción en la viabilidad de los granos de polen, inducida por los oxidantes fotoquímicos, sea una de las causas de la falta de regeneración natural en los bosques de pino del sur de la Ciudad de México.

El objetivo es determinar el efecto de la concentración de ozono y del tiempo de exposición sobre la germinación y el alargamiento del tubo polínico de los granos de polen de *Pinus hartwegii* Lindl de tres diferentes localidades forestales del Valle de México. La hipótesis sugerida es que el ozono atmosférico del Valle de México impacta negativamente al alargamiento del tubo polínico y la germinación de los granos de polen de *P. hartwegii*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Colecta y almacenamiento del polen de *Pinus hartwegii*

El polen se colectó en rodales naturales de *P. hartwegii* Lindl ubicados dentro del Valle de México, en tres áreas forestales conocidas: Ajusco, y Desierto de los Leones, en el D. F. y Zoquiapan, en el Estado de México.

El polen se extrajo de estróbilos masculinos maduros de árboles individuales localizados dentro de sitios de muestreo permanente. Los árboles se localizaron a tres diferentes elevaciones sobre el nivel del mar (estratos), dentro de cada una de las tres localidades en estudio (Cuadro III.1). Los estróbilos se colectaron y etiquetaron en campo a finales de abril de 1998; se transportaron al laboratorio en bolsas de papel y se mantuvieron a temperatura ambiente ($22 \pm 3^\circ \text{C}$) durante 7 días, hasta que el polen se tamizó y colocó en frascos individuales. Inmediatamente el polen se llevó a los laboratorios del Servicio Forestal Canadiense en Fredericton, New Brunswick, Canadá, donde se almacenó a 3.1°C , en frascos de vidrio de color ámbar de 100 ml, con las tapas flojas, mismos que se mantuvieron dentro de un desecador.

Pruebas de laboratorio: Medio de cultivo, temperatura y humedad

En mayo de 1998 se inició con algunas pruebas de laboratorio para encontrar el mejor medio de cultivo, así como las condiciones de temperatura y humedad relativa para evaluar la viabilidad de los granos de polen, y determinar las condiciones óptimas de desarrollo del polen de *P. hartwegii*.

El primer medio de cultivo evaluado fue agua destilada. Se utilizaron portaobjetos de vidrio excavados y planos donde se colocaron gotas de $50 \mu\text{l}$, a las que se les depositaron los granos de polen de diversos lotes. En ambos casos se tuvieron problemas para contar los granos germinados y para medir el alargamiento del tubo polínico, porque el polen se concentró en la parte más alta de la gota. Además, desde los primeros días hubo contaminación por hongos y bacterias.

Cuadro III.1. Localidad, coordenadas, estrato y número de lotes donde se colectó el polen de *P. hartwegii* del Valle de México.

| Localidad | Coordenadas | Estrato (altitud) | No. De lotes (árboles) |
|-------------------------------|-----------------------|---------------------|------------------------|
| Zoquiapan, Méx. | 19°19'24"N 98°43'08"W | Parte alta (3,320) | 3 |
| | 19°18'28"N 98°42'32"W | Parte media (3,240) | 3 |
| | 19°17'24"N 98°42'28"W | Parte baja (3,125) | 3 |
| Ajusco, D. F. | 19°13'44"N 99°14'52"W | Parte alta (3,400) | 2 |
| | 19°13'36"N 99°15'24"W | Parte media (3,225) | 2 |
| Desierto de los Leones, D. F. | 19°16'44"N 99°19'36"W | Parte alta (3,540) | 3 |
| | 19°16'20"N 99°19'34"W | Parte media (3,370) | 1 |

Después de probar varios medios de cultivo, el mejor fue la solución de Brewbaker (Brewbaker y Kwack, 1963) más un solidificante ("Gelrite", Marca Registrada por Merck and Co., Inc. Kelco Division, San Diego, CA, US), que permitió una excelente germinación y alargamiento del tubo polínico, además de su cuantificación de manera individual. La adición de Gelrite al medio de cultivo evitó la acumulación de los granos de polen en la parte alta de la gota.

Se prepararon 125 ml de cada solución madre, utilizando agua destilada mas 1.0 % de H_3BO_3 , 4.32 % de $Ca(NO_3)_2 \cdot 4 H_2O$, 4.08 % de $MgSO_4 \cdot 7 H_2O$ y 1.0 % de KNO_3 , manteniéndolas por separado y en refrigeración. Para preparar la solución Brewbaker se tomó 1 ml de cada solución madre y se aforó con agua destilada hasta 100 ml. El $Ca(NO_3)_2 \cdot 4 H_2O$ se agregó al final, con el fin de evitar su precipitación. Después se agregó 15 % de sacarosa y 0.05 % de "Gelrite". La solución se puso en autoclave durante 15 minutos a 121.4° C y 1.1669 kg cm^{-2} (16.6 psi). Posteriormente se agregaron 15 ppm de micostatin y 15 ppm de cloranfenicol, para evitar la proliferación de hongos y bacterias en el medio de cultivo.

Las condiciones óptimas de temperatura (25° C) y humedad relativa (95 %), para obtener el mejor porcentaje de germinación de los granos de polen y permitir el alargamiento óptimo del tubo polínico, se alcanzaron después de varios ensayos preliminares (Hernández-Tejeda, datos no publicados).

El polen se distribuyó homogéneamente con un pincel de pelo de camello sobre gotas de 50 µl de la solución de Brewbaker más el Gelrite. Se depositaron 2,000 granos de polen aproximadamente por portaobjeto. Se colocaron cuatro portaobjetos, previamente etiquetados, por caja de Petri.

Fumigación artificial de los granos de polen con ozono

Antes de iniciar los experimentos de exposición de los granos de polen al ozono, se aleatorizó la distribución de las cajas Petri que contenían la solución nutritiva mas el gelatinizante y el polen, dentro de las tres cámaras especiales de fumigación (Fig. III.1), una de las cuales sirvió como testigo. La humedad relativa se mantuvo a $95\pm 3\%$, para que el polen germinara y desarrollara su tubo polínico en óptimas condiciones durante la fumigación.

Las cajas Petri se destaparon 3 horas, inclusive las testigo en su respectiva cámara, con el objeto de que el polen y las gotas del medio de cultivo estuvieran expuestas a las mismas condiciones de temperatura y contenido de humedad. La temperatura al interior de las cámaras fue de $20\pm 1^{\circ}\text{C}$. Al terminar la exposición diaria del polen al ozono las cajas Petri se taparon permaneciendo dentro de la cámara de fumigación correspondiente a su tratamiento, durante toda la exposición.

Se llevaron a cabo dos experimentos paralelos de fumigación con ozono: en el primero, los granos de polen se fumigaron 3 horas diarias, durante 3 días, bajo los tratamientos siguientes: 0.03 (testigo), 0.20 y 0.30 ppm. En el segundo experimento se utilizaron las mismas concentraciones de ozono y el mismo tiempo de exposición diaria, pero se incrementó el periodo de exposición a 6 días consecutivos.

Las exposiciones con ozono se iniciaron el mismo día que se inoculó el polen sobre las gotas de medio de cultivo. La fumigación artificial, así como la temperatura y humedad relativa dentro de las cámaras se controlaron con un programa computarizado creado para tal efecto.

Al final del experimento, después de 144 horas se aplicaron 25 µl de ácido acético al 50 % a todas y cada una de las gotas de solución nutritiva, con el fin de

detener la germinación y el crecimiento natural del tubo polínico del polen expuesto al ozono. Posteriormente se hicieron los conteos de la germinación y la medición de la longitud del tubo polínico en todos y cada uno de los tratamientos.

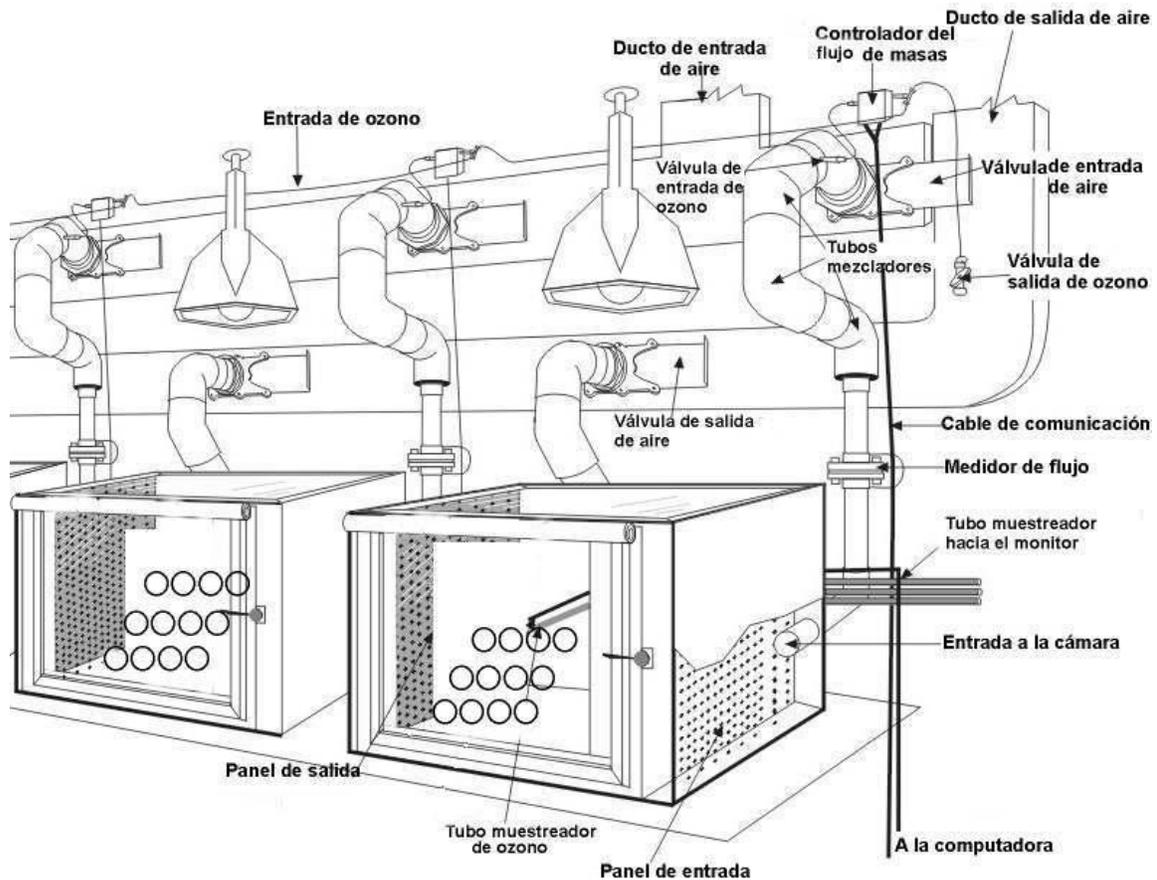


Figura III.1. Cámaras especiales de fumigación artificial con ozono. (Modificación con autorización del Dr. Roger M. Cox del Servicio Forestal Canadiense).

La germinación se determinó para todos los tratamientos en el 10 % del total de los granos de polen, con un microscopio de luz, en 5 diferentes campos y un ocular 10X. Se cuantificaron como germinados aquellos granos de polen con tubos germinativos mayores a su propio diámetro. La medición del tubo polínico se realizó en el 5 % del total de los granos de polen, con un microscopio de luz, en 10 diferentes campos, un ocular 10X y una tableta digitalizadora conectada a una computadora.

Análisis estadístico

Los valores del porcentaje de germinación en ambos ensayos se transformaron con la función arco-seno. Además, los valores del alargamiento del tubo polínico también se transformaron utilizando el logaritmo natural base 10. Los datos transformados y los no transformados de cada experimento se sometieron a un análisis de varianza por separado, que incluyó los factores dosis de ozono (0.03, 0.20 y 0.30 ppm), localidades (Ajusco, Desierto de los Leones y Zoquiapan) y estratos dentro de localidades (alto, medio y bajo), así como las interacciones entre otros factores. En el caso donde se encontraron efectos significativos se llevó a cabo una prueba de comparación de medias (Duncan Range Test).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Alargamiento del tubo polínico y porcentaje de germinación del polen

El análisis de varianza (ANOVA) del alargamiento del tubo polínico (AT) y del porcentaje de germinación (%G) de los granos de polen fumigados con ozono, mostró la existencia de diferencias estadísticas significativas y altamente significativas únicamente entre tratamientos, a excepción del porcentaje de germinación con el tratamiento de 3 días, tanto con los datos originales como con los transformados en ambos ensayos de fumigación. No se observaron diferencias entre localidades, ni estratos o elevaciones de colecta, y tampoco se detectó una interacción significativa entre los factores considerados (Cuadro III.2).

Cuadro III.2. Cuadrados medios (CM) y grados de libertad (gl) del análisis de varianza para el porcentaje de germinación (%G) y el alargamiento del tubo polínico (AT) de los granos de polen de *P. hartwegii* fumigados con ozono durante 3 ó 6 días consecutivos.

| Factor de variación | gl | CM | | | |
|---------------------|----|--------|------------|------------|-----------|
| | | 3 días | | 6 días | |
| | | %G | AT | %G | AT |
| Tratamiento (T) | 2 | 159.15 | 7,820.81** | 5,124.71** | 7,004.95* |
| Localidad (L) | 2 | 75.58 | 686.86 | 195.78 | 2,375.60 |
| T * L | 4 | 23.99 | 225.36 | 91.95 | 258.75 |
| Estrato (E) / (L) | 4 | 183.42 | 1,193.80 | 215.66 | 751.86 |
| E * T / (L) | 8 | 7.18 | 795.67 | 103.16 | 625.77 |
| Error | 30 | 84.10 | 1,097.46 | 322.53 | 1,687.72 |
| C V (%) | | 11.23 | 28.76 | 27.93 | 35.65 |

*Significativo ($P \leq 0.05$). **Altamente significativo ($P \leq 0.01$). C V = Coefic. de variación.

Al hacer la transformación de los datos, el coeficiente de variación se redujo; sin embargo, la comparación de medias con ambos tipos de datos produjo un comportamiento igual en los resultados y su significancia, razón por la cual se presentan los datos originales sin transformar.

De acuerdo con el análisis de varianza, los resultados indican que no se hallaron diferencias significativas entre las localidades, ni entre los estratos, ni

tampoco hubo una interacción significativa de dichos factores con los tratamientos de fumigación (Cuadro III.2), por lo que se puede concluir que el ozono afecta de igual manera la capacidad reproductiva del polen de pino de las tres localidades en estudio, independientemente del lugar o estrato donde se colectó.

Porcentaje de germinación durante 6 y 3 días de fumigación con ozono

Las diferencias mínimas significativas de los tratamientos, de acuerdo con la prueba de Duncan ($\alpha = 0.05$), indican que la aplicación de 0.30 ppm de ozono durante 6 días consecutivos redujo a 45 % la germinación de los granos de polen en comparación con el testigo que mostró el 79 %; en cambio, con la aplicación de 0.20 ppm, no se observaron diferencias significativas, a pesar de apreciarse una ligera reducción en la capacidad germinativa que es del orden de 67 %. Por otra parte, durante el periodo de fumigación de 3 días consecutivos no se observaron diferencias significativas en el %G bajo ningún tratamiento (Cuadro III.3).

Cuadro III.3. Valores promedio del porcentaje de germinación (%G) y el alargamiento del tubo polínico en μ (AT) de los granos de polen de *P. hartwegii* fumigados con diferentes concentraciones de ozono durante 3 ó 6 días consecutivos.

| Concentración de ozono (ppm) | 3 días | | 6 días | |
|------------------------------|--------|-------|--------|---------|
| | %G | AT | %G | AT |
| 0.03 | 84 a | 133 a | 79 a | 133 a |
| 0.20 | 81 a | 120 a | 67 a | 119 a b |
| 0.30 | 78 a | 91 b | 45 b | 93 b |
| DMS (5 %) | 6.7 | 24 | 13.2 | 30 |

Valores promedio seguidas por letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre ellas

Alargamiento del tubo polínico en 6 y 3 días de fumigación con ozono

Las diferencias mínimas significativas de los tratamientos, de acuerdo con la prueba de Duncan ($\alpha = 0.05$) señalan que la aplicación de 0.30 ppm de ozono durante 6 días consecutivos reduce el alargamiento del tubo polínico de los granos de polen hasta 93 μ , en comparación con el testigo que mostró una longitud promedio de 133 μ . La exposición con 0.20 ppm también difirió del testigo, ya que mostró una reducción del

alargamiento que fue del orden de 119 μ . Por otra parte, durante el periodo de 3 días consecutivos, sólo con el tratamiento de 0.30 ppm se observó una reducción significativa en el alargamiento del tubo polínico que fue del orden de 91 μ , en comparación con el testigo que fue 133 μ . Con 0.20 ppm el alargamiento no manifestó alguna diferencia significativa respecto al testigo (Cuadro III.3).

Correlación entre germinación y alargamiento del tubo polínico

Si se observa con cuidado el Cuadro III.3, es claro que los datos del porcentaje de germinación de los granos de polen a los 3 y 6 días no son similares, como en el caso del alargamiento del tubo polínico.

Aparentemente el porcentaje de germinación es afectado drásticamente cuando el tiempo de exposición y la concentración de ozono aumentan en forma simultánea; consecuentemente, es posible sugerir que el tiempo sea el factor determinante sobre la germinación del polen. Sin embargo, al incrementarse la concentración de ozono, el tratamiento de 6 días manifestó una reducción más drástica en la capacidad germinativa del polen que aquel sometido a una fumigación de 3 días (Cuadro III.3).

El alargamiento del tubo polínico mostró el mismo comportamiento al ser fumigado artificialmente durante 3 o 6 días con las mismas concentraciones de ozono. El crecimiento del tubo mostró una reducción similar cuando se expuso a 0.30 o 0.20 ppm, independientemente del tiempo total de exposición (Cuadro III.3).

No existen otros estudios sobre el porcentaje de germinación y el crecimiento del tubo polínico de los granos de polen de los pinos, bajo dosis acumuladas de ozono durante varios días consecutivos de fumigación artificial, pero muy en especial de *P. hartwegii*, por lo que estos resultados son los primeros que dan a conocer el comportamiento de esta especie al ser sometida a tratamientos de fumigación artificial con ozono.

Benoit y colaboradores (1983) observaron que en el polen de *P. strobus*, sometido a fumigaciones con ozono ocurrió una reducción en el porcentaje de

germinación de los granos de polen húmedos, a dosis de 0.15 ppm de ozono durante 4 horas, pero sin afectar la longitud de los tubos polínicos. Sin embargo, dichos autores mencionan que la misma dosis de ozono no redujo la germinación del polen en seco. Del mismo modo, Kormutak y colaboradores (1994) al fumigar granos de polen de *Abies balsamea* con ozono observaron que la germinación de los granos de polen fue más sensible que el crecimiento del tubo polínico.

Los resultados de este trabajo coinciden con los de otros investigadores, respecto a la sensibilidad de la capacidad germinativa de los granos polen al ozono. Así que de acuerdo con lo anterior, se concluye que la germinación de los granos de polen de *P. hartwegii* del Valle de México es más sensible al daño por ozono que el crecimiento del tubo polínico.

Implicaciones de las altas concentraciones de ozono atmosférico

Quizá durante el periodo en que los granos de polen están germinando y emitiendo su tubo polínico es cuando manifiestan su mayor sensibilidad al ozono; sin embargo, debido al poco intercambio de gases con el ambiente (McWilliam, 1960), se reduce el efecto directo. No así antes del proceso de polinización, ya que en la mayoría de los pinos el desarrollo completo de las flores masculinas dura un año aproximadamente (Niembro-Rocas, 1986).

Asimismo, no solo los granos de polen podrían ser afectados por el ozono, sino también las flores femeninas, antes, durante y después de la polinización. Bramlett y colaboradores (1977) mencionan que se requiere de 12 a 16 meses después de la polinización, de acuerdo con la especie de pino, para que el tubo polínico se alargue lo suficiente y fertilice el óvulo, tiempo suficiente para que las concentraciones de ozono presentes en los sitios de estudio puedan afectar el desarrollo normal del proceso de formación de la semilla de *P. hartwegii*.

Es muy probable que los cambios en los procesos reproductivos sean complejos, involucrando una serie de eventos durante la gametogénesis y el posterior desarrollo reproductivo. Sin embargo, uno de los efectos directos parece

ser una reducción en la viabilidad del polen y por lo tanto en la eficiencia reproductiva (Cox, 1988, 1989 y 1992).

Consecuentemente, bajo condiciones naturales y de acuerdo con los resultados encontrados en este estudio bastan 6 días consecutivos para que se reduzca significativamente el porcentaje de germinación de los granos de polen.

Por otra parte, existe una pobre o nula regeneración natural en los bosques de *P. hartwegii* debido a causas tan comunes como sobre-pastoreo, incendios, colecta excesiva de semilla, tala ilegal de los mejores árboles, ineficiente combate de plagas y enfermedades forestales y falta de un plan estratégico de manejo forestal. Además, la escasa regeneración natural en los bosques de la especie en estudio podría deberse también a un posible desfase entre la producción del polen y la receptividad de las flores femeninas; es decir, cabe la posibilidad de que el polen madure y se disperse un poco antes o un poco después que las flores femeninas estén receptivas.

Como complemento a este estudio se recomienda: 1) Iniciar la germinación de los granos de polen 72 horas antes de ser expuestos a las diferentes concentraciones de ozono, con el fin de evitar un posible sesgo debido a la naturaleza propia del proceso de germinación del polen en condiciones naturales, y 2) Evaluar la germinación y el alargamiento del tubo polínico diariamente, durante todo el periodo de fumigación con ozono, con el objeto de restringir el efecto de una posible recuperación de los granos de polen. Finalmente, se sugiere realizar un experimento para determinar el impacto del ozono sobre la producción y dispersión del polen de las especies forestales mexicanas más importantes.

De acuerdo con los resultados obtenidos se confirma que ocurre un impacto negativo del ozono sobre los granos de polen de *P. hartwegii* del Valle de México, específicamente sobre la germinación y el alargamiento del tubo polínico.

Monitoreo del ozono atmosférico en la Zona Metropolitana del Valle de México

La Secretaría del Medio Ambiente del Gobierno de la Ciudad de México, a través de su página WEB, da a conocer la concentración de los contaminantes atmosféricos más importantes, entre los que destaca el ozono por su abundancia y distribución; sin embargo, poco se sabe de las concentraciones de ozono presentes en las áreas forestales que rodean a la Ciudad de México. En el año de 1997 el valor máximo, mínimo y promedio de ozono de la segunda concentración máxima anual en seis estaciones de monitoreo de la ZMVM fue de 0.30, 0.20 y 0.25 ppm, respectivamente. Desde 1998 se ha observado una ligera tendencia a la baja de las concentraciones de ozono registradas diariamente; sin embargo, se continúa rebasando la norma de calidad del aire durante más del 90% de los días del año (INEGI, 1999).

La concentración de ozono en los bosques del sur de la Cuenca Ciudad de México es muy variable y depende del movimiento de las masas de aire que acarrearán el ozono atmosférico. Debido a la falta de infraestructura eléctrica para monitorear ozono en áreas remotas, se tomó la decisión de utilizar monitores pasivos con el fin de cuantificar las concentraciones de ozono en El Ajusco y Desierto de los Leones, donde se registraron concentraciones promedio relativamente bajas, del orden de 49 y 48 ppb, respectivamente (Fig. 1.3), en comparación con aquellas que ocurren comúnmente en las horas pico dentro de la ciudad, lo que significa que la vegetación en general, pero muy en especial los pinos, son potencialmente afectados por el ozono generado en la Ciudad de México y transportado por el viento hasta los bosques que la rodean.

CONCLUSIONES

Los granos de polen de *P. hartwegii* del Valle de México son afectados por el ozono con la misma intensidad, sin importar la localidad o elevación de procedencia.

La aplicación de 0.30 ppm de ozono durante tres horas diarias por un periodo de seis días consecutivos redujo significativamente ($P \leq 0.05$) la germinación de 79 a 45 % y el crecimiento del tubo polínico de 133 a 93 μ de los granos de polen.

A mayor concentración de ozono y a mayor tiempo de exposición, se observó un daño más severo sobre la germinación y el alargamiento del tubo polínico de los granos de polen.

La germinación es más sensible al impacto del ozono que el alargamiento del tubo polínico de los granos de polen.

LITERATURA CITADA

- Bauer, L. I. de; T. Hernández-Tejeda. 1986. Contaminación: Una amenaza para la vegetación en México. Colegio de Postgraduados. Chapingo, México. 84 p.
- Benoit, L. F.; J. M. Skelly; L. D. Moore; S. Dochinger. 1983. The influence of ozone on *Pinus strobus* L. pollen germination. Can. J. For. Res. 13:184-187.
- Bramlett, D. L.; E. W. Belcher; G. L. DeBarr; G. D. Hertel; R. P. Karrfalt; C. W. Lantz; T. Miller; K. D. Ware; H. O. Yates. 1977. Cone analysis of southern pines: A guidebook. GTR SE-13. USDA-Forest Service. Southern Forest Experiment Station. Asheville, NC. USA. 28 p.
- Brewbaker, J. L.; B. N. Kwack. 1963. The essential role of calcium ion in pollen germination and pollen tube growth. American Journal of Botany 50:859-869.
- Cox, R. M. 1983. Sensitivity of forest plant reproduction to long range transported air pollutants: *In vitro* sensitivity of pollen to simulated acid rain. New Phytologist 95:269-276.
- Cox, R. M. 1985. Determination of the sensitivity of pollination processes of different forest flora species to simulated rain. Report for the Canadian Forest Service. Contract Serial Number OSc81-00083. University of Toronto. Toronto, Canada. 44 p.
- Cox, R. M. 1987. The response of plant reproductive processes to acidic rain and other air pollutants. *In: Effects of atmospheric pollutants on forests, wetlands and agricultural ecosystems.* Hutchinson, T. C. and Meema, K. M. (Eds). Springer-Verlag. Berlin, Heidelberg, Germany. pp.155-170.
- Cox., R. M. 1988. The sensitivity of pollen from various coniferous and broad-leaved trees to combinations of acidity and trace metals. New Phytologist 109:193-201.
- Cox, R. M. 1989. Natural variation in sensitivity of reproductive processes in some boreal forest trees to acidity. *In: Genetic effects of air pollutants in forest tree*

- populations. Scholds, F.; Gregorious, R.; Rudin, D. (Eds). Springer-Verlag. Berlin, Heidelberg, Germany. pp. 77-88.
- Cox, R. M. 1992. The effects of wet deposition chemistry on reproductive processes in two species: Apparent pollination effectiveness in relation to species pollen sensitivity. *Water, Air, and Soil Pollution* 62:213-226.
- Feder, W. A. 1968. Reduction in tobacco pollen germination and tube elongation, induced by low levels of ozone. *Science* 160:1122.
- Feder, W. A.; F. Sullivan. 1969. Differential susceptibility of pollen grains to ozone injury. *Phytopathology* 59:399.
- Harrison, B. H.; W. A. Feder. 1974. Ultrastructural changes in pollen exposed to ozone. *Phytopathology* 64:257-258.
- INEGI. 1999. Estadísticas del medio ambiente del Distrito Federal y área metropolitana 1999. Talleres Gráficos del INEGI. Aguascalientes, México. 231 p.
- Kormutak, A.; J. Salaj; B. Vookova. 1994. Pollen viability and seed set of silver fir (*Abies alba* Mill.) in polluted areas of Slovakia. *Silvae Genetica* 43:68-73.
- Krupa, S. V.; L. I. de Bauer. 1976. La ciudad daña los pinos del Ajusco. *Panagfa* 4:5-7. México.
- McWilliam, J. R. 1959. Effect of temperature on pollen germination of *Pinus* and its bearing on controlled pollination. *Forest Science* 5:10-17.
- McWilliam, J. R. 1960. Pollen germination of *Pinus* as affected by the environment. *Forest Science* 6:26-39.
- Miller, P. R.; L. I. de Bauer; A. Quevedo; T. Hernández-Tejeda. 1994. Comparison of ozone exposure characteristics in forested regions near Mexico City and Los Angeles. *Atmospheric Environment* 28:141-148.
- Miller, P. R.; L. I. de Bauer; T. Hernández-Tejeda. 2002. Oxidant exposure and effects on pine forests in the Mexico City and Los Angeles, California air basins. *In: Urban Air Pollution and Forests: Resources at Risk in the Mexico*

- City Air Basin. Ecological Studies 156. M. E. Fenn, L. I. Bauer, and T. Hernández-Tejeda (Eds). Springer-Verlag. New York, USA. pp. 335-351.
- Mirov, N. T. 1969. The genus *Pinus*. Ronald Press Co. New York, US. 413 p.
- Mumford, R. A.; H. Lipke; D. A. Laufer; W. A. Feder. 1972. ozone-induced changes in corn pollen. Environ. Sci. Technol. 6:427-430.
- Niembro-Rocas, A. 1986. Mecanismo de reproducción sexual en pinos. Editorial Limusa. México. 130 p.
- Percy, K.; J. Bucher; J. Kape; M. Ferretti; R. Heath; H. E. Jones; D. Karnosky; R. Matyssek; G. Muller-Starck; E. Paoletti; U. Rosengren-Brinck; L. Sheppard; J. Skelly; G. Weetman. 1999. State of science and knowledge gaps with respect to air pollution impacts on forests: Reports from concurrent IUFRO 7.04.00 working party sessions. Water, Air, and Soil Pollution 116:443-448.
- Smith, W. H. 1981. Air pollution and forests: Interactions between air contaminants and forest ecosystems. Springer-Verlag, New York, USA. 379 p.
- Wolters, J. H. B.; M. J. M. Martens. 1987. Effects of air pollutants on pollen. The Botanical Review 53:372-414.