



00376
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

**MEDICION DE LA EMISION
DE ISOPRENO Y MONOTERPENOS
EN CINCO RAZAS DE MAIZ**

(Cónico, Chalqueño, Zapalote Grande,
Tuxpeño y Celaya).

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADEMICO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

(Ecología y ciencias Ambientales)

PRESENTA:

MIREYA ATZALA IMAZ GISPERT

FALLA DE ORIGEN 1995

DIRECTOR DE TESIS: DR. LUIS GERARDO RUIZ SUAREZ



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

A
Imanol,
Amaya
e
Imanoltxu

por ser,
cada uno a su modo,
ruido que no cesa.

Agradecimientos

Este proyecto se desarrolló en la Earth Division del NASA- Ames Research Center de California. Esta institución aportó el material y equipo necesarios para el muestreo y el análisis de laboratorio indispensables para desarrollar la investigación.

La dirección de esta tesis estuvo a cargo del Dr. Gerardo Ruíz del Laboratorio de Radiación y Físicoquímica Atmosférica del Departamento de Ciencias Ambientales del Centro de Ciencias de la Atmósfera (UNAM), bajo la asesoría y colaboración de la Dra. Pamela Matson y del Dr. Pete Palmer, investigadores del NASA-Ames Research Center y de la tutoría del Dr. Jorge Meave del Laboratorio de Ecología de la Facultad de Ciencias (UNAM).

Este trabajo formó parte del Programa Universitario del Medio Ambiente (PUMA) de la UNAM, y para su realización contó con apoyo de la Secretaría Técnica para la Prevención y Control de la Contaminación de la Zona Metropolitana del Departamento del Distrito Federal y el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT).

Quiero agradecer a Pamela Matson y Pete Palmer, quienes me ofrecieron, no sólo un lugar en su laboratorio, sino una invaluable colaboración, asesoría y amistad. También a Tina Bilow y Jerry Mazurko, que me ayudaron a conseguir algunos de los implementos y materiales necesarios para poder llevar adelante el trabajo. A mucha gente de NASA-Ames que de una u otra manera colaboraron en resolver dudas, trabas, etc. les expreso mi más profundo agradecimiento.

De manera muy especial quiero agradecer a Gerardo Ruíz-Suárez por su apoyo y asesoría durante todo el tiempo que ha llevado la realización de este estudio.

A mis sinodales Dr. Carlos Gay, Dra. Amparo Martínez, Dr. Gerardo Ruíz-Suárez, Dra. Irma Rosas, Dr. Jorge Meave, Dra. Pamela Matson y

Dr. Omar Masera por las correcciones que me han hecho con el fin de generar una versión más clara de mi tesis. Les agradezco el tiempo que han dedicado a leer cuidadosamente este trabajo y hacer sus comentarios y sugerencias.

A la Dra. Telma Castro por las múltiples revisiones que realizó al texto. Sus comentarios y observaciones siempre fueron de valiosa ayuda para ir dando coherencia y solidez al trabajo escrito.

Y finalmente, pero no menos importante, agradezco a mi familia por su apoyo y empuje permanente para poder sacar adelante la maestría y haber podido realizar el trabajo que sustenta esta tesis.

junio de 1995.

Índice general.

Agradecimientos.

Índice de tablas y figuras. _____ 7

Resumen _____ 9

I. Introducción _____ 10

I.1. Supuestos e hipótesis del papel del isopreno y los monoterpenos en la calidad del aire _____ 10

I.2. Tasas de emisión de hidrocarburos biogénicos en especies vegetales presentes en la Ciudad de México. _____ 11

II. Objetivos _____ 13

II.1. Objetivos Generales _____ 13

II.2. Objetivos Particulares _____ 13

III. Antecedentes _____ 14

III.1. Las emisiones biogénicas de hidrocarburos no metano: un enlace más entre la biosfera y la atmósfera. _____ 14

III.2. Emisión de los hidrocarburos biogénicos. _____ 21

III.3. Los hidrocarburos biogénicos: isopreno y monoterpenos. _____ 24

III.3.1 El Isopreno (C_5H_8). _____ 26

III.3.1.1 La biosíntesis de isopreno. _____ 27

III.3.1.2 La emisión de Isopreno. _____ 29

III.3.2. Los Monoterpenos ($C_{10}H_{16}$). _____ 30

III.3.2.1. La biosíntesis de monoterpenos _____ 32

III.3.2.2. Lugar de síntesis, almacenamiento y emisión de monoterpenos _____ 35

III.4. Técnicas para el muestreo de hidrocarburos biogénicos _____ 40

III.4.1. Técnicas de encierro. _____ 40

III.4.2. Técnicas de flujo dinámico. _____ 41

III.4.2. Sistemas abiertos. _____ 41

IV. La importancia de las Emisiones de hidrocarburos biogénicos en la calidad del aire.	44
IV. 1. El caso de la Ciudad de México.	49
V. Materiales y Método	52
V.1 Procedimiento para la captura y determinación de isopreno y monoterpenos.	53
V.1.1. Sistema de obtención y análisis de los datos	55
V.1.1.1 Material Vegetal.	55
V.1.1.2. Técnica de encierro dinámico con flujo de aire ambiental incorporado a través de un sistema de filtración con carbón activado.	56
V.1.1.2.1. Volúmenes y flujos de colecta	59
V.1.1.2.3. Colectores de muestra.	63
V.1.1.3. Sistema de desadsorción térmica (TD).	63
V.1.1.4. Sistema de análisis cualitativo y cuantitativo a través de cromatografía de gases y espectrometría de masas (GC/MS).	64
VI. Resultados y Discusión.	67
Literatura Citada	77

Índice de tablas y figuras.

<i>Tabla 1. Producción de CO a partir de diferentes fuentes.</i>	18
<i>Tabla 2 Comparación entre la velocidad de reacción de algunos gases traza.</i>	19
<i>Tabla 3. Factores de emisión de hidrocarburos biogénicos en diversas especies vegetales.</i>	22
<i>Tabla 4. Vidas promedio de los monoterpenos más frecuentemente registrados en las emisiones foliares, en función de su capacidad reactiva con diferentes compuestos atmosféricos y sus constantes de reacción en cm³/moléculas.</i>	31
<i>Tabla 5. Emisiones estimadas de hidrocarburos biogénicos en la Ciudad de México.</i>	51
<i>Tabla 6. Información sobre las semillas de maíz empleadas en este trabajo.</i>	53
<i>Tabla 7. Mediciones para establecer la relación entre el flujo de aire generado por la bomba y los números del controlador de voltaje. Equipo: Powerstat type 3PN116. Superior electrical CO. OutV 0-140 Max Amp 7.5 50/60 PH1 Flujoómetro SUPELCO 500ml. Mediciones realizadas a -100 ml. Datos tomados en el invernadero.</i>	58
<i>Tabla 8. Datos tomados en el Laboratorio.</i>	58
<i>Tabla 9. Equipo: Scientific Products E21001 in 120 V 50/60 Ph1 Output 0-140V Max Amp 7.5. Datos tomados en laboratorio.</i>	58
<i>Tabla 10. Relación entre los tiempos de muestreo requeridos para alcanzar un volumen y tasa de flujo que no sobrepasen el requerimiento señalado en la metodología de EPA de un valor de B = 500.</i>	61
<i>Tabla 11. Temperaturas y tiempos requeridos para condicionar los colectores de muestra</i>	63
<i>Tabla 12. Lista de compuestos de los cuales se prepararon estándares.</i>	65
<i>Tabla 13. Emisión estimada de isopreno y monoterpenos en cinco razas de maíz.</i>	67
<i>Tabla 14. Resultados del análisis de emisiones de isopreno y monoterpenos en cinco razas mexicanas de maíz.</i>	68
<i>Tabla 15. Análisis de varianza para la correlación completa de todas las variables ambientales.</i>	72
<i>Tabla 16. Factores de Emisión con ajuste de temperatura (30 oC) e intensidad solar (800 $\mu\text{E}/(\text{m}^2 \text{ s})$).</i>	73
<i>Tabla 17. Emisiones de hidrocarburos biogénicos en maíz.</i>	74
<i>Figura 1. Variación en la emisión de hidrocarburos biogénicos en función de la temperatura. a) Latifoliadas, particularmente encinos. b) Coníferas, particularmente pinos</i>	16
<i>Figura 2. Representación esquemática de la interacción del isopreno emitido por las plantas con otros compuestos presentes en la tropósfera.</i>	20
<i>Figura 3. El isopreno y su relación con otros terpenos Fuente: Kramer y Kozłowski, 1979.</i>	24
<i>Figura 4. Modelo de la ruta ácido mevalónico en la síntesis de isopreno.</i>	28

<i>Figura 5. Modelo del control de la producción y emisión de monoterpenos en las plantas. El modelo muestra el control sobre la formación de los precursores de los monoterpenos, el acervo de terpenos, el flujo a la atmósfera y la competencia interna por el uso del carbono (adaptado de Lerdau, 1991).</i>	33
<i>Figura 6. Concentraciones de volátiles orgánicos, óxidos de nitrógeno y ozono en la capa límite de la atmósfera en cuatro localidades. Los VOCs aparecen como concentración de propy-equiv en unidades de ppb de carbono. (Tomado de NRC, 1991).</i>	48
<i>Figura 7. Sistema colector de volátiles orgánicos en plantas.</i>	57
<i>Figura 8. Diagrama del sistema de colecta y análisis de datos.</i>	65
<i>Figura 9. Emisión de isopreno en las cinco razas de maíz (cónico, chalqueño, tuxpeño, zapalote grande y celaya).</i>	69
<i>Figura 10. Cromatograma de una muestra de las emisiones foliares de maíz, en el que se observa claramente el pico correspondiente a isopreno. Sólo se muestran los barridos de 0 a 100.</i>	70
<i>Figura 11. Espectro de masas de isopreno. Barrido No 86; tiempo de retención 1:26; pico base 67.</i>	70
<i>Figura 12. Espectro de masas del canfeno. Barrido No 645 tiempo de retención 10:45; pico base 93.</i>	71
<i>Figura 13. Espectro de masas de α-pineno. Barrido No 609 tiempo de retención 10:08; pico base 93.</i>	71
<i>Figura 14. Cromatograma de una muestra de las emisiones foliares de maíz, en el que se observan claramente los picos correspondientes a α-pineno y canfeno. Sólo se muestran los barridos de 400 a 800.</i>	72

Resumen.

En esta tesis se determinan las tasas de emisión de isopreno en cinco razas de maíz mexicano (cónico, chalqueño, tuxpeño, celaya y zapalote grande). Se encontraron tasas y patrones diferentes en las emisiones de las razas. Todas las razas registraron una baja emisión de isopreno. La raza zapalote grande registra una tasa de emisión de $0.00057 \mu\text{g g peso seco}^{-1} \text{h}^{-1}$; cónico de $0.0021 \mu\text{g g peso seco}^{-1} \text{h}^{-1}$; celaya de $0.00047 \mu\text{g g peso seco}^{-1} \text{h}^{-1}$; tuxpeño de $0.00003 \mu\text{g g peso seco}^{-1} \text{h}^{-1}$ y para la raza chalqueño no es posible determinar la emisión pues se encuentra por debajo de los niveles de detección del sistema. Además del isopreno, se pudo determinar la presencia de los monoterpenos α -pineno y canfeno, sin embargo las concentraciones no son cuantificables por la razón antes señalada.

Para la obtención de estas tasas se generó un sistema de muestreo basado en un flujo dinámico a través del encierro de una hoja, lo cual permitió capturar las emisiones de las hojas de maíz sin causar daño a las mismas, ni producir alteraciones en la humedad de la cámara de colecta. Los volátiles orgánicos fueron capturados en cartuchos de CARBOTRAP-300. La determinación de los compuestos capturados se realizó a través de un sistema de desadsorción térmica de volátiles, y un análisis vía cromatografía de gases y espectrometría de masas (TD/GC/MS).

Los resultados reseñados en este trabajo difieren enormemente, ya que se encuentran entre 3 y 4 órdenes de magnitud por debajo, de las tasas de emisión asignadas al maíz en el inventario de emisiones biogénicas de la Agencia de Protección al Ambiente (EPA) de los Estados Unidos. Así mismo, coincide con el trabajo de Sharkey *et al.* (1993) en que el maíz puede ser considerado una "planta limpia" en los inventarios de emisiones y su impacto en la calidad del aire.

I. Introducción.

I.1. Supuestos e hipótesis del papel del isopreno y los monoterpenos en la calidad del aire .

Hasta ahora en México, al igual que en muchos países, las emisiones biogénicas de hidrocarburos no metano (EBHNM) se han considerado despreciables en cuanto a la calidad del aire de las zonas urbanas y semiurbanas. La hipótesis que sustenta el presente trabajo, del cual no existen antecedentes en nuestro país, es que la zona de cultivos y la vegetación rural y urbana, que rodean o están inmersas en la Zona Metropolitana de la Ciudad de México (ZMCM) pueden estar jugando un papel importante en la determinación de la calidad del aire, básicamente en las zonas concentradas hacia el sur donde se presentan importantes áreas de vegetación y donde se registran niveles altos de contaminantes a lo largo del día.

Los vientos dominantes en el Valle de México transportan una gran cantidad de contaminantes y los encajonan en el cuadrante denominado Sur-Oeste. Este transporte puede estar jugando diversos papeles en la acumulación de los contaminantes en esta zona. El trabajo de Sillman, Logan y Wofsy (1990) sobre la sensibilidad del ozono a la presencia de los óxidos de nitrógeno (NOx) e hidrocarburos, señala que los NOx provenientes de las plumas urbanas contribuyen significativamente a la actividad fotoquímica de las áreas rurales, al reaccionar con los hidrocarburos biogénicos. Esto nos permite proponer que la presencia de concentraciones mayores a 0.1 ppb (partes por billón) de NOx en la zona sur, puede estar incidiendo en la generación local de ozono, cuyas concentraciones han conducido a más de mil violaciones a la norma al año desde 1987. (la norma SEDUE¹ es de 0.11 ppm/1hora/año). Esto significa que la concentración de ozono está más de mil horas al año por encima del nivel considerado tolerable para la salud.

¹Secretaría de Desarrollo Urbano y Ecología. A partir de 1992 Secretaría de Desarrollo Social (SEDESOL).

I.2. Tasas de emisión de hidrocarburos biogénicos en especies vegetales presentes en la Ciudad de México.

La calidad del aire de la ZMCM ha empeorado gravemente en los últimos años. Si bien en 1994 y lo que va de 1995, se han presentado menos "episodios" (emergencias) de ozono, las concentraciones siguen estando, con mucho, por encima de la norma (DDF-RAMA, 1995). Las estrategias para disminuir los niveles de ozono sustentadas en la disminución de las emisiones antropogénicas de hidrocarburos, al igual que en otras ciudades del mundo, han sido infructuosas. Como se mencionó anteriormente, una de las razones que puede estar afectando los niveles de concentración de este contaminante es que la generación antropogénica de precursores como los NOx y su transporte aéreo a través de la ciudad en dirección Norte-Sur pueden estar jugando, junto con las emisiones biogénicas de hidrocarburos, un papel importante en los elevados índices de ozono medidos en los cuadrantes del sur. Por ejemplo, en el sur oeste el promedio mensual del mes de febrero de 1995 fue de 0.196 ppm de ozono, equivalente a 170 puntos IMECA; y para el mismo periodo en el sur este tenemos un promedio de 0.152 ppm de ozono, equivalente a 134 puntos IMECA (DDF-RAMA, 1995).

Datos preliminares (Ruiz, *et al.*, 1994) indican que la suma de las emisiones de diferentes fuentes biológicas (coníferas, pastizal, matorral, agrícola misceláneo y maíz), pueden significar hasta un 30% del total de las emisiones antropogénicas.

Las emisiones biogénicas de hidrocarburos no metano son fuertemente dependientes de la luz y la temperatura, así como de la especie o ecotipo vegetal, de ahí la importancia de determinar las tasas de emisión asociadas a condiciones geográficas, vegetativas y meteorológicas locales. Es posible que los valores preliminares de Ruiz *et al.* (1994), basados en tasas de emisiones obtenidas en la literatura, deban ser corregidos por correcciones debido a la particularidad de las especies, las temperaturas más cálidas y homogéneas, así

como a la mayor insolación que se tiene en las latitudes en las que se encuentra México.

En virtud de que no existen estimaciones sobre las tasas locales de emisión de isopreno y monoterpenos en nuestro país, se decidió iniciar la investigación en este campo, a través de la obtención de éstas en cinco razas de una de las especies más importantes de cultivo que aún subsisten en los alrededores de la ciudad de México: el maíz. Como primer paso se identificaron algunas especies de hidrocarburos que emiten estas razas. El maíz ha sido y sigue siendo un cultivo importante en la cuenca del Valle de México. Sin embargo, no sólo razones de índole cultural demandan hacer una evaluación específica de este cultivo. Tanto su extensión cultivada en los alrededores de la Ciudad de México que alcanza las 13, 000 ha (INEGI, 1991) como sus elevadas tasas de emisión citadas en la literatura, lo hacen especialmente atractivo para iniciar las pruebas de la hipótesis aquí manejada. La tasa de emisión indicada por la Agencia de Protección al Ambiente de los Estados Unidos (EPA, 1991) para agrícola en general es de $37.9 \mu\text{g m}^{-2} \text{h}^{-1}$, mientras que para el maíz en particular es de $3,542 \mu\text{g m}^{-2} \text{h}^{-1}$ (equivalente a $2.35 \mu\text{g g peso seco}^{-1} \text{h}^{-1}$). Usando estos valores de emisión y los datos de cobertura de maíz del censo de 1990 (INEGI, 1991) la estimación de la contribución de compuestos altamente reactivos a la atmósfera por parte de este cultivo alcanzaban valores de hasta $460.46 \text{ kg hr}^{-1}$ de terpenos, equivalente al 5% de las emisiones estimadas para la Ciudad de México (Ruiz, *et al.* 1994).

Otra de las razones por las que se seleccionó el maíz, es que a diferencia de las comunidades arbóreas que rodean a la ciudad, los sembradíos de maíz son susceptibles, en caso de encontrarse un alto riesgo en su cultivo, de ser sustituidos por cultivos que no entrañen estas complicaciones.

II. Objetivos.

II.1. Objetivos Generales

Esta tesis se enmarca dentro de un proyecto más amplio del análisis de la contribución de las emisiones biogénicas de hidrocarburos a la composición de la atmósfera. Dentro de este marco, los objetivos generales que abarca este trabajo se centran en la contribución al conocimiento de las emisiones de hidrocarburos biogénicos reactivos en el Valle de México y en la determinación de la importancia de las emisiones de hidrocarburos no metano del maíz, en la generación de ozono en la Ciudad de México.

II.2. Objetivos Particulares

Con los objetivos particulares de esta tesis se pretende conocer las especies de hidrocarburos no metano y los porcentajes de las mismas en las emisiones de compuestos volátiles producidos por cinco razas de *Zea mays*: cónico, zapalote grande, tuxpeño, celaya y chalqueño. Con base en este punto, se busca estimar las tasas de emisión de hidrocarburos no metano por unidad de biomasa para cada una de las razas de maíz señaladas. Así mismo se quiere establecer, si existen, las variaciones diarias en los patrones y tasas de emisión en las razas seleccionadas. Con todos estos elementos se espera contribuir al conocimiento de las tasas de emisión de hidrocarburos no metano emitidos por *Zea mays*.

III. Antecedentes.

III.1 Las emisiones biogénicas de hidrocarburos no metano: un enlace más entre la biósfera y la atmósfera.

La emisión biogénica de compuestos orgánicos al ambiente es un fenómeno universal característico de todos los organismos (Isidorov, 1990). La presencia en la atmósfera de gases tan importantes como el oxígeno o el nitrógeno está íntimamente relacionada a procesos biológicos como la fotosíntesis y la actividad microbiana. Sin la continua regeneración biológica de estos compuestos, la composición de la atmósfera sería substancialmente diferente de lo que es actualmente. Cada día es más claro que el acoplamiento entre la biósfera y la atmósfera debe verse como parte de un sistema altamente complejo e interactivo (Brasseur y Chatfield, 1991).

El estudio de las fuentes, sumideros y dinámicas de los gases emitidos por la vegetación es de suma importancia, ya que éstos afectan la química y la física de la atmósfera, y por tanto, alteran características tan diversas como el contenido energético de la Tierra, la concentración de oxidantes en la tropósfera y la absorción de la radiación ultravioleta en la estratosfera. Así mismo, los gases traza o sus productos afectan la biota terrestre de manera más o menos particular por especie, hasta alterar la productividad o habilidad competitiva y en ocasiones derivando en la mortalidad (Mooney, Vitousek y Matson, 1987).

Los compuestos volátiles orgánicos (VOCs) que son emitidos por la vegetación juegan un importante papel en la formación de las asociaciones vegetales e inclusive de la biocenosis como un todo (Isidorov, 1990). Los VOCs emanados por los árboles tropicales son utilizados por poblaciones diversas de hongos como única fuente de carbono para su desarrollo (Rasmussen, 1970). En las selvas tropicales estos compuestos volátiles son utilizados por los microorganismos que crecen epifíticamente, casi al mismo tiempo que son producidos (Isidorov, 1990; Zimmerman, Greenberg y Westberg., 1988). En el trabajo de Ewers, Frier-Schroder y Knackmuss (1990) se encontró la existencia

de bacterias, que habitan en el suelo y el agua, degradadoras de isopreno. Aún cuando estos estudios sugieren la existencia de un sumidero biológico, la participación de los VOCs en la química atmosférica es importante como precursores de PAN (nitrato de peroxiacetil), O₃ (ozono) y aerosoles. Se cree que los aerosoles son los responsables del fenómeno atmosférico natural asociado a comunidades vegetales conocido como "neblina azul" (blue haze) (Went, 1960).

De entre los compuestos de origen biológico, podemos destacar al CO₂, CH₄, y N₂O como gases relativamente estables, y como gases reactivos a los hidrocarburos no metano (HCNM) y al CO. Estos dos últimos se encuentran fuertemente relacionados, ya que la oxidación de los primeros es la mayor fuente del segundo en la atmósfera. Estos gases reactivos generan un problema totalmente diferente al de los gases relativamente estables. Sus concentraciones son generalmente bajas y efímeras, por lo que es más difícil identificar con certeza fuentes, sumideros y efectos (Mooney *et al.*, 1987).

Las emisiones de hidrocarburos biogénicos no metano que se han registrado como las más abundantes corresponden al isopreno (C₅H₈) y diversos monoterpenos (C₁₀H₁₆). Los árboles latifoliados de zonas templadas emiten típicamente isopreno (C₅H₈), mientras que las coníferas y árboles tropicales emiten típicamente monoterpenos (C₁₀H₁₆). Las emisiones vegetales no se limitan a estos compuestos, ya que más del 50% de los gases emitidos pertenecen a otras especies de hidrocarburos, muchos de los cuales son aun desconocidos en cuanto a composición y estructura química (Demerjian *et al.*, 1991; Isidorov, 1990). La figura 1 es un ejemplo del comportamiento de las emisiones en relación a la temperatura y en función de los valores de emisión asignados por la EPA para el programa de estudio de gases biogénicos en los Estados Unidos (Goodrich y Maxwell, 1990)

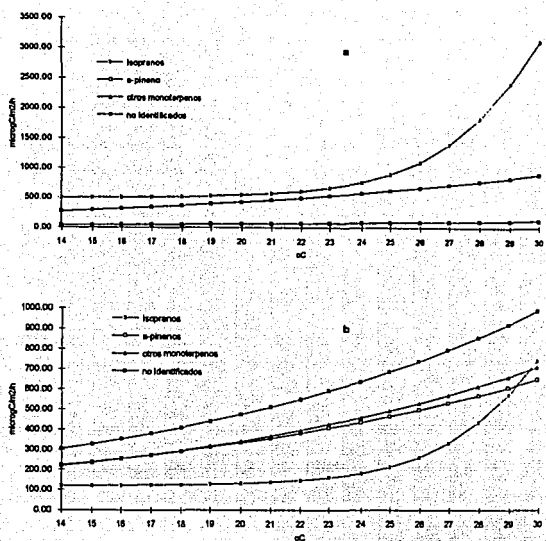


Figura 1. Variación en la emisión de hidrocarburos biogénicos en función de la temperatura. a) Latifoliadas, particularmente encinos. b) Coníferas, particularmente pinos

La atención a este fenómeno por parte de los especialistas en química atmosférica es relativamente reciente y se da a partir del trabajo de Went (1960), en el que se sostiene la hipótesis de que estos compuestos juegan un papel importante en la generación aerosoles, por lo que las emisiones foliares de los árboles y otros tipos de vegetación impactan en la química atmosférica del planeta. En diversos trabajos, por ejemplo Zimmerman, Chatfield, Fischman, Crutzen y Hanst (1978); Hov, Schjoldager y Wathne (1983). Modica y McCutcheon (1991), entre otros, se ha mostrado, que tanto los monoterpenos como el isopreno, tienen una gran reactividad y pueden tener una activa participación en diversas reacciones fotoquímicas de la atmósfera.

Zimmerman *et al.*, (1978) estiman que las emisiones biogénicas de monoterpenos e isopreno pueden ser equivalentes al 0.7% de la productividad primaria neta (NPP), es decir, un poco menos de la décima parte de la cantidad neta de carbono fijada durante el proceso de fotosíntesis. Las emisiones totales de terpenos pueden alcanzar valores entre 525 a 750 Tg* C año⁻¹ (Zimmerman, 1988; Rasmussen y Khalil, 1986; Lerdau, 1991). Por otro lado, las emisiones actuales de metano se estiman en 550 Tg año (Brasseur y Chatfiel, 1991; Schlesinger, 1991). Si bien es probable que exista una sobrestimación de las emisiones de los hidrocarburos no metano, las cifras expuestas muestran un equilibrio entre ambas emisiones globales, si no es que se inclinan a favor de los no metano.

Los HCNM se descomponen en la atmósfera a través de reacciones con OH, O₃, NO₃ y O (Demerjian *et al.*, 1974). Los productos iniciales de estas reacciones incluyen aldehídos y radicales orgánicos oxigenados. A su vez, estos radicales pueden oxidar NO a NO₂ con la subsecuente producción de ozono mediante la fotodisociación del NO₂ (Crutzen, 1979) (Figura 2).

A través de reacciones que involucran NO_x y acetaldehído se forma PAN como un intermediario en la descomposición fotoquímica de muchos HCNM (Crutzen, 1979; Demerjian *et al.*, 1974). Deben acumularse suficientes HCNM en la atmósfera para producir cantidades significativas de PAN, a partir de NO_x. Esto podría generar un reservorio significativo de NO_x (Greenberg y Zimmerman, 1984). Así mismo, el isopreno y los monoterpenos también reaccionan con el ozono y esta reacción puede funcionar como sumidero de O₃, especialmente en las regiones rurales con "atmósferas limpias", esto es, con concentraciones bajas de NO_x. Esto quiere decir, que en función de la composición de la atmósfera, los monoterpenos y el isopreno pueden ser sumidero de ozono o generadores del mismo.

* Teragramos = 10¹²g

Si bien la oxidación completa de los terpenos produce CO₂ como producto final, también producen CO como producto de reacciones intermedias y se estima entre 220 (Chameides y Cicerone, 1978) a 880 Tg CO año⁻¹ (Zimmerman, 1988). Estas estimaciones nos permiten ver que los hidrocarburos biogénicos no metano se consideran una fuente importante de CO atmosférico (Tabla 1).

Tabla 1. Producción de CO a partir de diferentes fuentes.

Fuente	(Tg año ⁻¹)	Referencia
Oxidación de HCNM	900 - 500	Brasseur y Chatfield, 1991.
	580	Logan, <i>et al.</i> , 1991.
	420-1300	Zimmerman, <i>et al.</i> , 1978.
	220	Chameides y Cicerone, 1978.
(sólo monoterpenos)	96	Hatekayama, <i>et al.</i> , 1991.
Quema de combustibles fósiles	640	Schlesinger, 1991; Zimmerman, <i>et al.</i> , 1978
Quema de biomasa	860	Zimmerman, <i>et al.</i> , 1978.
	1000-600	Brasseur y Chatfield, 1991.
Oxidación de metano	330 - 830	Zimmerman, <i>et al.</i> , 1978.
	730	Chameides y Cicerone, 1978.
	300-600	Brasseur y Chatfield, 1991
Producción total de CO	3300 - 1700	Zimmerman, <i>et al.</i> , 1978; Brasseur y Chatfield, 1991
	3000	Schlesinger, 1991

La elevada reactividad de los hidrocarburos biogénicos con el radical hidroxil (OH), principal agente oxidante de la tropósfera, les confiere un papel primordial en la regulación del potencial de reducción de ésta (Monson, Guenter y Fall, 1991). Greenberg y Zimmerman (1984) sugieren que los hidrocarburos biogénicos pueden ser más importantes que el CO en la determinación del porcentaje de mezcla del radical hidroxil en diversas regiones de la tropósfera. Los porcentajes de mezcla de los biogénicos más abundantes en la tropósfera baja como el isopreno 2.40 ppbv (partes por billón de volumen) (Greenberg y Zimmerman, 1984) son tres órdenes de magnitud menor que los del metano que es de 1.7 ppmv (Brasseur y Chatfield, 1991) y mucho más bajos que los del CO (350 ppmv Brasseur y Chatfield, 1991). Sin embargo, las tasas de reacción de

los biogénicos con el OH son diversos órdenes de magnitud más rápidas y como señalamos anteriormente, las emisiones globales de los biogénicos son muy similares en cantidad a las de metano (Tabla 2).

Tabla 2 Comparación entre la velocidad de algunos gases traza.

Gas	Tasa de mezcla (ppb)	vida media en la troposfera	Contribución como sumidero de OH (%)	Constante de tiempo reacción química con el OH	Referencia
CH ₄	1600	10 años	90	10 años	Schlesinger, 1991 Brasseur y Chatfield, 1991
CO	250	60 días	100	2.4 meses	Schlesinger, 1991; Brasseur y Chatfield, 1991
HCNM C ₅	2-10	1-100 días	50-100		Schlesinger, 1991
isopreno			0.1 días		Schlesinger, 1991
α-pineno			0.3 días		Schlesinger, 1991
NO, NO ₂	0.1	1 día	100		Schlesinger, 1991
N ₂ O	310	150 años	0		Schlesinger, 1991

En la Figura 2 se muestran las reacciones del isopreno con el radical OH para formar CO o O₃ en presencia de NO_x, o CO en su ausencia, y la reacción del metano con el OH para formar CO. Es importante señalar que en el ámbito del cambio global de la atmósfera, el incremento en las concentraciones de CO₂, pueden tener dos efectos de retroalimentación sobre las emisiones de isopreno: 1) un efecto negativo debido a la inhibición de las emisiones de isopreno por el CO₂, y 2) uno positivo debido a la estimulación de las emisiones por el incremento de la temperatura. Es importante señalar que se ha observado inhibición de las emisiones de isopreno frente a pulsos elevados de CO₂, sin embargo, cuando las plantas crecen en condiciones permanentes de elevadas concentraciones de CO₂, las emisiones se ven estimuladas (Sharkey, Loreto y Delwiche, 1991).

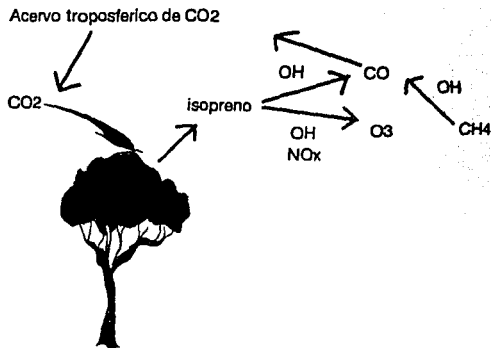


Figura 2. Representación esquemática de la interacción del isopreno emitido por las plantas con otros compuestos presentes en la tropósfera.

La reacción entre el isopreno y el OH tiene repercusiones importantes para la habitabilidad de la biósfera. Por una parte, se observa la relación entre la oxidación del isopreno y la generación de contaminantes atmosféricos (como O_3 , CO , etc) y otros oxidantes como los peróxidos orgánicos (Zimmerman *et al.*, 1978; Chameides y Cicerone, 1978; Hov *et al.*, 1983; Chameides, Lindsay, Richardson y Kiang, 1988; Sillman *et al.*, 1990; Isidorov, 1990). Por otra parte, al reaccionar con el OH , el isopreno puede potencialmente reducir la velocidad a la que se remueve el metano de la tropósfera. Las moléculas de metano e isopreno compiten como sumideros alternativos para la reacción con el OH . Hasta donde se conoce, el sumidero más importante de metano (90%) es la reacción de éste con el radical hidroxilo (Brasseur y Chatfield, 1991). Sin embargo, características cinéticas favorecen la reacción con el isopreno en lugar del metano (Zimmerman *et al.*, 1978), lo que permite a Monson *et al.*, (1991) sugerir que, en función de la dependencia y sensibilidad de las emisiones de isopreno a la temperatura, se puede desencadenar una reacción de retroalimentación positiva debido a que el calentamiento del planeta, como consecuencia del cambio global, puede generar mayores porcentajes de mezcla, y quizás de emisión, para el isopreno. Esto a su vez podría provocar un

menor potencial de remoción del metano troposférico, generando más calentamiento global, debido al elevado potencial del CH₄ como gas invernadero (20 veces más efectivo que el CO₂).

III.2. Emisión de los hidrocarburos biogénicos.

El estudio de las tasas de emisión de compuestos orgánicos volátiles se remonta a 1920, cuando Nilov desarrolló un procedimiento para la determinación cuantitativa de biogénicos emitidos por coníferas (Isidorov, 1990). Este autor encontró niveles de emisión considerables reportando que la copa de un espécimen de *Juniperus* arborescente de 100 kg. de peso, emitía diariamente durante un verano cálido, más de 30 g de terpenos. Investigaciones más recientes, con técnicas y aparatos más precisos, han ido posibilitando el conocimiento sobre los biogénicos así como las tasas de emisión de diversas plantas (Tabla 3) y los factores que intervienen en los procesos de emisión como temperatura, insolación, humedad y procesos fenológicos (Isidorov, 1990; Demerjian *et al.*, 1974; Zimmerman, 1979; Zimmerman *et al.*, 1988; Sharkey *et al.*, 1991; Lerdau, 1991; Silver y Fall, 1991; Rasmussen, 1970 y 1972, entre otros).

La producción y consumo de estos gases en los ecosistemas terrestres indican la presencia y magnitud de procesos fisiológicos particulares (tasas de emisión) o ecosistémicos (flujos de emisión), o ambos. La medición y entendimiento de los flujos de estos gases redundará en un mejor conocimiento de la dinámica, tanto de los ecosistemas terrestres como de la atmósfera (Mooney *et al.*, 1987), y evidentemente de la interacción entre ambos sistemas.

Tabla 3. Factores de emisión de hidrocarburos biogénicos en diversas especies vegetales.

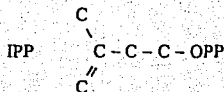
Especie	Emisión	Compuesto	Temperatura °C	Luz	Referencia
Vegetación Arbórea					
Bosques de encinos	4258 $\mu\text{g m}^{-2} \text{h}^{-1}$	73% isopreno 3% α -pineno 3% monoterpénos 21% no identificado	30	"soleado"	Ratté et al., 1993
Bosques de otras especies deciduas	3353 $\mu\text{g m}^{-2} \text{h}^{-1}$	63% isopreno 5% α -pineno 6% monoterpénos 26% no identificado	30	"soleado"	Ratté et al., 1993
Bosque de coníferas	3106 $\mu\text{g m}^{-2} \text{h}^{-1}$	24% isopreno 21% α -pineno 23% monoterpénos 32% no identificado	30	"soleado"	Ratté et al., 1993
<i>Eucalyptus</i> sp.	> 20 $\mu\text{gC g}^{-1} \text{h}^{-1}$ 51.3 $\text{mg m}^{-2} \text{d}^{-1}$	Isopreno 80% isopreno	28 \pm 1	1000 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$	Evans et al., 1982 Tingey et al., 1981
<i>Picea</i> sp.	2-20 $\mu\text{gC g}^{-1} \text{h}^{-1}$	Isopreno	28 \pm 1	1000 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$	Evans et al., 1982
<i>Pinus elliptica</i> "Pino"	4.46 3.44 0.32 0.16 0.22	α -pineno β -pineno myrceno linaleno β -phellandreno	35		Tingey et al., 1991
<i>Platanus occidentalis</i> Sycamore.	2-20 $\mu\text{gC g}^{-1} \text{h}^{-1}$	Isopreno	28 \pm 1	1000 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$	Evans et al., 1982
<i>Populus</i> sp.	> 20 $\mu\text{gC g}^{-1} \text{h}^{-1}$	Isopreno	28 \pm 1	1000 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$	Evans et al., 1982
<i>Populus tremuloides</i>	65.3 \pm 7.8	Isopreno	30	900 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	Sharkey et al., 1991
<i>Quercus</i> sp "Encino".	2-20 $\mu\text{gC g}^{-1} \text{h}^{-1}$	Isopreno	28 \pm 1	1000 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$	Evans et al., 1982
<i>Salix</i> sp "Sauce".	2-20 $\mu\text{gC g}^{-1} \text{h}^{-1}$	Isopreno	28 \pm 1	1000 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$	Evans et al., 1982
Arbustos	189 $\mu\text{g m}^{-2} \text{h}^{-1}$	20% isopreno 25% α -pineno 25% monoterpénos 30% no identificado	30	"soleado"	Ratté et al., 1993 Goodrich's Maxwell, 1990
<i>Salvia mellifera</i> "menta"	5.8 - 2 $\mu\text{g dm}^{-2} \text{h}^{-1}$	Canfor	40		Tingey et al., 1980
Pastizales	281 $\mu\text{g m}^{-2} \text{h}^{-1}$	20% isopreno 25% α -pineno 25% monoterpénos 30% no identificado	30	"soleado"	Ratté et al., 1993 Goodrich y Maxwell, 1990
<i>Arundo donax</i> (pasto)	34 $\mu\text{g g}^{-1} \text{h}^{-1}$	Isopreno	25	100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	Hewitt et al., 1990
Cultivos					
"algodón"	38 $\mu\text{g m}^{-2} \text{h}^{-1}$	20% isopreno 25% α -pineno 25% monoterpénos 30% no identificado	30	"soleado"	Ratté et al., 1993 Goodrich y Maxwell, 1990
"arroz"	510 $\mu\text{g m}^{-2} \text{h}^{-1}$	20% isopreno 25% α -pineno 25% monoterpénos 30% no identificado	30	"soleado"	Ratté et al., 1993 Goodrich y Maxwell, 1990

Especie	Emisión	Compuesto	Temperatura °C	Luz	Referencia
"avena"	38 $\mu\text{g m}^{-2} \text{h}^{-1}$	20% isopreno 25% α -pineno 25% monoterpenos 30% no identificado	30	"soleado"	Ratté <i>et al.</i> , 1993 Goodrich y Maxwell, 1990
"caahuate"	510 $\mu\text{g m}^{-2} \text{h}^{-1}$	20% isopreno 25% α -pineno 25% monoterpenos 30% no identificado	30	"soleado"	Ratté <i>et al.</i> , 1993 Goodrich y Maxwell, 1990
"cebada"	38 $\mu\text{g m}^{-2} \text{h}^{-1}$	20% isopreno 25% α -pineno 25% monoterpenos 30% no identificado	30	"soleado"	Ratté <i>et al.</i> , 1993 Goodrich y Maxwell, 1990
"centeno"	38 $\mu\text{g m}^{-2} \text{h}^{-1}$	20% isopreno 25% α -pineno 25% monoterpenos 30% no identificado	30	"soleado"	Ratté <i>et al.</i> , 1993 Goodrich y Maxwell, 1990
"heno"	189 $\mu\text{g m}^{-2} \text{h}^{-1}$	20% isopreno 25% α -pineno 25% monoterpenos 30% no identificado	30	"soleado"	Ratté <i>et al.</i> , 1993 Goodrich y Maxwell, 1990
"papa"	48 $\mu\text{g m}^{-2} \text{h}^{-1}$	0% isopreno 25% α -pineno 25% monoterpenos 50% no identificado	30	"soleado"	Ratté <i>et al.</i> , 1993 Goodrich y Maxwell, 1990
"sorgo"	39 $\mu\text{g m}^{-2} \text{h}^{-1}$	20% isopreno 25% α -pineno 25% monoterpenos 30% no identificado	30	"soleado"	Ratté <i>et al.</i> , 1993 Goodrich y Maxwell, 1990
"soya"	22 $\mu\text{g m}^{-2} \text{h}^{-1}$	isopreno	30	"soleado"	Ratté <i>et al.</i> , 1993 Goodrich y Maxwell, 1990
"tabaco"	294 $\mu\text{g m}^{-2} \text{h}^{-1}$	0% isopreno 10% α -pineno 10% monoterpenos 80% no identificado	30	"soleado"	Ratté <i>et al.</i> , 1993 Goodrich y Maxwell, 1990
"trigo"	30 $\mu\text{g m}^{-2} \text{h}^{-1}$	50% isopreno 10% α -pineno 10% monoterpenos 30% no identificado	30	"soleado"	Ratté <i>et al.</i> , 1993 Goodrich y Maxwell, 1990
Glycine max "soya"	0.018 $\mu\text{g g}^{-1} \text{h}^{-1}$	isopreno	28 \pm 1	1000 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$	Evans <i>et al.</i> , 1982
Zea mays "maíz"	0.018 $\mu\text{g g}^{-1} \text{h}^{-1}$	isopreno	28 \pm 1	1000 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$	Evans <i>et al.</i> , 1982
	2.35 $\mu\text{g g}^{-1} \text{h}^{-1}$	Emisión total de NMHC			Goodrich y Maxwell, 1990
	0.5 $\mu\text{g m}^{-2} \text{h}^{-1}$	0% isopreno 10% α -pineno 10% monoterpenos 80% no identificado	30	"soleado"	Ratté <i>et al.</i> , 1993
	2.00 $\mu\text{g g}^{-1} \text{h}^{-1}$	Emisión total de NMHC			Lamb <i>et al.</i> , 1985
agrícola en general	38 $\mu\text{g m}^{-2} \text{h}^{-1}$	20% isopreno 25% α -pineno 25% monoterpenos 30% no identificado	30	"soleado"	Ratté <i>et al.</i> , 1993 Goodrich y Maxwell, 1990

*gramos de peso seco.

III.3. Los hidrocarburos biogénicos: isopreno y monoterpenos.

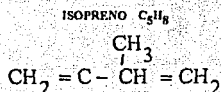
Existen diversos tipos de hidrocarburos constituidos a partir de la variación de unidades de isopreno (C_5H_8), denominados genéricamente terpenos (Kramer y Kozlowski, 1979). Los terpenos varían en tamaño, desde 3 a 5×10^5 átomos de carbono por molécula. Lerdau (1991) describe al Isopentenyl Pirofosfato (IPP) como precursor de la unidad básica o hemiterpeno:



A su vez, los hemiterpenos o isopreno, presentan dos dobles enlaces:



Todos los terpenos, al usar como estructura básica al isopreno, contienen un número integral de 5 unidades de carbono. La relación del isopreno con el resto de los terpenos se observa en la Figura 3.



x2	x3	x4	x6	x8	xn
$C_{10}H_{16}$	$C_{15}H_{24}$	$C_{20}H_{32}$	$C_{30}H_{48}$	$C_{40}H_{64}$	$(C_5H_8)_n$
monoterpeno	sesquiterpeno	diterpeno	triterpeno	tetraterpeno	politerpeno

Figura 3. El isopreno y su relación con otros terpenos. Fuente: Kramer y Kozlowski, 1979.

El proceso básico de regulación de la biosíntesis se encuentra aún poco comprendido. A grosso modo, la ruta general de síntesis comienza con acetyl CoA y continúa hacia ácido mevalónico pirofosfato (MAPP), de éste hacia isopentenyl pirofosfato (IPP) el cual, como ya mencionamos, es un punto clave en la ruta biosintética. IPP es convertido a dimetil pirofosfato (GPP), el cual sufre isomerización y ciclización para formar la estructura de monoterpeno (C₁₀) (Tingey *et al.*, 1991).

En la tropósfera, los terpenos siguen el mismo esquema general de reacción que el metano: oxidación por el radical hidroxilo OH a CO y CO₂. Sin embargo, los terpenos se consideran de uno a tres órdenes de magnitud más reactivos que el metano debido a sus dobles enlaces (Logan *et al.*, 1981). Como en el metano, la ruta exacta de la oxidación de los terpenos depende de la abundancia de óxidos de nitrógeno. En presencia de elevados niveles de NO y NOx la oxidación de terpenos puede ser particularmente importante en la producción de ozono troposférico, como se muestra en el apartado de "La importancia de las emisiones de hidrocarburos biogénicos en la calidad del aire".

En las plantas, los terpenos los podemos ubicar como componentes de aceites esenciales, resinas, carotenoides, goma arábiga o caucho, ácido abscísico, giberelinas, esteroides y el lado fitol de la cadena de clorofila (Kramer y Kozlowski, 1979; Lerdau, 1991).

Kramer y Kozlowski (1979) señalan que no todo lo que existe en la naturaleza debe ser visto en términos de "su función", y que parece improbable que todos los aspectos relacionados al metabolismo tengan igual importancia en el proceso de selección natural, por lo que consideran que estos metabolitos secundarios son meramente productos incidentales de procesos de síntesis, que han persistido, simplemente, porque no tienen un efecto negativo suficiente para limitar las condiciones de supervivencia y por tanto ser eliminados por selección natural. Por otro lado, Coley *et al.* (1985), Tingey *et al.* (1991) y Lerdau (1991) entre otros, sugieren que como elementos volátiles orgánicos, los

terpenos no pueden ser considerados sólo como productos metabólicos de desecho, sino como importantes adaptaciones, incidentales o no, de las plantas, siendo cada día más clara la participación de estos compuestos en la capacidad defensiva de las plantas (Walter *et al.*, 1989) y en la interacción con otros organismos derivando procesos coevolutivos (Tingey *et al.*, 1991) sugiriendo un proceso de selección en su permanencia a través de la evolución biológica.

III.3.1 El Isopreno (C₅H₈).

La emisión de isopreno (2-methyl-1,3-butadieno se ha medido en 140 especies (Fall, 1991) tanto de helechos como de gimnospermas y angiospermas, como un metabolito normal y no como respuesta a algún tipo de estrés (Tingey *et al.*, 1981). La producción anual biogénica de isopreno se estima entre 350 a 400 x 10¹² g C año⁻¹ (Zimmerman, 1979; Rasmussen y Khalil, 1986). El isopreno se emite típicamente por árboles deciduos. En el caso de *Quercus* y *Populus* el isopreno conforma el 99% de las emisiones foliares. Entre las coníferas tan sólo el género *Picea* ha sido destacado como emisor de isopreno, habiéndose medido en *P. glauca*, *P. rubens*, *P. mariana* y *P. pungens* (Rasmussen, 1970).

El carbono emitido como isopreno puede alcanzar niveles de hasta más de 8% del CO₂ fijado durante la fotosíntesis, aunque generalmente oscila entre el 1 y 2% (Monson y Fall, 1989; Sharkey *et al.*, 1991). Las emisiones de isopreno en las plantas están fuertemente relacionadas con la fotosíntesis, por lo que en este sentido difiere grandemente de las emisiones de monoterpenos. La evidencia de esta relación se basa en: la dependencia similar a la luz que observan las emisiones de isopreno y la fotosíntesis (Tingey *et al.*, 1991; Sanadze, 1991); el efecto del CO₂ en la emisión de isopreno; la inducción de las emisiones y de la fotosíntesis después de la iluminación; y los efectos similares de inhibidores sobre ambos procesos (Sharkey *et al.*, 1991).

III.3.1.1 La biosíntesis de isopreno.

Si bien parece que la síntesis de isopreno se lleva a cabo en los cloroplastos (Jones y Rasmussen, 1975), el origen bioquímico del isopreno no es todavía del todo claro. La primera suposición de una relación entre síntesis, emisión de isopreno y fotorespiración ha sido claramente sobrepasada gracias al trabajo de Hewitt *et al.* (1990). En éste, se analizó dicha interacción a través de mediciones simultáneas de emisiones y tasas fotosintéticas, al tiempo que se agregaban inhibidores de la fotorespiración en el pasto *Arundo donax*. Estos autores sugieren que la dependencia a la luz mostrada por la emisión de isopreno se debe a la necesidad del paso de algún agente reductor de reacciones fotosintéticas dependientes de la luz. El reductor puede obtenerse del NADPH, de electrones tomados directamente de la ferredoxina, como en el caso de las nitrito y sulfito reductasas. A pesar de que la fuente inmediata de C para la biosíntesis del isopreno no es clara, parece que el hidrocarburo deriva desde acetyl-CoA vía ácido mevalónico e intermediarios de isopentenil-difosfato. La dependencia a la luz tal vez indica la necesidad de ATP y NADPH en la biosíntesis de este hidrocarburo.

Sharkey *et al.* (1991) sugieren que en la ruta del ácido mevalónico, se combinan tres moléculas de acetyl-CoA para producir hidroximetilglutaril CoA (HMG CoA), el cual es reducido a ácido mevalónico a través de un proceso fuertemente regulado. Este paso es catalizado por la HMG CoA reductasa. Con el consumo de tres ATPs, el ácido mevalónico se convierte en IPP y CO₂. El IPP es isomerizado a DMAPP. La presencia de IPP en los cloroplastos puede deberse a su formación *in situ*, o bien a su importación desde el citosol. Esto aún no ha podido ser corroborado. La formación de isopreno a partir de dimetilalil pirofosfato puede ocurrir por la eliminación a través de una catálisis ácida del pirofosfato, o bien mediante la acción de una enzima que catalice esta reacción. La regulación de la actividad enzimática de esta sintetasa, podría ser el control de las tasas de emisión de isopreno (Figura 4).

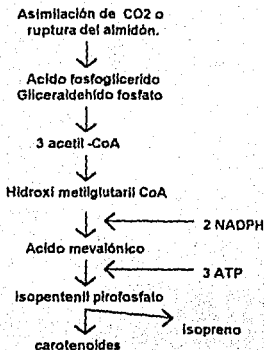


Figura 4. Modelo de la ruta ácido mevalónico en la síntesis de isopreno.

Silver y Fall (1991), reportan en extractos de hojas de *Populus tremuloides* la existencia de actividad enzimática que cataliza la eliminación del ión magnesio-dependiente del difosfato del DMAPP, para formar isopreno y señalan que también existe actividad de catálisis ácida, pero que a pH fisiológico esta ruta es insignificante. Sanadze (1991) sugiere que el DMAPP se puede encontrar en el lumen tilacoidal, el cual, en presencia de luz se acidifica a un pH cercano a 5 debido al movimiento de protones, por lo que la catálisis ácida puede llevarse a cabo. Sin embargo, no hay evidencia de presencia de DMAPP en esta estructura celular.

La propuesta de Silver y Fall (1991) parece tomar más cuerpo con el registro de la actividad enzimática en la síntesis de isopreno. En esta ruta de síntesis, la energía requerida por carbono metabolizado a isopreno es de 2.8 NADPH y 5 ATP. La cantidad de carbono requerida asciende a 9, ya que 5 C se pierden como isopreno y 4 C más como CO₂ durante el proceso de síntesis del propio hemiterpeno (Sharkey *et al.*, 1991).

III.3.1.2 La emisión de Isopreno.

A la fecha sigue sin ser clara la ruta a través de la cual el isopreno abandonan los cloroplastos para volatilizarse en la atmósfera. Sin embargo, parece no existir almacenamiento de este compuesto en las hojas, como se deriva del experimento realizado con la incorporación $\delta^{13}\text{CO}_2$ en hojas fotosintetizantes de encino (Sharkey *et al.*, 1991). En menos de 10 min, todas las moléculas emitidas de isopreno contenían al menos un átomo $^{13}\text{CO}_2$. Así mismo, el decrecimiento relativamente rápido de las emisiones en condiciones de oscuridad, con la presencia de un pequeño repunte posterior, sugieren la existencia de un acervo pequeño y altamente volátil en el espacio externo de la hoja, y un segundo acervo interno, también pequeño, quizás ubicado en el espacio intracelular (Monson *et al.*, 1991). Parece haber acuerdo en el hecho de que todo el isopreno que es sintetizado se volatiliza rápidamente a la atmósfera.

Tingey *et al.* (1981) sugieren que existe asociación entre las emisiones de isopreno y los estomas, y proponen a éstos como vía de salida para el isopreno, aunque señalan que también existe difusión, aunque menor, a través de la cutícula. Estos mismos autores proponen, que si bien los estomas son la ruta de difusión más importante, no parecen controlar mayormente las emisiones de isopreno en las hojas, ya que, frente a reducciones de la conductancia estomatal de aproximadamente un orden de magnitud, las emisiones de hemiterpenos no sufren alteración. Esto parece ser igual para el caso de los monoterpenos.

Rasmussen y Jones (1973), en su trabajo en hojas de *Hamamelis jelena*, encontraron que la resistencia al calor del mecanismo de producción de isopreno encontraba como tope los 40 °C, y que a temperaturas de 15 °C las emisiones seguían representando cantidades importantes de los productos metabólicos que escapaban de la hoja. Parece haber acuerdo en que las tasas de emisión de isopreno son altamente sensibles a la temperatura, y muestran

un Q_{10} de 2 o mayor, a temperaturas entre 30 y 40°C y decrece a temperaturas arriba de 40 a 45°C (Rasmussen y Jones, 1973; Tingey *et al.*, 1981; Monson y Fall, 1989; Monson *et al.*, 1991; entre otros). En un trabajo reciente, posterior a la detección de la isopreno sintetasa y que habla en favor de la actividad enzimática, Monson *et al.* (1991) sugieren que la respuesta a la temperatura de las tasas de emisión de isopreno puede ajustarse dependiendo del régimen de temperatura al cual crece la planta. Este proceso de aclimatación térmico de las emisiones puede complicar los esfuerzos por generar modelos globales de las emisiones por asociaciones vegetales y refuerza la necesidad de realizar estudios locales para robustecer los datos a incorporar en las simulaciones y las predicciones en un sistema en proceso de cambios térmicos.

III.3.2. Los Monoterpenos ($C_{10}H_{16}$).

A pesar de que todas las plantas producen compuestos terpenoides, no todas producen monoterpenos como productos finales. Darnely-Gibbs (1974) y Banthorpe y Charlwood (1980) reportan que sólo se sabe de 46 familias de fanerógamas que emiten monoterpenos como productos finales. La producción de monoterpenos se ha encontrado en todas las coníferas examinadas (Lerdau, 1991). Cientos de compuestos monoterpenos han sido identificados en las plantas, con hasta más de 15 monoterpenos foliares encontrados en un solo árbol (Hall, *et al.*, 1986), sin embargo, muy unos pocos monoterpenos dominan el espectro (Tingey *et al.*, 1991; Lerdau, 1991; Isidorov, 1990) (Tabla 4).

Zimmerman *et al.* (1978), sugieren que la emisión global de monoterpenos equivale a 0.034% de productividad primaria neta (NPP). La volatilización de los monoterpenos a la atmósfera puede contribuir con el 1.5×10^{14} g C año⁻¹ en los bosques tropicales lluviosos, y en los de coníferas con aproximadamente 3.5×10^{13} g C año⁻¹ (Lerdau, 1991). Tingey *et al.* (1991) estima que en *Pinus elliotii* 0.4% del C fijado se emite como monoterpeno. En la Tabla 3 se resumen diversos trabajos en los que se han obtenido tasas de emisión de varias especies de terpenos en especies vegetales y factores de emisión para asociaciones vegetales.

herbívoros y sugieren la movilidad de los compuestos defensivos como un mecanismo evolutivo de defensa. La importancia de los monoterpenos como compuestos de defensa es más clara que la del isopreno. La actividad antiherbívora de los monoterpenos es efectiva, tanto para insectos como para mamíferos (Lerdau, 1991; Harborne y Barberan, 1991).

III.3.2.1. La biosíntesis de monoterpenos

El precursor monoterpeno se origina de la unión de dos unidades de isopentenil pirofosfato (IPP), cabeza-tallo, el cual, bajo ciclización y catalización por enzimas específicas, da origen a diversos monoterpenos. Al parecer, la mayoría de los monoterpenos se sintetizan en las células epiteliales que rodean a los canales resiníferos. Sin embargo, se sugiere también la posibilidad de síntesis en las células mesófilas (Lerdau, 1991).

La composición tisular de los monoterpenos se encuentra regulada por un fuerte control genético, generando patrones de emisión específicos o distintivos para ecotipos. Por el contrario, las tasas de emisión de estos compuestos son influenciadas por factores ambientales (Tingey *et al.*, 1991). Mientras que la producción biológica de isopreno parece estar gobernada por la disponibilidad instantánea de intermediarios fotosintéticos, la producción y emisión de monoterpenos está en función de los patrones de distribución a largo plazo del carbono en las plantas, la saturación de la presión de vapor de cada monoterpeno específico y, la temperatura y la humedad que rodean a la hoja (Tingey *et al.*, 1980; Dement *et al.*, 1975; Tingey *et al.*, 1991; Lerdau, 1991) (Figura 5).

En trabajos reseñados por Lerdau (1991) se observa el efecto combinado de la disponibilidad de agua y nitrógeno en el tamaño del acervo de monoterpenos en las hojas. Cuando tanto el agua como el nitrógeno limitan el crecimiento de la planta, se observó en *Mentha* sp. un incremento significativo en la producción de terpenos, sin embargo, no se registró ningún cambio sin el efecto sinérgico. En algunas plantas el estrés hídrico es suficiente para

alterar los niveles de monoterpenos en las hojas, generalmente incrementándolos. Limitaciones moderadas en la disponibilidad de agua o nutrientes pueden causar cambios en la distribución de C hacia compuestos de defensa, debido a que la planta, antes que reducir su capacidad de fijación de C, limita primero su crecimiento, con lo que puede destinar más carbono a la formación de metabolitos secundarios. Esto obedece a que la actividad fotosintética no se detiene, puesto que la apertura estomatal es menos sensible al estrés hídrico que la expansión celular.

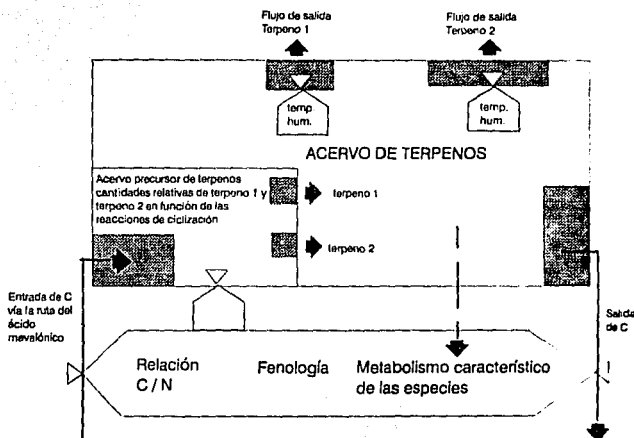


Figura 5. Modelo del control de la producción y emisión de monoterpenos en las plantas. El modelo muestra el control sobre la formación de los precursores de los monoterpenos, el acervo de terpenos, el flujo a la atmósfera y la competencia interna por el uso del carbono (adaptado de Lerdau, 1991).

Así mismo, las variaciones en la disponibilidad de N parecen ejercer cambios en la distribución de carbonos hacia biomasa o hacia monoterpenos. Plantas que se desarrollan en condiciones de elevada presencia de N producen menos monoterpenos que plantas que crecen en medios pobres en este elemento, lo que sugiere cambios en la distribución de carbono hacia compuestos de defensa que no contienen nitrógeno, conforme la disponibilidad

de éste disminuye en relación al carbono (Lerdau, 1991). En plántulas de *Abies grandis*, la fertilización con N no parece alterar significativamente la producción total de monoterpenos, aunque se registra una modificación en el patrón de emisión, disminuyendo la presencia de β -felandreno, canfeno y bornil acetato (Muzika *et al.*, 1989). Estos mismos autores señalan la ausencia de un patrón de respuesta a las variaciones de N en las distintas poblaciones estudiadas, lo que refuerza la idea, de que a pesar de existir un fuerte control genético en el patrón de monoterpenos, la influencia del medio puede alterar cuantitativamente la producción. Tingey *et al.* (1991) señalan que los factores ambientales influyen las tasas de emisión, mientras que los factores genéticos controlan el tamaño del acervo y el tipo de químicos en la planta.

El estado fenológico de la planta también afecta la producción de monoterpenos. En las etapas de elevada actividad fotosintética, pero crecimiento limitado (antes del brote, en la primavera) se observa una elevada producción de monoterpenos. Después de la aparición de nuevas hojas en la primavera, cuando hay expansión foliar y se mantiene gran actividad fotosintética, la contribución de C a los terpenos se ve reducida. Un segundo repunte de terpenos se registra al momento de la acumulación de almidón previa al invierno. Posteriormente, cuando el crecimiento y la fotosíntesis declinan, el nivel absoluto de producción de terpenos también declina. (Lerdau, 1991).

La luz ejerce influencia de manera indirecta en el tamaño del acervo de monoterpenos (Tingey *et al.*, 1991), proveyendo energía fotosintética, controlando cambios anatómicos y fotoregulando la síntesis de monoterpenos. Se ha observado que la luz estimula la síntesis de monoterpenos en cultivos de tejidos en *Pinus radiata* (Banthorpe y Charlwood, 1980) y en *Pinus pinaster* la síntesis de monoterpenos, básicamente α -pineno y β -pineno, sólo ocurre en presencia de luz. (Gleizes *et al.*, 1980). La activación sólo ocurre con agujas enteras intactas. En contraste, la síntesis de sesquiterpenos ocurre en luz y oscuridad en hojas intactas o fragmentos y utiliza un amplio espectro de precursores. Estos resultados indican una compartimentalización en la síntesis

de los terpenoides C₁₀ y C₁₅ (Gleizes *et al.*, 1980). A pesar de la influencia de la luz en la biosíntesis de los monoterpenos, la luz no ejerce influencia directamente en las tasas de emisión, básicamente debido al gran acervo tisular (Dement *et al.*, 1975; Tingey *et al.*, 1980; Tingey *et al.*, 1991). Parece haber un caso de excepción, *Pinus densiflora*, el cual presenta cambios significativos en la tasa de emisión entre día y noche; es un caso poco claro (Tingey *et al.*, 1991).

III.3.2.2. *Lugar de síntesis, almacenamiento y emisión de monoterpenos*

Una gran variedad de hierbas y arbustos tienen glándulas epidérmicas de aceite que emiten monoterpenos. Entre otras familias encontramos Labiatae, Compositae y Geraniaceae (Croteau, 1987; Lerdau, 1991). En las labiadas, los contenidos de monoterpenos están fuertemente correlacionados con el número de tricomas glandulares presentes en la superficie de la hoja. Diversas observaciones Yamaura *et al.* (1989); Ameluxen *et al.* (1969, citado en Tingey *et al.*, 1991) y Venkatachalan (1984), indican que los tricomas glandulares son el sitio de síntesis y almacenamiento de los monoterpenos. En estos casos, los monoterpenos son almacenados externamente y la emisión parece ocurrir a través de la cutícula del tricoma (Lerdau, 1991).

En las coníferas, la síntesis de monoterpenos ocurre en células secretoras especializadas de las agujas y en los canales de resina de la corteza. En los géneros *Pinus*, *Larix* y *Pseudotsuga*, los monoterpenos son producidos en las células del parénquima y secretados a los ductos resiníferos adyacentes (Hanover, 1972).

Las células secretoras epiteliales son más especializadas en *Pinus* que en ningún otro género. En las agujas de *Pinus pinaster*, los monoterpenos se sintetizan preferentemente en las células epiteliales que forran los ductos resiníferos (Bernard-Dagan *et al.*, 1979). Estas células son muy activas en la base de la aguja. En las partes superiores se observa una degradación de las células epiteliales de las agujas, por lo que la parte basal tiene contenidos más

elevados de monoterpenos que la parte alta. En *Citrus* y *Poncirus* la síntesis de estos compuestos ocurre en los plastidios en unos elementos tubulares irregulares (Heinrich, 1966, 1970: citado en Tingey *et al.*, 1991). En contraste con los monoterpenos, los sesquiterpenos son sintetizados a través de toda la aguja en células sin funciones secretoras especializadas (Bernard-Dagan *et al.*, 1979). En el caso de las familias que presentan ductos internos especializados para almacenar los monoterpenos, por ejemplo Rutaceae, Pinaceae y Myrtaceae, aun no es clara la ruta de salida (Lerdau, 1991).

Al parecer, los terpenos que se almacenan internamente salen de las hojas a través de los estomas, sin embargo, la conductancia estomática parece no afectar significativamente las tasas de emisión (Lerdau, 1991). Si los monoterpenos se volatilizan directamente desde los canales resiníferos, tendrían que pasar los canales a través de las células epiteliales y las fibras que los rodean. Este camino parece difícil debido a la elevada resistencia que encontrarían los volátiles en su camino hacia el exterior. Otra posibilidad es que los compuestos que se volatilizan se sinteticen en las células mesófilas y se difundan directamente hacia espacios de aire intercelulares. Esto sugiere un control independiente entre el acervo de monoterpenos presente en la hoja, el cual es principalmente almacenado en los canales resiníferos, y las emisiones (Lerdau, 1991).

Así pues, parece que conocer la composición foliar de monoterpenos no es suficiente para predecir las tasas de emisión (Schindler y Kotzias, 1989; Lerdau, 1991). En las agujas de las coníferas los monoterpenos se movilizan a lo largo de un gradiente de presión de vapor (similar al de otras moléculas que se difunden en la hoja) desde los ductos de resina hacia el exterior (Tingey *et al.*, 1991), donde la presión de vapor esta determinada por dos parámetros: 1) cambios en la saturación de presión de vapor debidos a la temperatura, y 2) la proporción de cada monoterpeno en la resina.

Los diversos monoterpenos se comportan de manera semejante, aunque existen diferencias entre sus puntos de ebullición y presión de vapor (Tabla 4).

Así mismo, la solubilidad en agua puede explicar algunas de las diferencias en las tasas de emisión entre diferentes monoterpenos: a menor solubilidad, menor tasa de emisión.

El control en las emisiones estaría entonces gobernado básicamente por la temperatura, la concentración del monoterpeno en los ductos de resina y los caminos de difusión desde el conducto resinífero al espacio intercelular. La conductancia estomática, como se señaló anteriormente, parece jugar un rol menor (Tingey *et al.*, 1991). Las tasas de emisión en *Pinus elliotii*, plantean que: a) los monoterpenos mayormente emitidos son los que presentan los puntos de ebullición más bajos, b) que las emisiones se incrementan exponencialmente con aumentos en la temperatura, y c) que las emisiones son independientes de las tasas fotosintéticas y de respiración de las hojas (Tingey *et al.*, 1980).

Tabla 4. Puntos de ebullición y presión de vapor para algunos monoterpenos.

Compuesto	punto de ebullición (°C)	presión de vapor (mm Hg)
α -pineno	156	8.8
β -pineno	164	5.9
mirceeno	167	3.4
limoneno	178	3.3
β -fellandreno	171	2.5

Fuente: Tingey, *et al.* 1980

En efecto, parece haber acuerdo en que las tasas de emisión de monoterpenos se incrementan exponencialmente con la temperatura. Típicamente, las emisiones y la presión del vapor incrementan en la misma tasa a la que incrementa la temperatura. Sin embargo parece que los incrementos en las tasas de emisión son siempre mayores de lo que puede explicarse sólo por cambios en la presión de vapor (Tingey *et al.*, 1991). Alrededor de un rango de temperaturas, la proporción relativa de varios monoterpenos emitidos aparece aproximadamente constante. (Tingey *et al.*, 1979, Evans *et al.*, 1985). Los grandes incrementos de las emisiones al variar la temperatura, pueden ser comprendidos como resultado de cambios en las rutas de conducción o en

diferencias en el acervo de α -pineno, más que obedecer a cambios en la presión del vapor.

El hecho de que proporciones relativas de diversos monoterpenos no cambien con la temperatura, es consistente con un cambio en las rutas físicas de difusión o con cambios coordinados en el tamaño del acervo y las diferencias en la presión de vapor como controladores de los porcentajes (Tingey *et al.*, 1991).

En especies de *Picea* la transpiración y la emisión de monoterpenos se incrementan exponencialmente con la temperatura (Evans *et al.*, 1985). Estos procesos están altamente correlacionados debido a que ambos están controlados, en parte, por el presupuesto energético de la aguja. Rasmussen (1972) sugiere que la transpiración tiene una influencia significativa en la volatilización de α -pineno, debido a que éste es acarreado en el agua en la cavidad subestomatal y los ductos de resina asociados y posteriormente llevado hacia el aire en el vapor de transpiración de la planta. Esto no ocurre en todos los casos, ya que como en *Gossypium hirsutum* y en *Salvia mellifera*, las emisiones no están asociadas a estomas sino a glándulas de la superficie foliar (Tingey *et al.*, 1991). Croteau (1987) propone como la mejor explicación para el rápido incremento en las tasas de emisión (70 a 80%) que él observó en *Mentha piperita*, al colocar las plantas en condiciones de elevada humedad, que la hidratación de la cutícula de las glándulas de aceite provoca una mayor permeabilidad cuticular a los monoterpenos. Parece ocurrir lo mismo en *Pseudotsuga menziesii*, especie en la que la hidratación cuticular incrementa la conductancia de la ruta de difusión.

Schindler y Kotzias (1989) reportan que las tasas de emisión de monoterpenos en *Picea abies* y *Pseudotsuga menziesii*, correspondieron aproximadamente al 0.002% del total de los monoterpenos en el tejido. Si uno supone elevadas tasas de emisión durante un periodo de seis meses (verano), aproximadamente 4 a 5% del total de monoterpenos en una rama podrá volatilizarse a la atmósfera. Las tasas de emisión de agujas estresadas con

calor declina alrededor de un 11% diario y decrece a la mitad de la tasa inicial en un periodo de seis días. Nuevamente, estos datos son consistentes con la hipótesis de que procesos físicos inciden fuertemente en el control de las emisiones (Tingey *et al.*, 1991).

Como señalamos anteriormente, la composición tisular de monoterpenos y otros compuestos orgánicos volátiles está bajo un fuerte control genético. En *Pinus sylvestris* la composición de monoterpenos varía de manera significativa en función del origen geográfico de la planta (Tobolski y Hanover, 1971) lo que permite suponer que ecotipos diferentes pueden tener su propia composición de biogénicos. Consecuentemente, el patrón de emisión será distintivo y específico. También se observan variaciones diurnas y estacionales en los patrones de composición del acervo de monoterpenos, así como en las tasas de emisión. Como ejemplos de las dos situaciones anteriores apuntamos los siguientes casos resumidos por Tingey *et al.* (1991):

1) En *Gossypium hirsutum* se ha observado que las emisiones son mayores hacia el final de la tarde y menores por la mañana, sin embargo, compuestos específicos muestran patrones diferentes ya que los sesquiterpenos presentan mayores emisiones en la mañana que por la tarde; (e)-2 hexanol representó del 7 al 22% del total de las emisiones a mediodía y estuvo ausente en las mañanas.

2) En *Juniperus scopulorum*, los monoterpenos oxigenados y los sesquiterpenos tienden a incrementarse a lo largo del día, mientras que el sabineno decrece.

3) En *Pinus densiflora*, las emisiones de α -pineno son bajas en invierno y se incrementan en el verano. Las bajas emisiones del invierno, ajustadas por la temperatura, resultan por la baja intensidad de luz, lo cual probablemente influye en la producción de monoterpenos. Como ya lo hemos señalado, la composición del acervo de monoterpenos también varía estacionalmente, y

aunque se generan cambios en la producción, estos cambios no han sido asociados con alteraciones en las emisiones.

4) En *Picea sitchensis*, el mircenol es el monoterpeno que presenta las concentraciones más altas, (mayores del 95%) antes del nacimiento de la hoja, pero decrece a sólo 40% al final del verano cuando el canfor y el piperitone (monoterpenos oxigenados) se incrementan cada uno un 20% durante el mismo periodo.

5) En *Sequoia sempervirens*, las concentraciones foliares de monoterpenos cambian grandemente durante los primeros seis meses de crecimiento y después se estabiliza gradualmente.

6) En *Populus balsamifera*, las emisiones de α -pineno son altas en primavera y no existen en verano

En estos ejemplos se observa que los patrones específicos de emisión y la composición del acervo isular dependen de las condiciones ambientales y el estado fenológico asociado a estacionalidad y genotipo (Tingey *et al.*, 1991).

III. 4. Técnicas para el muestreo de hidrocarburos biogénicos

La selección del método a utilizar es un elemento importante del presente trabajo. Los métodos que sustentan trabajos previos realizados en el campo suelen variar de un grupo de investigadores a otro, desde las técnicas de obtención de las muestras, como en su almacenamiento y manejo en el laboratorio. Básicamente los métodos se agrupan entre técnicas de encierro, semi encierro y técnicas al aire libre.

III.4.1. Técnicas de encierro.

Las técnicas de encierro, como su nombre lo indica, aíslan el vegetal, ya sea una hoja, una rama o un individuo entero, del medio que le rodea (Rasmussen, 1972; Tyson *et al.*, 1974; Zimmerman, 1979; Lamb *et al.*, 1985; Tingey *et al.*, 1991; Juuti *et al.*, 1990; entre otros).

Los primeros trabajos que emplearon esta técnica generaban un encierro estático, en el cual la temperatura, la humedad y la propia concentración de gases en el interior del sistema se alteraba fuertemente, provocando en muchas ocasiones mediciones erráticas. Algunos autores consideran que estos sistemas arrojan buenos resultados en la identificación de especies de hidrocarburos que son emitidas en bajas concentraciones (p. ej. Evans *et al.*, 1982).

III.4.2. Técnicas de flujo dinámico.

La evolución de las técnicas de encierro se ha inclinado hacia la generación de cámaras donde se presente un efecto de encerramiento cada vez menor. Así, se ha desarrollado la técnica de encierros semiestáticos (Zimmerman, 1979) y sistemas con intercambio y flujos ya sea en cubetas, cámaras o bolsas de teflón (Loreto y Sharkey, 1990; Sharkey *et al.*, 1991; Monson *et al.*, 1991; Monson, 1990; Hewitt, 1990; Juuti *et al.*, 1990; Lerda, 1991). Estas técnicas son altamente útiles para definir tasas de emisión por especie, pues al tiempo que disminuyen las alteraciones por el encierro, la fuente emisora de los compuestos está claramente aislada.

III.4.2. Sistemas abiertos.

Las técnicas "abiertas" (open air) permiten coleccionar muestras de la presencia de hidrocarburos biogénicos en el aire, sin conocer al emisor. Al igual que en la metodología anterior, existen diferentes maneras de practicarla: con bombeos, con trazadores (hexafluoro), absorción con carbón activado, simple difusión. Este es un sistema que proporciona un rápido acercamiento a las concentraciones ambientales de biogénicos en una región determinada, sin embargo requiere espacios donde la interferencia con contaminantes antropogénicos pueda ser despreciable (Tingey *et al.*, 1991; Hov *et al.*, 1983; Greenberg y Zimmerman, 1984; Lamb *et al.*, 1986; Yokouchi y Ambe, 1988;).

Se han realizado trabajos comparando las técnicas de encierro con las abiertas, con la conclusión de que existe un buen acercamiento entre los datos obtenidos a través de los diferentes métodos (Knoerr y Mowry, 1981; Lamb *et al.*, 1985; Lamb *et al.*, 1986).

Así mismo, Juuti *et al.*, (1990) y Zimmerman (1979) han realizado trabajos en los que emplean de manera simultánea diversos sistemas para contener las muestras, bolsas de teflón, contenedores de acero inoxidable y cartuchos con Tenax, donde concluyen que no existen diferencias fuertes entre los diversos muestreadores.

En función de que el presente trabajo busca definir las tasas de emisión de hidrocarburos biogénicos de cada una de las cinco razas de maíz seleccionadas, de que el maíz está reportado como un emisor importante de HBNM; y de que la atmósfera de la ZMCM está altamente contaminada, se optó por usar como base la idea de la técnica de flujo dinámico a través de una técnica de encierro realizada por Juuti *et al.*, (1990), con ciertas modificaciones. Para contener las muestras y analizarlas en el laboratorio, se optó por el uso de tubos térmicos con Carbotrap-300 como agente adsorbente, y la desadsorción térmica asociada a la cromatografía de gases y espectrometría de masas (TD/GC/MS) desarrollada en la metodología TO-1 de la Agencia de Protección al Medio ambiente en Estados Unidos (EPA, 1984) y adaptada por Palmer (1993).

Las columnas que pueden ser utilizadas en el GC para separar los VOCs son 30 m X 0.25 mm ID DB-5 (FUSED SILICA CAPILLARY COLUMN, SUPELCO) o bien, la ID DB-1. Ambas sirven para separar hidrocarburos de diversos tamaños. Las tasas de flujo y las temperatura se programan de manera que se obtenga el mejor efecto en la separación y tiempo de análisis. Unido a este sistema se encuentra el espectómetro de masas (MS), el cual es utilizado como sistema de detección para el análisis cualitativo de las muestras a través de ionización por electrones (EI) y la información bibliográfica contenida en el

sistema de computo anexo. Para confirmar la identidad de los compuestos se emplean los tiempos de retención de los mismos.

IV. La importancia de las Emisiones de hidrocarburos biogénicos en la calidad del aire.

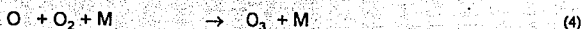
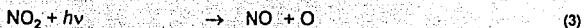
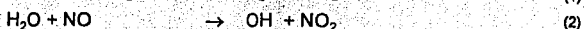
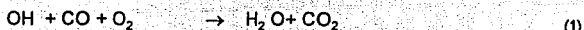
Recientemente y básicamente debido al fracaso de las políticas de abatimiento de los niveles de ozono en las grandes urbes de Estados Unidos, se ha incorporado la visión de que las emisiones biogénicas de hidrocarburos no metano pueden jugar un papel importante en la calidad del aire en las zonas urbanas que coexisten con áreas extensas de vegetación natural o cultivada (N.R.C., 1991; Flyckt, *et al.*, 1980; Cardelino y Chameides, 1990; Graedel, 1979; Logan, 1985 y 1989; Roberts, *et al.*, 1985; Roselle, *et al.*, 1991; Trainer *et al.*, 1988). En el estudio de Chameides *et al.* (1988) realizado en Atlanta se demostró que las emisiones biogénicas, aunque no se comparan en volumen con las emisiones antropogénicas, tienen un gran efecto en la producción de ozono. En ese estudio, al incorporar a un modelo de calidad de aire la presencia de los hidrocarburos biogénicos se encontró que para abatir los niveles de ozono por debajo de la norma de calidad del NAAQS (National Ambient Air Quality Standard: 0.12 ppm) se requería disminuir en 70% las emisiones antropogénicas de hidrocarburos.

Para la evaluación de la presencia de hidrocarburos biogénicos no metano en la calidad del aire de la ciudad de Atlanta, Chameides *et al.* (1988), aceptan la tasa propuesta por Zimmerman de $2,100 \mu\text{g m}^{-2} \text{h}^{-1}$ a 30°C , que es la tasa de emisión de isopreno por encinos (*Quercus* spp.) medida en cámaras. Se demostró que reduciendo los niveles de otros precursores, como el caso de los NO_x se tenían efectos más rápidos en la reducción de las concentraciones de ozono. Como consecuencia, Chameides *et al.* (1988) señalan que las emisiones biogénicas deben ser consideradas para poder generar planes ciertos en las reducciones de los niveles de ozono en las atmósferas urbanas. La contribución biológica de hidrocarburos proporciona una concentración base que no es removible de la atmósfera mediante controles de emisión, y por ello debe ser considerada como punto de partida para estimar las reducciones necesarias en las fuentes antropogénicas. Negar o minimizar su participación

ha sobreestimado la efectividad de las estrategias de abatimiento de ozono basadas en las reducciones de hidrocarburos antropogénicos. Actualmente parece haber aceptación en que la combinación de VOCs de origen biológico con los NOx antropogénicos pueden tener un efecto significativo en la formación fotoquímica del ozono en regiones urbanas y rurales, como se establece en el texto *Rethinking the Ozone Problem* (N.R.C, 1991). En este mismo texto se señala que las mediciones que se conocen de las concentraciones ambientales de isopreno y otros biogénicos, sugieren que estos compuestos pueden participar en los episodios de grandes concentraciones de ozono en los centros urbanos y otras áreas afectadas por las emisiones antropogénicas de NOx.

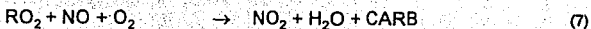
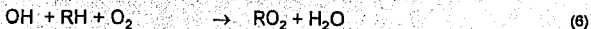
El número de moléculas de ozono que se pueden generar de los hidrocarburos biogénicos depende de la estructura de cada hidrocarburo y la composición atmosférica del momento; sin embargo, el isopreno pueden generar de 4 a 14 moléculas de ozono (Sillman *et al.*, 1990). La oxidación fotoquímica del CO, en presencia de NOx, puede producir ozono como se muestra en el siguiente mecanismo de reacción:

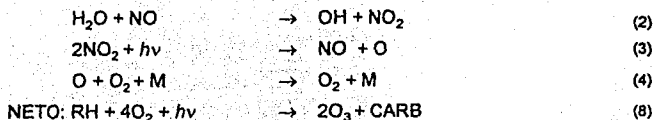
Para CO:



Este mecanismo es similar para CH₄ e hidrocarburos mayores como C₅ y C₁₀ (RH), aunque las rutas de oxidación para estos son un poco más complejas, observan una secuencia análoga a las de las reacciones 1 y 4:

Para RH:





donde CARB representa un carbonil o aldehído. Reacciones subsecuentes pueden generar más ozono (Sillman *et al.*, 1990).

Una de las razones por las que los volúmenes de hidrocarburos biogénicos no deben ser comparados de manera directa con los volúmenes de origen antropogénico, es que los primeros son, en conjunto, mucho más reactivos que los segundos y por ello, a pesar de encontrarse en concentraciones menores, pueden jugar un papel muy importante, sobre todo a nivel local, en la formación de ozono.

En el análisis de los conjuntos de datos acumulados obtenidos en diferentes regiones tanto urbanas como rurales, presentados en N.R.C. (1991), se utilizan dos métodos contrastantes para valorar el papel de las diversas especies de hidrocarburos. Uno, quizás el más comúnmente utilizado, se basa en la ordenación de los compuestos en función de su concentración (basada en el átomo de C), y los juegos de datos de diferentes localidades y horas se comparan en relación con el total de la concentración de volátiles orgánicos (la suma de las concentraciones de cada VOC). Este método no percibe las diferentes capacidades reactivas de las especies de VOCs, siendo que la tasa de producción de ozono de un VOC específico depende básicamente de su concentración en la atmósfera, pero también de su tasa de reacción con el OH y de su reactividad mecanística (esto es, el número de moléculas de ozono producidas cada vez que la especie es oxidada). Los dos primeros factores varían fuertemente entre los diferentes VOCs, mientras que la reactividad mecanística es más o menos uniforme entre las diferentes especies. El segundo método presupone que la relación entre la concentración de VOCs y su tasa de reacción con el OH determinan el papel relativo de cada VOC como precursor de ozono. Especies con elevadas concentraciones no

necesariamente son precursores importantes, si son poco reactivas, mientras que especies extremadamente reactivas pueden encontrarse en bajas concentraciones y ser importantes. En este método se define una concentración equivalente con el propileno, "Propy-Equiv(j)" para cada especie de volátil orgánico: (j). Esta concentración equivalente está dada por:

$$\text{Propy - Equiv}(j) = \text{Conc}(j) \frac{k_{OH}^{(j)}}{k_{OH}(C_3H_6)}$$

donde $\text{Conc}(j)$ es la concentración de especies j en ppb de carbono; $k_{OH}^{(j)}$ es la tasa constante de reacción entre las especies j y el OH; y $k_{OH}(C_3H_6)$ es la tasa constante de reactividad del OH y el propileno. Si una especie de VOC tiene una abundancia atmosférica de 10 ppb C y es dos veces más reactivo que el propileno, su Propy-Equiv será igual a 20 ppb C; si la especie es la mitad de reactiva que el propileno, entonces su Propy-Equiv es de 5 ppb C.

Utilizando los diferentes métodos en el texto señalado, se presentan dos listas de los compuestos que ocuparon los 35 primeros lugares en función del método aplicado (no reproducimos aquí las listas). Con el método basado en la concentración, las especies colocadas en primer lugar son dos compuestos relativamente poco reactivos: i-pentano y n-butano. El isopreno ocupa el décimo quinto lugar de esta lista, con una concentración promedio de 4.6 ppb C y constituye el 2% del total de VOCs presentes durante los muestreos. La suma de las concentraciones de cada VOC arroja una concentración total de volátiles orgánicos de 200 ppb C.

Con la aplicación del segundo método, balanceando reactividad con concentración, el resultado es sorprendente. El primer compuesto de la lista es el isopreno con un Propy-Equiv de 17.6 ppb C, seguido por otro compuesto biogénico, el 2 p-cimeno con un Propy-Equiv de 10.4 ppb C. El tercer compuesto de la lista, 3/m&P-xileno, presenta un Propy-Equiv de apenas 7.1 ppb C. Los dos compuestos ubicados en primer lugar en la otra lista ahora están en décimo primero y décimo octavo lugar respectivamente.

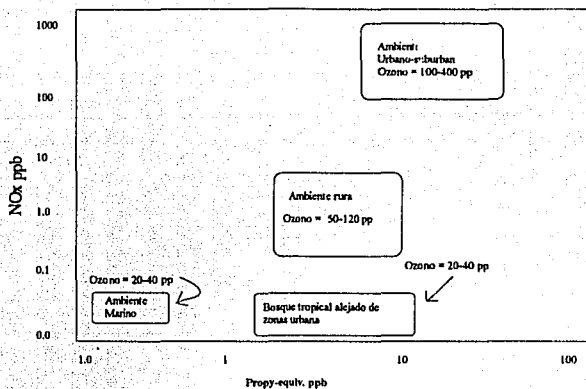


Figura 6. Concentraciones de volátiles orgánicos, óxidos de nitrógeno y ozono en la capa límite de la atmósfera en cuatro localidades. Los VOCs aparecen como concentración de propy-equiv en unidades de ppb de carbono. (Tomado de NRC, 1991).

Otro punto interesante observado a través de la aplicación de este método es que en las zonas urbanas y suburbanas, el Propy-Equiv de la concentración total es siempre menor que el total de concentración de volátiles (Figura 6), lo que significa que existen, de manera más o menos característica, grandes cantidades de compuestos poco reactivos en estas atmósferas. Mientras que en las zonas no urbanas, donde las emisiones de VOCs son básicamente biogénicas, el Propy-Equiv de la concentración total es siempre mayor que el total de la concentración de VOCs. Así mismo, el Propy-Equiv total de las selvas tropicales, durante la época de lluvias es más elevado que el Propy-Equiv de la concentración total de la mayoría de los datos de mediodía en las zonas urbanas y semiurbanas analizadas.

En ese mismo trabajo se intentó aclarar la importancia de las fuentes de los VOCs más reactivos seleccionando sólo especies no metano: antropogénicas (móvil y no móvil) y biogénicas (donde sólo se cuantifica al isopreno). Con la excepción de Baton Rouge, donde las fuentes biogénicas

dominan sobre las antropogénicas, los resultados muestran, en general, que las fuentes antropogénicas contribuyen mayormente a la reactividad de los VOCs en casi todas las zonas urbanas de los Estados Unidos analizadas (Atlanta, Detroit, Los Angeles, Columbus, Baton Rouge, Scotia, Brasstown, y Glendora).

Es interesante remarcar el hecho de que existen variaciones diurnas a este patrón, en donde en momentos la reactividad se debe a las especies emitidas por la vegetación. En Baton Rouge y Glendora, el pico de los antropogénicos se presenta temprano en la mañana, mientras que los biogénicos se cargan hacia mediodía y tarde, quizá debido a la dependencia de las emisiones de isopreno a la luz y la temperatura.

En Los Angeles, la contribución de los volátiles orgánicos biogénicos nunca iguala la concentraciones de origen antrópico. Sin embargo, en casi todos los datos de espacios urbanos y semiurbanos, una importante fracción de los VOCs reactivos proviene de las emisiones biológicas, por lo que parece bastante claro que la importancia de estos compuestos en la química de las atmósferas urbanas y semiurbanas no puede seguir siendo desdenada. Además, las emisiones biogénicas de hidrocarburos en escalas regionales y nacionales se pueden comparar en magnitud a las antropogénicas, como es el caso de los Estados Unidos, en donde las emisiones biogénicas de hidrocarburos no metano se estiman entre 30×10^9 y 60×10^9 Kg C año⁻¹ (Lamb *et al.*, 1987), mientras que las emisiones antropogénicas de hidrocarburos se calculan en 18×10^9 Kg C año⁻¹ (Zimmerman, 1979).

IV. 1. El caso de la Ciudad de México.

En un estudio presentado a la Comisión Metropolitana para la Prevención y Control de la Contaminación Atmosférica en el Valle de México (Ruiz *et al.*, 1994) se construyó un modelo de emisiones formado por uno varios modelos de follaje y un modelo de cobertura vegetal.

Para los modelos de follaje se hicieron las siguientes suposiciones:

- La existencia de un estrato superior compuesto sólo por el dosel de los árboles emergentes, expuesto a la misma temperatura e irradiación ($800 \mu\text{E m}^{-2} \text{h}^{-1}$).
- La existencia de un estrato arbustivo y o de pastos, donde, en ausencia del estrato superior, se les asignan las mismas condiciones de temperatura e irradiación que al dosel arbóreo.
- La existencia de un estrato medio del dosel o sotobosque compuesto por una combinación de pastos y arbustos. La radiación que recibe este estrato se encuentra atenuada por la presencia del estrato arbóreo. Se supone que la cobertura del dosel de las coníferas del valle, permite el paso moderado de radiación hacia el sotobosque y se ha fijado en $400 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$. El follaje de latifoliadas es más denso y, por tanto, deja pasar menos radiación, la cual se ha definido en $100 \mu\text{E m}^{-2} \text{h}^{-1}$.
- Que las coníferas sólo emiten monoterpenos, las latifoliadas sólo isopreno y los cultivos, pastos y arbustos emiten una combinación de ambos.

Por otra parte, el modelo de cobertura del suelo incorpora 12 categorías, cada una de las cuales representa, ya sea a un tipo de uso o vegetación, o una combinación de tipos.

Con una división en función de las condiciones climatológicas (a) secas frías: diciembre a febrero; b) secas calientes: marzo y abril; c) lluvias: mayo a noviembre); y con un ajuste de la emisión para la altura sobre el nivel del mar se contrastaron los promedios diarios de emisiones y temperaturas vs los promedios horarios, obteniéndose los resultados presentados en la Tabla 5.

En la Tabla 5 puede observarse que la obtención de datos a través del uso de medias de escala temporal mayor (diarias vs horarias) provoca una subestimación sistemática de las emisiones. El caso más evidente es el de las secas calientes, donde la subestimación puede llegar hasta el 35% de la emisión calculada con las medias horarias.

Tabla 5. Emisiones estimadas de hidrocarburos biogénicos en la Ciudad de México.

Época	Emisión estimada temperatura media diaria (Mg día ⁻¹)	Emisión estimada temperatura media horaria (Mg día ⁻¹)	Diferencia (%)
Secas Frías	87.5	103.5	15.5
Secas Calientes	117.3	181.2	35.3
Lluvias	115.0	138.2	16.8

Las emisiones reportadas, oscilan (dependiendo de la época y temperatura media utilizada), entre el 8.5% y 17.7% del total de las emisiones de hidrocarburos antropogénicos estimados para la zona metropolitana (372,525 Mg año⁻¹ equivalente a 1,020 Mg día⁻¹), por la Comisión Metropolitana para la Prevención y Control de la Contaminación Ambiental en el Valle de México. Sin embargo, del total de los hidrocarburos antropogénicos, sólo un 15%, correspondiente a las olefinas (153 Mg día⁻¹), se considera tan reactivo como los hidrocarburos naturales. Esto significa que las emisiones biogénicas pueden ser equivalentes a las especies reactivas de origen urbano. Es necesario hacer notar que los cálculos se hicieron con temperaturas medias, por lo que es posible que en días soleados de las secas calientes las emisiones de hidrocarburos naturales puedan duplicarse en ciertos momentos del día. Así mismo, el grueso de las emisiones biogénicas estimadas se concentra en las zonas sur, oeste y este, siendo el primero el que participa con un mayor porcentaje.

V. Materiales y Método.

El análisis de las emisiones de isopreno y monoterpenos en maíz se llevó a cabo en el NASA-Ames Research Center (USA), con plantas de semillas provenientes del banco de germoplasma del CIMMYT, en invernadero en condiciones homogéneas de temperatura, humedad, insolación y tipo de suelo. Esto permitió evitar encontrarnos con demasiadas variables fuera de nuestro alcance en términos de la diversidad de germoplasma y condiciones de crecimiento con que hubiéramos tenido que trabajar en el campo. Para capturar y determinar las emisiones de volátiles orgánicos se empleó la técnica de flujo dinámico a través del encierro de una rama u hoja, descrita por Juuti, *et al.* (1990) y Lerdau (cnv. pers.). Se modificaron algunas de las condiciones de esta técnica al adaptar el "Sistema para coleccionar volátiles semioquímicos en insectos y plantas usando un medio de carbón para la purificación del aire" desarrollado por Heath y Manukian (1992). El muestreo se realizó en el invernadero para evitar cambiar las condiciones ambientales de las plantas.

Una de las razones que inicialmente nos motivaron para incluir el maíz en el estudio de las emisiones de hidrocarburos no metano, es la elevada tasa de emisión asignada a esta planta en el informe de la EPA (1990) "*Development of seasonal and annual emissions inventories for the US and Canada*". Los autores del capítulo sobre las emisiones biogénicas, Goodrich y Maxwell (1990) asignan al maíz una tasa de emisión de $3,542 \mu\text{gC m}^{-2} \text{h}^{-1}$, equivalente a $2,35 \mu\text{g g peso seco}^{-1} \text{h}^{-1}$, donde 10% corresponde a α -pineno, 10% a otros monoterpenos y 80% a hidrocarburos no identificados. Como elementos de comparación presentamos las tasas de emisión asignadas a otra gramínea, el centeno, la cual es la que sigue al maíz en la lista presentada por Goodrich y Maxwell, y alcanza una tasa de emisión de $510 \mu\text{gC m}^{-2} \text{h}^{-1}$. La tasa asignada al tabaco, la planta que ocupa el tercer lugar de esta lista, es de $294 \mu\text{gC m}^{-2} \text{h}^{-1}$. La diferencia de emisión entre el maíz y las otras dos especies es considerable. Goodrich y Maxwell (1990) no asignan ningún porcentaje de emisión de isopreno al maíz; sin embargo, Evans, *et al.* (1982) señala al maíz como un

emisor bajo de isopreno: entre 0.01 y 1.1 $\mu\text{gC m}^{-2} \text{h}^{-1}$. Por otro lado, Sharkey *et al.* (1993) señalan que el maíz puede ser considerado como una "planta limpia" debido a los bajos niveles de emisión que encontraron en un estudio reciente en maíz híbrido norteamericano. El análisis de las emisiones de isopreno y monoterpenos en maíz nos permite agregar nuevos elementos en la valoración de la calidad y cantidad de hidrocarburos no metano generados por esta especie así como revisar la posibilidad de que estas diferencias puedan deberse, no sólo a errores de medición, sino a variaciones en las emisiones según las razas (Meeks, *et al.*, 1993; Pierce y Van Meter, 1993).

V.1 Procedimiento para la captura y determinación de isopreno y monoterpenos.

El muestreo se llevó a cabo en el invernadero para evitar modificar las condiciones ambientales de las plantas. La obtención de los datos de emisión de las plantas se realizó a través de la técnica descrita por Juuti *et al.* (1990), modificada para adaptar un sistema de encierro con flujo controlado que incorpora aire ambiental a través de un sistema de filtración con carbón activado.

El procedimiento de muestreo inicia con una muestra de respaldo, esto es, sin material vegetal. En seguida se toma una muestra en la que se incluye la hoja de maíz a muestrear. Simultáneamente se toma la temperatura ambiente (Indicador de humedad y temperatura HM1 31 VAISALA), la temperatura de la cámara (en el tomador de muestras GS) y la temperatura de la hoja (termómetro infrarrojo C-600 Linear Laboratories), así como la humedad relativa del ambiente (Indicador de humedad y temperatura HM1 31 VAISALA) y de la cámara (en el tomador de muestras GS). Se registran la presión atmosférica (en el tomador de muestras GS), y la intensidad lumínica (Quantum/Radiometer/Photometer LI-COR modelo LI-189). Como se mencionó en el capítulo de antecedentes, uno de los elementos importantes en la determinación de las tasas de emisión de las plantas es la temperatura, no sólo la ambiental, sino también y de manera muy importante, la de la hoja. Por ello

se midió la temperatura del material vegetal con un termómetro de rayo infrarrojo, evitando así la necesidad de adherir un termopar a la planta y con ello problemas de sensibilidad y contaminación.

Una vez terminada la toma de la muestra, se corta la hoja al nivel que se internó en la cámara para ser medida en un planímetro y posteriormente pesada, secada (durante 72 horas a 70 °C), y pesada nuevamente para obtener el peso seco de la misma. El tubo de colecta de muestra se guarda en un contenedor de vidrio cerrado y se traslada al laboratorio para su inmediata desadsorción térmica y análisis vía cromatógrafo de gases, espectrómetro de masas TD/GC/MS. Una muestra blanco acompaña todas las muestras de una sesión.

Las muestras, por tanto, tienen dos referentes de comparación: la muestra blanco y la muestra de respaldo. La muestra blanco nos ayuda a discernir entre compuestos capturados en la cámara y compuestos inherentes al material atrapante y verificación del proceso de limpieza del mismo. La muestra de respaldo sirve para diferenciar entre compuestos emitidos por las plantas y contaminación en la cámara. Esto es, si se presentan hidrocarburos biogénicos en esta muestra, ellos deberán ser restados a las muestras que incluyen material vegetal pues se supone que estos hidrocarburos base se deben a contaminación en la cámara.

Para la consecución de datos fue necesaria la preparación, montaje y verificación del sistema de colecta, desde la generación de aire hacia el filtro de carbón, hasta la colecta de las muestras. La eficiencia del sistema de filtración del aire del medio a través del filtro de carbón fue comprobada realizando muestras con diferentes volúmenes (10 litros, 3,5 litros y 1 litro) y todas con un flujo de aire acarreador de 3 L min^{-1} y un flujo de colecta de 0.2 L min^{-1} . Esta verificación nos permitió hacer la suposición de que el sistema de filtración era suficientemente efectivo para los propósitos de este trabajo.

Se obtuvieron en total 55 muestras con vegetación, más 23 muestras de control de cámara. Por cada raza se realizaron tres juegos de muestreo. Las muestras se tomaron a lo largo del día, para determinar si las variaciones en luz y temperatura afectan el patrón de emisión y si hay respuesta diferencial entre las razas a estas variaciones.

V.1.1. Sistema de obtención y análisis de los datos

V.1.1.1 Material Vegetal.

Las plantas de maíz empleadas en este trabajo han sido cultivadas a partir de semillas proporcionadas por el Banco de Germoplasma del CIMMYT, México. Con fines comparativos se han cultivado cinco razas diferentes (Tabla 6).

Según Sánchez y Goodman (1992), las razas cónico y chalqueño pertenecen al grupo cónico y son típicas de las tierras altas del centro y norte de México. Las tres restantes pertenecen al grupo tropical de elevaciones medias y bajas.

Tabla 6. Información sobre las semillas de maíz empleadas en este trabajo.

No ident	País	Pedigrí Acc	Nombre	Raza	Altitud	Dirección	Origen	No
472	Mex.	Vera.	39	TUXPEN9	106	CO2030312	TL70B-1981-0	20
1773	Mex.	Chiá.	224	ZAPORA9	100	CO4050113	TL82A-102-0	20
10434	Mex.	Mexi.	37	CHALQU9	2255	C14040314	BA87-2901-67	20
10435	Mex.	Mexi.	38	CONICO9	2835	C14040315	BA87-2901-68	20
10478	Mex.	Oazu.	36	CELAYA9	1800	C14060318	TL87-1901-216	20

Las semillas fueron sembradas en charolas de germinación en invernadero el 22 de abril de 1993 y se dividieron en cinco lotes en función de las cinco razas quedando de la siguiente manera:

Se sembraron 20 semillas por lote con 3 cm de enterramiento, a 2 cm de distancia, en un sustrato comercial esterilizado al vapor denominado "Potting Mix". Las semillas se regaron cada 48 horas a saturación con agua simple. Las semillas germinaron entre los siguientes 7 a 13 días. No todas las semillas germinaron y para mantener homogéneos los lotes se trasplantaron 15 plantas

de cada raza en macetas, de 15 cm de diámetro X 15 cm de profundidad, con el mismo tipo de sustrato.

V.1.1.2. *Técnica de encierro dinámico con flujo de aire ambiental incorporado a través de un sistema de filtración con carbón activado.*

La técnica seleccionada para la captura de datos es la utilizada por Lerdau (*conv. pers.*) a la cual se le han realizado adaptaciones que permiten una mayor maniobrabilidad del equipo. Este sistema de colección de volátiles mantiene el principio de ser un sistema de flujo dinámico a través del encierro de una rama, en el caso de las especies arbóreas, o una hoja en el caso del maíz. Sin embargo, presenta variaciones. Consiste de tres componentes principales: un mecanismo de incorporación de aire (air delivery system o ADS), unido a un filtro (air filter system o AFS) que purifica este aire; el aire purificado entra a una cámara cilíndrica de vidrio (volatile collection chamber o VCC) en donde se introduce el material del cual se pretende coleccionar los volátiles (Figura 7). Este sistema fue diseñado en el Agricultural Research Service U.S. Department of Florida (Heath y Manukian, 1992).

Este sistema ha sido comparado con otros sistemas de purificación de aire y ha probado ser un sistema eficiente en calidad y cantidad de aire requeridas para la colección de volátiles orgánicos en plantas e insectos. Así mismo, se ha probado la capacidad del sistema para evitar cambios en la humedad entre el aire del ambiente y el aire en la cámara de colecta, probando ser un sistema efectivo al no reducir la humedad relativa del aire purificado en comparación con el aire bombeado (Heath y Manukian 1992).

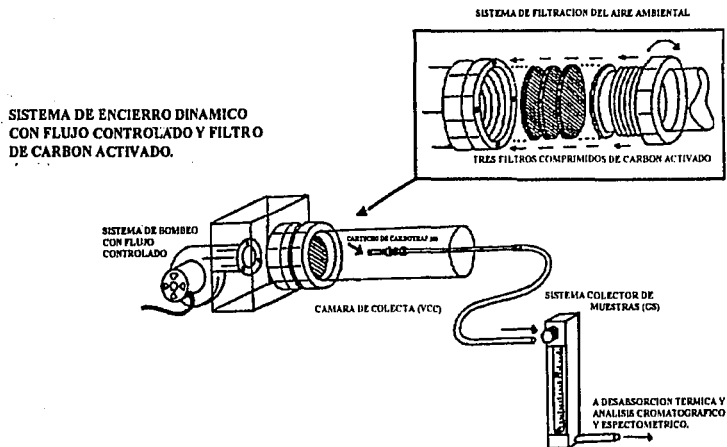


Figura 7. Sistema colector de volátiles orgánicos en plantas.

El filtro de aire (AFS) está formado de dos partes principales, el medio de filtración, y su sostén. Este sostén es un acoplador de fenol de 9.8 cm. El material empleado en el filtro es fibra de poliéster sin tejer, integrada con carbón activado. Se tomaron muestras de prueba para certificar la calidad del sistema de filtración. La incorporación de aire (ADS) del ambiente se da a través del filtro usando una pequeña bomba (blower) capaz de bombear 15 cfm en aire libre a 3160 rpm a 115 AC y 0.21 A (Dayton Electric Model 4C442). La salida del aire de la bomba está conectada a través de un tubo de 2.54 cm de diámetro a una pequeña antecámara de plexiglass de 13.5 cm² X 6.7 cm de grosor. Esta antecámara sirve para conectar la bomba con el sistema de filtración y asegura una distribución homogénea del aire a través del filtro. El control de la velocidad del aire a través de la cámara de colecta se logró conectando la bomba a un transformador (Powerstat type 3PN116, Superior

Electrical C.O.) el cual ajusta el voltaje del motor de la bomba. Utilizando un flujómetro de 500 ml y un cronómetro, se calibraron los valores del transformador en términos de tasas de flujo (ml/s). Se hicieron siete repeticiones para cada cambio en el voltaje y se realizaron dos réplicas una en el invernadero (Tabla 7) y otra en el laboratorio (Tabla 8) para certificar que no había variaciones en la corriente. Además se realizó otra comparación con otro transformador (E 21001 Scientific Products), obteniéndose datos muy similares (Tabla 9).

Tabla 7. Mediciones para establecer la relación entre el flujo de aire generado por la bomba y los números del controlador de voltaje.

Equipo: Powerstat type 3PN116, Superior electrical CO. OutV 0-140 Max Amp 7.5 50/60 PH1 Flujómetro SUPELCO 500ml. Mediciones realizadas a 400 ml. Datos tomados en el invernadero.

variación	tiempo 1	tiempo 2	tiempo 3	tiempo 4	tiempo 5	tiempo 6	tiempo 7	tiempo promedio (min)	flujo promedio (l)	tasa de flujo (l/min)
50	9	9	9	9	9	9	9	9.00	44.44	2.67
60	7.4	8	7	7	8	8	8	7.57	52.86	3.17
80	7	6.8	6.8	6.6	7	6.8	6.8	6.83	58.58	3.51
100	6.4	6.2	6.4	6.8	6.4	6.4	6.2	6.40	62.50	3.75
140	6.4	6.4	6.4	6.4	6.6	6.4	6.4	6.43	62.22	3.73
140	6.4	6.4	6.8	6.8	6.4	6.6	6.4	6.54	61.14	3.67

Tabla 8. Datos tomados en el Laboratorio.

variación	tiempo 1	tiempo 2	tiempo 3	tiempo 4	tiempo promedio (min)	flujo promedio (l)	tasa de flujo (l/min)
50	8	8	8	8	8.00	50.00	3.00
60	8	8	8	8	8.00	50.00	3.00
70	6	6.2	6	6.3	6.13	65.31	3.92
80	6.5	6.5	6	6	6.25	64.00	3.84
90	6	6	6	6.2	6.05	66.12	3.97
100	6	6	6	6	6.00	66.67	4.00
110	6	6	6	6	6.00	66.67	4.00
120	6	6	6	6	6.00	66.67	4.00
140	6	6	6	6	6.00	66.67	4.00

Tabla 9. Equipo: Scientific Products E21001 in 120 V 50/60.

Datos tomados en laboratorio.

máximo voltaje (%)	tiempo 1	tiempo 2	tiempo 3	tiempo promedio (min)	flujo promedio (l)	tasa de flujo (l/min)
30	no flujo			0	0	0
50	7.4	7.1	7.2	7.23	55.30	3.32
70	6.1	6.3	6.3	6.23	64.17	3.85
100	6.1	6.1	6.2	6.13	65.22	3.91

La cámara de colecta (VCC) es un cilindro de vidrio Pyrex de 0.32 cm de grosor, 25.7 cm de largo y 7.6 cm de diámetro interno unido, por uno de sus extremos, al sistema de filtración de aire y abierto por el otro. Por el extremo abierto se introduce la hoja de maíz y el colector de muestras (Volatile Collector Trap o VCT). El Sistema colector de muestras no venía incorporado originalmente al sistema, por lo que se adaptó un muestreador de gases (DESAGA GS 312. SN 92601). Este VCT genera su propio flujo de aire, lo mide y controla la tasa de flujo y volumen, de manera que cambios en temperatura y presión se corrigen automáticamente para mantener las tasas de flujo y volumen de muestreo constantes, lo que permite comparar muestras tomadas a diferentes temperaturas y presiones. Los colectores de muestra, esto es, los tubos conteniendo el agente atrapante se adaptan a este colector de volátiles VCT.

V.1.1.2.1. Volúmenes y flujos de colecta

Para calcular el volumen máximo de aire que puede ser muestreado y la tasa máxima de flujo que puede ser utilizada sin sobrepasar la capacidad del colector de muestra, se utilizaron las fórmulas descritas en el método TO-1 de EPA (1979 y 1984). Se tomaron volúmenes de muestras de 20 y 15 litros a un flujo de 200 ml/s. Es importante determinar los volúmenes de aire que se van a coleccionar y los flujos a los cuales se colecciona, para evitar sobrepasar la capacidad de adsorción del material atrapante. De igual modo es importante conocer estos factores para poder determinar las tasas de emisión.

El volumen máximo se obtiene usando la siguiente expresión:

$$\max = \frac{V_b * W}{1.5}$$

Donde:

Vmax = volumen total calculado en litros.

Vb = volumen de sobrepasamiento para el compuesto de interés con menor capacidad de retención por el agente atrapante (l/g).

W = peso del agente atrapante en el tubo en gramos.

1.5 = es un factor de seguridad, sin unidades, para permitir la variabilidad de la atmósfera. Este factor es apropiado para atmósferas entre 25 y 30 °C.

La tasa de flujo máxima se obtiene:

$$Q_{\max} = \frac{V_{\max}}{t \cdot 1000}$$

Donde:

Qmax = la tasa de flujo máxima calculada en ml/min

t = es el tiempo deseado de muestreo en minutos.

La tasa de flujo máxima debe producir una velocidad de flujo lineal de 50-500 cm/min.

La velocidad lineal correspondiente a la tasa de flujo máxima se calcula usando la siguiente fórmula:

$$B = \frac{Q_{\max}}{\pi \cdot r^2}$$

Donde:

B = es la velocidad de flujo lineal calculada en cm/min

r = es el radio interno del tubo colector de muestras.

Los valores empleados en la estimación son los siguientes:

$V_b = 40$ l/g, que es el volumen estimado de retención en la Tabla 10 de volúmenes estimados de retención en el método TO-1 de EPA para 1-heptano a 100 °F. Se seleccionó este compuesto por ser de características de volatilidad semejantes a los terpenoides.

$W = 0.80$ g en el caso de tubos de TENAX-TA preparados en el laboratorio.

$$r^2 = 0.1008 \text{ cm}$$

sustituyendo estos datos en la fórmula tenemos:

$$\max = \frac{VB * W}{1.5}$$

por lo tanto:

$$\max = \frac{40 * 80}{1.5} = 21.33/$$

Una vez obtenido el V_{\max} , podemos estimar diferentes Q_{\max} , en función del tiempo requerido para muestrear. En caso de que se obtenga una B alta se puede reducir directamente la V_{\max} para disminuir el tiempo de muestreo o disminuir la Q_{\max} incrementando el tiempo, como se aprecia en la Tabla 10.

Tabla 10. Relación entre los tiempos de muestreo requeridos para alcanzar un volumen y tasa de flujo que no sobrepasen el requerimiento señalado en la metodología de EPA de un valor de B = 500.

tiempo (min)	V_{\max} (l)	Q_{\max} (ml/min)	B (cm/min)	V_{\max} (l)	Q_{\max} (ml/min)	B (cm/min)	V_{\max} (l)	Q_{\max} (ml/min)	B (cm/min)
10	21.33	2133	6735	10	1000	3157.9	5	500	1578.9
20	21.33	1066	3366	10	500	1578.9	5	250	789.4
30	21.33	711	2245.2	10	333	1051.5	5	166.6	526.3
35	21.3	608.5	1921.7	10	285.7	902.2	5	142.8	451.1
60	21.33	355	1121	10	166.6	526			
90	21.33	237	748.4	10	111	350.5			
120	21.33	177.7	561.1						
150	21.33	142.2	449						

Como se destaca en la Tabla 10, a menor V_{\max} , se requiere menor cantidad de tiempo de muestreo para poder alcanzar un valor aceptable de B. A cualquier V_{\max} , mientras mayor sea el tiempo de muestreo, menor será la Q_{\max} .

El tiempo es factor importante debido a los cambios en temperatura que se provocan dentro de la cámara de colecta y que pueden alterar el comportamiento de las emisiones. Mientras menos tiempo dure el "encierro", más confiables serán los datos. Así mismo, la resolución del sistema GC/MS es de partes por trillón de volumen, lo que reduce el riesgo de perder información al reducir el volumen de aire a colectar. Desgraciadamente, no se puede trabajar con flujos de muestra menores a 200 ml/min, ya que el sistema colector de muestras (VCT) no puede trabajar con valores inferiores. No hay manera de que una $Q_{max} = 200$ ml/min ajuste a una $B < 500$ cm/min (siempre será de $B = 632$ cm/min). Así pues, el cuadro anterior sirve como guía para poder ajustar los tiempos y el volumen máximo de colecta a un flujo de 200 ml/min. Para hacer una aproximación más específica a los tiempos y volúmenes de colecta en función de una $Q_{max} = 200$ ml/min se ha reorganizado la ecuación de Q_{max} de la siguiente manera:

$$t_{max} = \frac{V * 200}{1000}$$

de donde:

$$t = \frac{V_{max} * 1000}{200}$$

La relación lineal entre V_{max} y el tiempo, presente en la ecuación, nos permite observar nuevamente que a menor tiempo de colecta, menor V_{max} . Para establecer el volumen y el tiempo se han realizado muestreos usando $V_{max} = 10$ l, $V_{max} = 5$ l, $V_{max} = 3.5$ l y $V_{max} = 1$ l, en donde el tiempo se ajusta en función de la temperatura y presión del momento, como se señala en la descripción del sistema de captura de datos (VCT).

V.1.1.2.3. *Colectores de muestra.*

Los colectores de muestra son tubos de acero inoxidable de 7" x 1/4" rellenos de un agente atrapante o absorbente. se seleccionó CARBOTRAP-300, por ser un agente atrapante selectivo para compuestos carbonados.

Unidad de preparación de los colectores de muestra (Thermal Trap Conditioner o TTC).

Los colectores de muestra deben ser acondicionados para poder capturar los compuestos requeridos. El sistema empleado es una unidad de acondicionamiento térmico (TEKMAR Modelo 5100) para tubos de desadsorción. La unidad de TTC calienta los cartuchos a altas temperaturas durante varias horas dependiendo del agente atrapante (Tabla 11), a la vez que los purga a un flujo de 10 -15 ml min⁻¹ con nitrógeno libre de hidrocarburos (99.999 % de pureza, con menos de 0.05 ppm de carbono orgánico total).

Tabla 11. Temperaturas y tiempos requeridos para condicionar los colectores de muestra

<i>Material absorbente</i>	<i>Temperatura (°C)</i>	<i>Tiempo (hr)</i>
CARBOTRAP (nuevo)	315	12
CARBOTRAP (reuso)	315	3

V.1.1.3. *Sistema de desadsorción térmica (TD).*

Una vez tomadas las muestras, éstas son llevadas al laboratorio para su inmediata desadsorción térmica. La desadsorción implica el traspaso de los hidrocarburos atrapados en el colector de muestra (cartucho con CARBOTRAP-300) al sistema de análisis. Este proceso es uno de los pasos más importantes en la metodología, ya que de la calidad de éste depende que los biogénicos capturados por el material atrapante sean transportados al cromatógrafo y espectrómetro.

El sistema de TD (TEKMAR model 6000 TD) consta de una unidad de criofoco para desadsorber y concentrar los compuestos volátiles desde la unidad colectora de muestra hacia el sistema integrado por el cromatógrafo de gases y el espectrómetro de masas (GC/MS) (Figura 8). Durante el proceso de desadsorción térmica el tubo que contiene la muestra se calienta y purga con gas helio. La muestra calentada libera los volátiles que fluyen hacia una trampa interna, donde son congelados a temperaturas criogénicas y retenidos para ser trasladados al cromatógrafo.

V.1.1.4. Sistema de análisis cualitativo y cuantitativo a través de cromatografía de gases y espectrometría de masas (GC/MS).

Se empleó un cromatógrafo Varian modelo 3400 con una columna J and W Scientific 25 m x 25 mm ID DB-5 ms, y un espectrómetro Finnigan modelo TMS que ha sido escalado a un modelo ITS40, lo cual lo provee de una sensibilidad de un orden de magnitud mayor. Como gas acarreador a través de la columna del GC se empleó helio, a un flujo de 30 cm/seg.

Los iones son analizados aplicando un voltaje de radio frecuencia (1.1 MHz) al electrodo que circunda la trampa. Un pequeño voltaje AC (voltaje de modulación axial) con frecuencia fija (525 KHz) y amplitud fija, se aplica también a la parte terminal de los electrodos durante el análisis para mejorar la expulsión de los iones y la resolución por unidad de masa.

Para la determinación y cuantificación de los compuestos observados se corrieron estándares de los propios compuestos, preparados como se describe en el "Standars Operating Procedure for the Preparation and Use of the Organic Gas Mixtures in a Static Dilution Bottle" de EPA (1979).

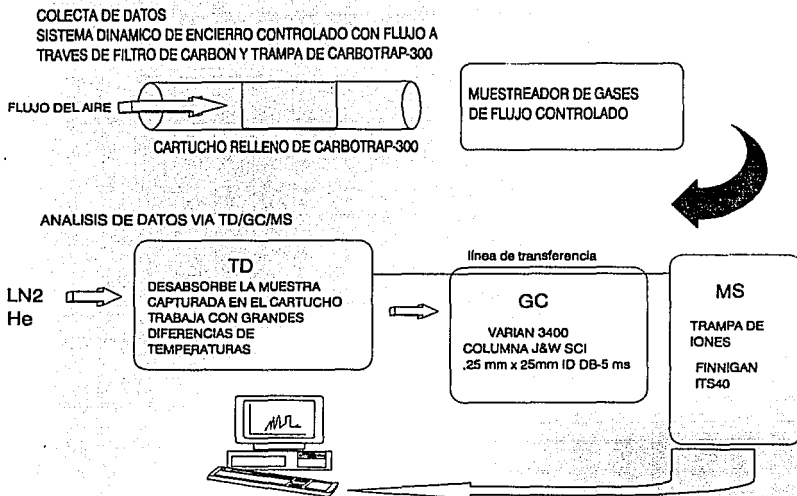


Figura 8. Diagrama del sistema de colecta y análisis de datos.

El primer paso para la obtención de los estándares ha sido la preparación del material de laboratorio. Todo el material de cristalería es cuidadosamente lavado en agua jabonosa y luego enjuagado con agua destilada. Para secarlo se incluye en un horno a 200 °C por una hora. Los compuestos usados son productos comerciales de uso restringido a laboratorio.

En la definición de las concentraciones a preparar se define el intervalo de concentraciones que debe cubrir el estándar, esto es, entre qué valores de concentración puede aparecer cada compuesto en las muestras (ej: 1 ppm, 10 ppm, etc). Basados en trabajos previos realizados en el laboratorio se decidió cubrir un espectro de entre 10 ppb y 0.1 ppb (Palmer y Wong, 1993). Se corrieron estándares de los hidrocarburos biogénicos no metano más comunmente emitidos (Tabla 12).

Tabla 12. Lista de compuestos de los cuales se prepararon estándares.

Compuesto	Peso molecular	Punto ebullición (°C)	Densidad (g/ml)
isopreno	68.13	-	1.6810
α -pineno	136.24	156.2, 51.4	0.8582
β -pineno	136.24	164, 59.7	0.8694
mirreno	136.24	167, 65	0.8013
limoneno	136.24	177-8, 64.4	0.8422
α -terpineno	136.24	173.4	0.838
γ -terpineno	136.24	183	0.849
sabineno	136.24	182.8	0.8468
Δ^3 -careno	136.24	188-9, 123-4	0.8586
canfeno	136.24	158	0.8448

Como solvente para la preparación de los estándares se empleó hexano, por haber sido eficiente en preparaciones previas (Palmer, 1993). Se prepararon cuatro diluciones mezcladas con todos los monoterpenos mezclados y cuatro diluciones de isopreno. Se inyectó un nanogramo (ng) de la solución más diluida, 0.1 ppm, para obtener un estándar contra el cual comparar las muestras preliminares obtenidas en el invernadero, y así saber si hay presencia de terpenoides en las mismas. Así mismo, se realizaron comparaciones con estándares previamente corridos en el laboratorio para poder ubicar la presencia de isopreno y monoterpenos. Debido a la dificultad de diferenciar las muestra de monoterpenos inyectadas colectivamente, se realizaron dos pruebas más inyectando sólo 4 compuestos a la vez.

Los datos se analizaron y evaluaron usando los estándares, las diferentes aplicaciones del software residente en el sistema de datos (Chro Analysis, Chromatogram, Spectrum Plots, Mass/Intensity List, Library Search, Quantitation, etc.) y referentes bibliográficos.

VI. Resultados y Discusión.

Se registraron emisiones tanto de isopreno (Tablas 13 y 14 y Figuras 9, 10 y 11) como diversos monoterpenos, principalmente α -pineno y canfeno (Tabla 14; Figuras 12, 13 y 14). Aún quedan especies de monoterpenos por identificar. Las emisiones registradas son muy bajas, lo cual nos permite considerar, en coincidencia con Sharkey *et al.* (1993), al maíz como una "planta limpia" en cuanto a su contribución de biogénicos no metano a la atmósfera.

Tabla 13. Emisión estimada de isopreno y monoterpenos en cinco razas de maíz.

raza de maíz	monoterpenos		isopreno		total	
	($\mu\text{g g peso seco}^{-1} \text{h}^{-1}$)	(%)	($\mu\text{g g peso seco}^{-1} \text{h}^{-1}$)	(%)	($\mu\text{g g peso seco}^{-1} \text{h}^{-1}$)	(%)
Chalqueño	nc		nc		nc	
Cónico	nc		0.0021	100	0.0021	100
Celaya			0.0005	100	0.0005	100
Tuxpeño			0.00003	100	0.00003	100
Zapalote gde.			0.00006	100	0.00006	100
Promedio			0.0006		0.0009	100

nc: no cuantificable.

La presencia de monoterpenos ha sido identificada en un gran número de muestras. Sin embargo, la presencia de estos compuestos en las muestras de respaldo de limpieza de los cartuchos y/o en las muestras de respaldo de la cámara hace que los valores de las concentraciones estimadas, en las muestras con material vegetal, sea negativo y por ello se identifica como no cuantificable (Palmer y Wong, 1993). Esto es independiente de la sensibilidad del sistema de detección cuyo umbral es de picogramos (10^{-6}).

El único caso donde la presencia de α -pineno y canfeno se repite a través de todas las muestras es el de la raza chalqueño. En general, la presencia de dichos compuestos puede deberse, por un lado, a una emisión diferencial, y por otro, a problemas de contaminación de los cartuchos y/o de la campana de muestreo. La contaminación de los cartuchos puede haber ocurrido al preparar las diluciones para generar los estándares. Sin embargo, de ser este el caso, no se explica porque α -pineno y canfeno son prácticamente

los únicos que aparecen en casi todas las muestras de las razas chalqueño, celaya, tuxpeño y zapalote grande, y por que no aparecen en la raza cónico (Tabla 14). Es probable que exista una combinación de ambas situaciones: un patrón de emisión diferencial por raza y contaminación de los cartuchos. Es importante señalar que la presencia de estos monoterpenos no alteran las estimaciones de las tasas de emisión presentadas en este trabajo y se reportan sólo con la intención de mostrar su detección, la cual puede ser importante con fines comparativos.

Si las distintas tasas y patrones de emisión obedecen a diferencias en la composición tisular, la cual está bajo fuerte control del genotipo (Tobolsky y Hanover, 1971; Schindler y Kotzias, 1989; Lerdau, 1991), estos elementos, tasa y patrón, podrían ser considerados como un sustento más de juicio en los estudios de clasificación del maíz.

Tabla 14. Resultados del análisis de emisiones de isopreno y monoterpenos en cinco razas mexicanas de maíz.

COMPUESTO	R a z a					
	CHALQUEÑO	CÓNICO	CELAYA	TUXPEÑO	ZAPALOTE GRANDE	
	($\mu\text{g g peso seco}^{-1} \text{ hr}^{-1}$)					
C ₅ H ₈	isopreno	nc	0.002128	0.000469	0.0000278	0.0000574
C ₁₀ H ₁₆	α-pineno	nc		nc	nc	nc
	canfeno	nc		nc	nc	nc
	β-pineno	*				
	no identificados					
	scan No.					
	550 - 558		*			
	577 - 580 - 582	*				
	661		*			
	753 - 754 - 758		*			
	830 - 833		*			
842 - 844		*				
839 - 942 - 943		*			*	

NC no cuantificable.

* Monoterpeno no identificado.

Para analizar esta hipótesis se realizó una comparación entre los patrones de emisión estimados para cada raza, con el dendograma de razas propuesto por Sánchez y Goodman (1992). En ese trabajo se agrupan, por un lado, cónico y chalqueño con una distancia de intersección en el dendograma de más 0.36 puntos, mientras que las otras tres razas se agrupan a una

distancia de menos de 0.36 puntos y la intersección entre ambos grupos ocurre en la máxima distancia del dendograma: 1.08. Si se observa con detenimiento la Tabla 14, se puede detectar lo siguiente: en un grupo se ubican celaya, tuxpeño, zapalote y chalqueño quienes comparten la presencia de α -pineno y canfeno, prácticamente como únicos monoterpenos detectados. Sin embargo en este grupo, chalqueño se distingue de los demás por no presentar una tasa estimable de isopreno (Figura 9); por otro lado, quedaría la raza cónico, la cual no registra las mismas especies de monoterpenos que el resto, y su tasa de emisión de isopreno es la más alta ($0.0021 \mu\text{g g peso seco}^{-1} \text{ hora}^{-1}$). Si bien los resultados de este trabajo no empatan del todo con la organización racial del maíz propuesta por Sánchez y Goodman (1992), sí se observa cierta similitud en la separación de los grupos: cónico y chalqueño, diferentes entre sí y diferentes de las otras tres razas; zapalote grande, tuxpeño y celaya más similares entre sí. Obviamente se requiere de más estudios de este tipo para poder aseverar que existen patrones diferenciales de emisión y que estos pueden ser una herramienta útil para entender la organización racial del maíz

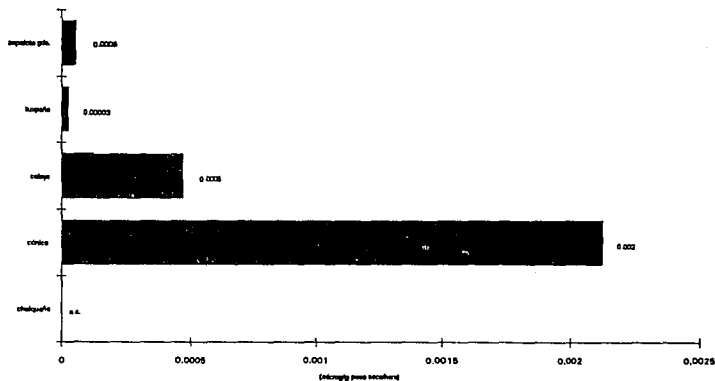


Figura 9. Emisión de isopreno en las cinco razas de maíz (cónico, chalqueño, tuxpeño, zapalote grande y celaya).

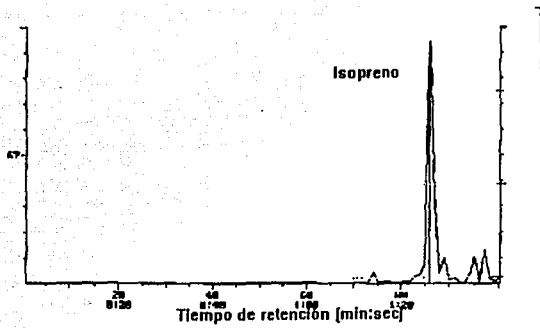


Figura 10. Cromatograma de una muestra de las emisiones foliares de maíz, en el que se observa claramente el pico correspondiente a Isopreno. Sólo se muestran los barridos de 0 a 100.

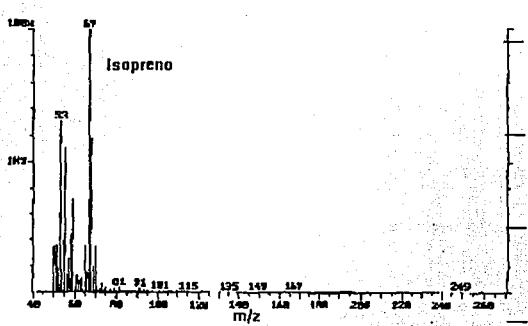


Figura 11. Espectro de masas de isopreno. Barrido No 86; tiempo de retención 1:26; pico base 67.

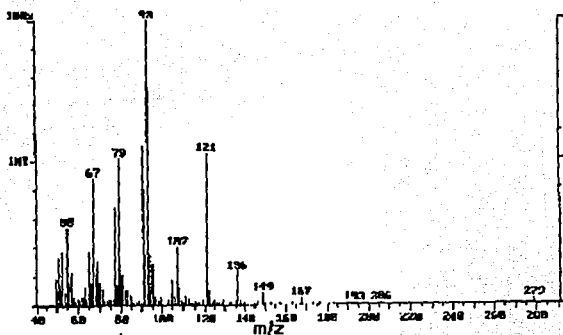


Figura 12. Espectro de masas del cafeino. Barrido No 645; tiempo de retención 10:45; pico base 93.

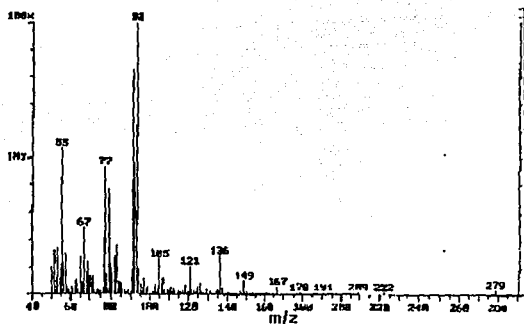


Figura 13. Espectro de masas de α -pineno. Barrido No 609; tiempo de retención 10:08; pico base 93.

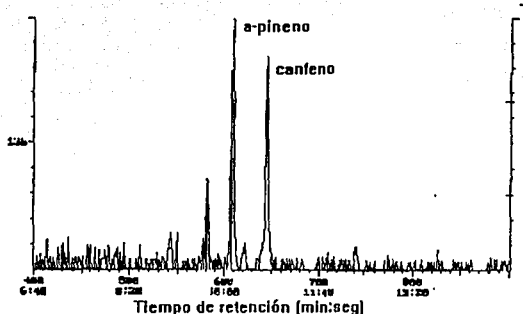


Figura 14. Cromatograma de una muestra de las emisiones foliares de maíz, en el que se observan claramente los picos correspondientes a α -pineno y canfeno. Sólo se muestran los barridos de 400 a 800.

Para analizar el efecto de las variables ambientales (temperatura de la hoja, de la cámara, ambiental, humedad de la cámara, insolación y presión), se realizó un análisis de correlación múltiple entre éstas y la variable respuesta (emisión de isopreno). No se encontraron diferencias significativas entre las variables mencionadas, a un $\alpha = 0.05$ (Tabla 15). Como se señaló en el apartado de *Antecedentes*, ha sido bien establecida en la literatura la relación positiva que existe entre la temperatura y la luz con las emisiones de isopreno. Es probable que la no correlación entre las emisiones registradas y éstos factores obedezca a los bajos niveles de emisión y no a una ausencia del efecto de estas variables en el comportamiento de las emisiones.

Tabla 15. Análisis de varianza para la correlación completa de todas las variables ambientales.

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado medio	F calculada	Valor de p o de significancia
Modelo	0.00001	6	0.000002	0.492	0.8107
Error	0.00017	46	0.000004		

Al aplicar el método de ajuste de temperatura e insolación, para el isopreno, propuestos en el inventario de emisiones biogénicas de los Estados Unidos (Goodrich y Maxwell, 1991), adaptando los coeficientes de insolación ($800 \mu E/(m^2 \cdot s)$) y de temperatura ($30 \text{ }^\circ\text{C}$) (Ruiz *et al.*, 1994) se observa que los

resultados no difieren de los obtenidos en el muestreo (Tabla 16). Esto puede deberse a que el promedio de las temperaturas de la hoja durante los muestreos es de 30.07 °C.

Tabla 16. Factores de Emisión con ajuste de temperatura (30 oC) e intensidad solar (800 $\mu E/(m^2 \cdot s)$).

raza de maíz	coeficiente de emisión (μg g peso seco ⁻¹ hr ⁻¹)
Cónico	0.0021
Celaya	0.00047
Tuxpeño	0.00028
Zapalote gde.	0.00058

Utilizando los valores de emisión de la EPA (Goodrich y Maxwell, 1990) y datos de cobertura de maíz de INEGI (1992), se realizó una estimación del impacto de las emisiones del maíz en la atmósfera de la Ciudad de México. En estas estimaciones, centradas en la época de lluvias que es cuando se cultiva el maíz de temporal (el que más se cultiva en la cuenca), se obtuvieron valores de hasta 460.46 kg hr⁻¹ de terpenos. Esto es equivalente al 29 % del estimado total para la estación (Ruíz *et al.* 1994), como contribución del maíz a las emisiones de hidrocarburos biogénicos no metano en la zona sur de la Ciudad de México. De las razas de maíz analizadas en el presente trabajo, cónico y chalqueño son las que se se cultivan en el área de la Cuenca. Los resultados obtenidos para ambas permiten concluir que la contribución de las emisiones de isopreno y monoterpenos del maíz, no son un factor relevante en la química de la atmósfera que determina las condiciones del aire de la Ciudad de México.

Como se observa en la Tabla 17, las emisiones registradas en las cinco razas de maíz analizadas son de tres a cuatro órdenes de magnitud menores a las citadas en el inventario de emisiones biogénicas de la EPA (1990). Las bajas emisiones registradas coinciden más con los resultados reportados por Sharkey *et al.* (1993), Evans *et al.* (1982) y Ratté *et al.* (1993), aunque en este caso son inclusive de uno a tres órdenes de magnitud menores que las

reportadas por ellos. Así mismo, las diferencias entre las razas analizadas en el presente trabajo oscilan entre uno a dos órdenes de magnitud.

Es posible que las diferencias entre los diversos valores de emisión reportados para maíz puedan deberse a factores fenológicos y genéticos, lo que hace probable que las diferencias medidas puedan obedecer a características específicas de la raza o variedad analizada. Así mismo, la balanza parece inclinarse a identificar al maíz como un muy bajo emisor de isoprenos.

Existe también la posibilidad de que las diferencias entre las tasas de emisión correspondan a errores metodológicos en la captura de las muestras. El daño foliar al momento de la toma de la muestra puede incrementar fuertemente las emisiones, al no encontrar los compuestos volátiles resistencia en su camino al exterior. Esto puede ser importante ya que en momentos específicos, por ejemplo durante la colecta de la mazorca, la separación misma de la mazorca de la planta, así como el roce del colector con las plantas, provoque daño en las hojas y las emisiones se incrementen puntualmente en estos momentos. Será interesante hacer una evaluación de los efectos de corte para verificar si efectivamente hay incremento significativo en las emisiones.

Tabla 17. Emisiones de hidrocarburos biogénicos en maíz.

"Maíz"	Emisión ($\mu\text{g g peso seco}^{-1} \text{ h}^{-1}$)	Referencia
no especificado	0.018	Evans <i>et al.</i> , 1982
no especificado	2.00	Lamb, <i>et al.</i> , 1985
no especificado	2.35	Goodrich y Maxwell, 1990
no especificado	0.5	Ratté <i>et al.</i> , 1993
Pioneer Hybrid 3578	.01	Sharkey <i>et al.</i> , 1993
cónico	0.0021	Este trabajo
chalqueño	nc	Este trabajo
zapalote grande	0.0006	Este trabajo
tuxpeño	0.00003	Este trabajo
celaya	0.0005	Este trabajo

nc: no cuantificable.

En este sentido hay que mencionar la importancia del método que se empleó en este trabajo para poder tomar las muestras de biogénicos y

analizarlas en el laboratorio. El sistema que se ha empleado es altamente confiable debido a las siguientes razones: 1) no altera la humedad de la cámara de colecta; 2) el riesgo de dañar el material vegetal al incorporarlo a la cámara de colecta es mínimo; 3) los procesos de mantenimiento y limpieza a que se sometieron todas las partes del sistema durante las campañas de medición; 4) a las repeticiones que se realizaron por raza, lo cual nos permite, en caso de contaminación, poder discernir entre emisiones reales y ruido. Así mismo, las muestras blanco tomadas a cada banco de cartuchos previo a su utilización y las muestras de respaldo tomadas al iniciar y concluir el día de muestreo también permiten detectar contaminación en alguna parte del sistema.

Se debe señalar la necesidad de realizar campañas de medición de emisiones en las especies que se emplean en los programas de reforestación en los centros urbanos. El eucalipto es uno de los géneros que más extensa e intensamente se usan en los trabajos de reforestación en la cuenca (PRUSDAS, 1984) y es un género considerado como "alto emisor" de isopreno ($51.3 \text{ mg m}^{-2} \text{ hr}^{-1}$ Tingey *et al.*, 1991), que también emite monoterpenos. Determinar la tasa de emisión local de este género, así como el impacto que pudiera estar jugando en la química de la atmósfera, puede servir, para ponderar con mayores elementos de juicio, la selección de las especies para reforestación. Originalmente, en este trabajo se había considerado realizar mediciones en esta especie; sin embargo, problemas en la adquisición del equipo y el montaje del sistema de captura y análisis de datos en México, impidieron, en este momento, trabajar en la obtención de la tasa de emisión de volátiles orgánicos no metano en el eucalipto. Esperamos que en un futuro cercano se pueda llevar adelante este trabajo.

Finalmente, cabe señalar que el conocimiento de las tasas locales de emisión de las plantas en lo particular, así como de las asociaciones vegetales en su conjunto, es un campo de investigación prácticamente virgen en nuestro país. Profundizar en el conocimiento de los fenómenos fisiológicos, bioquímicos y ambientales que afectan la producción de los hidrocarburos no metano, así

como su liberación al medio, son elementos que nos permitirán conocer mejor la relación que existe entre la atmósfera y la biota, una relación que cada día se revela más compleja e interdependiente.

LITERATURA CITADA

- Banthorpe, D.V. y B.V. Charlwood (1980) The terpenoids. En: Bell, E.A. y B.V. Charlwood (Eds.) *Encyclopedia of Plant Physiology.*, Springer-Verlag, Berlín. 12:185-220.
- Bernard-Dagan, C., G. Carbes y M. Gleizes (1979) Etudes des composés terpéniques au cours de la croissance des aiguilles du pin maritime. Comparaison des données biochimiques et ultrastructurales. *Canadian Journal of Botany* 57: 255-283
- Brasseur, G.P. y R.B. Chatfield (1991) The fate of biogenic trace gases in the atmosphere. En: Sharkey, T.D., E.A. Holland y H. Mooney (Eds) (1991) *Trace Gas Emissions by Plants*. Academic Press, San Diego:1-27.
- Cardelino C. A. y W. L. Chameides (1990). Natural hydrocarbons, urbanization and urban ozone. *Journal of Geophysical Research*. 95: 3971-3979.
- Chameides, W. L., R.W. Lindsay, J. Richardson y C.S. Kiang (1988) The role of biogenic hydrocarbons in urban photochemical smog: Atlanta as a case study. *Science* 241: 1473-1475.
- Chameides, W.L. y R.J., Cicerone (1978) Effects of nonmethane hydrocarbons in the atmosphere. *Journal of Geophysical Research*. 83: 947-953.
- Coley, P.D., J.P. Briant y F.S. Chapin III (1985) Resource availability and plant antiherbivore defense. *Science* 230: 895-899.
- Croteau, R. (1987) Biosynthesis and catabolism of monoterpenoids. *Chemistry Review* 87: 929-954.
- Crutzen, P.J. (1979) The role of NO and NO₂ in the chemistry of the troposphere and the stratosphere. *Annual Review of Earth Planet Science* 7: 443-472.
- Damely-Gibbs, R. (1974) Chemotaxonomy of flowering plants. McGill-Queens University Press, Montreal.
- DDF-RAMA (Departamento del Distrito Federal - Red de Monitoreo Atmosférico) (1995) Informe Mensual de la Calidad del Aire. México.
- Dement, W.A., Bennett, B.J. Tyson y H. Mooney (1975) Mechanism of monoterpene volatilization in *Salvia mellifera*. *Phytochemistry* 14: 2555-2557.
- Demerjian, K.L., J.A. Kerr y J.G. Calvert (1974) The mechanism of photochemical smog formation. *Advances on Environmental Science Technology*. 4:1-262
- Dimitriades, B. (1981) The role of natural organics in photochemical air pollution: issues and research needs. *Air Pollution Contr. Asocciation*. 31: 229-235,
- EPA (Environmental Protection Agency) (1979) Tampa Bay area photochemical oxidant study. EPA904/9-77-028. Research Atlanta, GA.

- EPA (Environmental Protection Agency) (1979) Testing of hydrocarbon emissions from vegetation and methodology for compiling biogenic emission inventories. EPA 450/4-70-004. Research Triangle Park N.C.
- EPA (Environmental Protection Agency) (1984) Method T01. Method for the determination of volatile organic compounds in ambient air using Tenax adsorption and gas chromatography/mass spectrometry. Triangle Park, N.C.
- Evans, R.C., D.T. Tingey y M.L. Gumpertz (1985) Interspecies variation in terpenoid emission from Englemann and Sitka spruce seedlings *Forest Science* **31**: 132-142
- Evans, R.C., D.T. Tingey, M.L. Gumpertz y W.F. Burns (1982) Estimates of isoprene and monoterpene emission rates in plants. *Botanical Gazette* **143**: 303-310.
- Ewers, J., D. Frier-Schroder y H.J. Knackmuss (1990) Selection of trichloroethylene (TCE) degrading bacteria that resist inactivation by (TCE) *Architectural Microbiology* **154**: 410-413
- Fall, R. (1991) Isoprene emissions from plants: summary and discussion. En Sharkey, T.D., E.A. Holland y H. Mooney (eds) (1991) *Trace Gas Emissions by Plants*. Academic Press. San Diego:209-216.
- Flyckt, D.L., H.H. Westburg y M.W. Holdren (1980) Natural organic emissions and their impact on air quality. Paper No 80.69.2 73rd Annual Meeting of the Air Pollution Control Association, Montreal Quebec, Canada
- Gleizes, M., G. Pauly, C. Bernard-Dagan y R. Jacques (1980) Effects of light on terpene hydrocarbons synthesis in *Pinus pinaster*. *Physiology of Plant* **50**: 16-20
- Goodrich, B. y C. Maxwell (1990) Development of seasonal and annual biogenic emissions inventories for the US and Canada EPA-600/7-91-006.
- Graedel, T.E. (1979) Terpenoids in the atmosphere *Review of Geophysics Space* **17**: 937-375
- Greenberg, J. P. y P. R. Zimmerman (1984) Nonmethane hydrocarbons in remote tropical, continental and marine atmospheres. *Journal of Geophysical Research* **89**: 4767-4778.
- Greenberg, J.P., P.R. Zimmerman y R.B. Chatfield (1985) Hydrocarbons and carbon monoxide in African savannah air. *Geophysical Research Letters* **12**: 113-116.
- Hall, G.D. y J.H. Longenheim (1986) Temporal changes in the leaf monoterpenes of *Sequoia sempervirens*. *Biochemistry, Systematic and Ecology* **14**: 61-69
- Hanover, J.W. (1972) Factors affecting the release of volatile chemistry by forest trees. *Mitt. Forstl. Bundesversuchsanstalt Wien* **97**: 625-644.
- Harborne, J.B. y T. Barberan (1991) *Ecological Chemistry and biochemistry of plant terpenoids*. Oxford Scientific Publications. Oxford, UK.
- Heath, R. R. y A. Manukian (1992). Development and evaluation of systems to collect volatile semiochemicals from insects and plants using a charcoal-infused medium for air purification. *Journal of Chemical Ecology* **18**: 1695-1705

- Hewitt, M., R.K. Monson y R. Fall (1990) Isoprene emissions from the grass *Arundo donax* L. are not linked to photorespiration *Plant Science* **66**: 139-144.
- Hov, O. J., J. Schjoldager y B. M. Wathne (1983) Measurement and modeling of the concentrations of terpenes in coniferous forest air *Journal of Geophysical Research*. **88**:10,679-10,688.
- INEGI (Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Información) (1991). México.
- Isidorov, V. (1990) *Organic Chemistry of the Earth's atmosphere*. Springer-Verlag. Berlin
- Jones, K. L. y R.A. Rasmussen (1975) Production of isoprene by leaf tissue. *Plant Physiology*. **55**: 982-987-
- Juuti, S., J. Arey y R. Atkinson (1990) Monoterpene emission rate measurements from a monterrey pine *Journal of Geophysical Research*. **95**: 7515-7519
- Knoerr, K.R. y F.L. Mowry (1981) Energy balance/bowen ratio technique for estimating hydrocarbons fluxes. En *Atmospheric Biogenic Hydrocarbons* Ed. Buffalini y Amts. Ann Arbor Sciences. Anñ Arbor MI:35-54.
- Kramer, P.J. y T.T. Kozlowski (1979). *Physiology of Woody Plants*. Academic Press. New York
- Lamb, B., A. Guenter, D. Gay y G. Westberg (1987) A national inventory of biogenic hydrocarbon emissions *Atmospheric Environment* **21**: 1695-1705
- Lamb, B., H. Westberg y G. Allwine (1986) Isoprene emission fluxes determined by an atmospheric tracer technique *Atmospheric Environment* **20**: 1-8
- Lamb, B., H. Westberg, G. Allwine y T. Quarles (1985) Biogenic hydrocarbon emissions from deciduous and coniferous trees in the United States. *Journal of Geophysical Research* **90**: 2380-2390.
- Lerdau, M. (1991) Plant function and biogenic terpene emission. En Sharkey, T.D., E.A. Holland y H. Mooney (eds) (1991) *Trace Gas Emissions by Plants*. Academic Press. San Diego:121-134.
- Logan, J. A., M.J. Prater, S. C. Wofsy y M. B. McElroy (1981) Tropospheric chemistry: a global perspective. *Journal of Geophysical Research*. **86**: 7210-7254
- Logan, J.A. (1985) Tropospheric ozone: seasonal behavior, trends and anthropogenic influence. *Journal of Geophysical Research* **90**: 10463-10482 .
- Logan, J.A. (1989) Ozone in rural areas of the United States. *J. Geophys. Res* **94**: 8511-8532.
- Loreto, F. y T.D. Sharkey (1990) A gas-exchange study of photosynthesis and isoprene emission in *Quercus rubra* L. *Planta* **182**: 523-531.
- Meeks, S.A., Gay, B.W., y Tilton, B.E. (1993) Measurement of Biogenic Emissions from corn. VIP-27. Emission Inventory Issues. Proceedings of an International Specialty Conference, Durham, N.C. October 1992.

- Modica, L.G. y J.R. McCutcheon (1991) Development of seasonal and annual biogenic emissions inventories for the US and Canada EPA-600/7-91-006.
- Monson, R.K. (1990) The ecophysiology of non methane hydrocarbon emissions from plants and its importance to tropospheric chemistry. *Bulletin of the Ecological Society of America* 71 (2 suppl.)
- Monson, R.K. y R. Fall (1989) Isoprene emission from Aspen leaves. *Plant Physiology*. 90, 267-274.
- Monson, R.K., A. Guenter y R. Fall (1991) Physiological reality in relation to ecosystem- and global- level estimates of isoprene emission. En Sharkey, T.D., E.A. Holland y H. Mooney (Eds.) (1991) *Trace Gas Emissions by Plants*. Academic Press. San Diego:185-207.
- Monson, R.K., A.J.Hills, P. Zimmerman y R. Fall (1991) Studies of the relationship between isoprene emission rate and CO₂ or photon -flux density using a real time isoprene analyser. *Plant Cell Environment* 14: 517-523
- Mooney, H., P. Vitousek y P.A. Matson (1987) Exchange of materials between terrestrial ecosystems and the atmosphere *Science* 238: 926-932 .
- Muzika, R.M., K.S. Pregitzer y J.W. Hanover (1989) Changes in terpene production following nitrogen fertilization of grand fir (*Abies grandis* (Dougl.) Lindl.) *Oecologia* 80: 485-489.
- NRC (National research Council). Rethinking the ozone problem in urban and regional air pollution (1991). National Academic Press. Washington, D.C.
- Palmer, P. y C. Wong (1993) Development of ion trap Mass Spectrometric methods to monitor air quality for life support applications. 23 rd. International Conference on Environmental Systems. Colorado Springs, July 1993.
- Palmer, P. (1993) Protocol for the determination of volatile organic compounds in air. NASA-Ames Research Center. Internal Report.
- Pierce, T.E., y A.R. Van Meter (1993) Volatile organic compound and nitric oxide emissions from corn in the midwestern United States. VIP-27. Emission Inventory Issues. Proceedings of an International Specialty Conference, Durham, N.C. October 1992.
- PRUSDAS (Programa Rector del Uso del Suelo y Desarrollo Agropecuario). (1984). COCODER, México.
- Rasmussen, R.A. (1970) Isoprene: identified as a forest-type emission to the atmosphere. *Environment Science Technology*. 4: 667-671.
- Rasmussen, R.A. (1972) What do the hydrocarbons from trees contribute to air pollution. *Air Pollution Control. Asociafion*. 22: 537-543 .
- Rasmussen, R.A. y K. Jones (1973) Emission isoprene from leaf disc of *Hamamelis*. *Phytochemistry* 12: 15-19 .
- Rasmussen, R.A. y M.A.K. Khalil (1986) Atmospheric trace gases: trends and distributions over the last decade. *Science* 232: 1623-1624.

- Ratté, D., W. Bitterlich y C. Duguay . (1993). Methodological Issues in the Development of the Canadian Biogenic Emissions Inventory System (CANBEIS). Lab. for Earth Observation and Information Systems, University of Ottawa, Ontario.
- Roberts, J.M., C. Hahn, F.C. Fehsenfeld, Warnock, D.L. Albritton y R.E. Sievers (1985) Monoterpene hydrocarbons in the night time troposphere. *Environmental Science Technology*. 19:364-369
- Roselle, J.S., T.E. Pierce y K.L. Schere (1991) The sensitivity of regional ozone modelling to biogenic hydrocarbons. *Journal of Geophysical Research*. 96: 7371-7394.
- Ruiz L.G., M. Imaz y B. Mar (1993) Calculations of natural hydrocarbons emissions in the Valley of Mexico EN: Zanetti P., C.A. Brebbia, J.E. García y G. Ayala. (Eds.) *Air Pollution*. Comp. Mech. Publ. & Elsevier Applied Sci. Southampton U.K.
- Ruiz, L.G., M. Imaz, M. Montero, O. Sánchez, F. Hernández, C. Conde y T. Castro. (1994). Cálculos y mediciones de hidrocarburos naturales en el Valle de México. Reporte Final. Departamento del Distrito Federal y Centro de Ciencias de la Atmósfera, UNAM, México.
- Sanadze, G.A. (1991) Isoprene effect-light-dependent emission of isoprene by green parts of plants. En Sharkey, T.D., E.A. Holland y H. Mooney (eds) (1991) *Trace Gas Emissions by Plants*. Academic Press. San Diego:135-152.
- Sánchez, J.J. y M.M. Goodman (1992) Relationships among the Mexican races of maize. *Economic Botany* 46: 72-85
- Schindler, T. y D. Kotzias (1989) Comparison of monoterpene volatilization and leaf-oil composition of conifers. *Naturwissenschaften* 76: 475-476.
- Schlesinger, W. (1991) *Biogeochemistry: An analysis of global change*. Academic Press. San Diego.
- Sharkey, T.D., E.A. Holland y H. Mooney (Eds.) (1991) *Trace Gas Emissions by Plants*. Academic Press. San Diego.
- Sharkey, T.D., F. Loreto y C.F. Delwiche (1991) High carbon dioxide and sun/shade effects on isoprene emission from oak and aspen tree leaves. *Plant Cell Environment* 14: 333-338
- Sharkey, T.D., P.J. Vanderveer, J. Arey y M. Crowley (1993). Report of measurements of hydrocarbon emissions from com. Final Report Submitted to Lake Michigan Air Directors Consortium.
- Sillman, J.A., J. Logan y S.C. Wofsy (1990) The sensitivity of ozone to nitrogen oxides and hydrocarbons in regional ozone episodes. *Journal of Geophysical Research* 95: 1837-1851.
- Silver, G.M. y R. Fall (1991) Enzymatic Synthesis of isoprene from dimethylallyl diphosphate in aspen leaf extracts. *Plant Physiology*. 97: 1588-1591

- Tingey, D.T., D.P. Turner y J.A.Weber (1991) Factors controlling the emissions of monoterpenes and other volatile organic compounds. En Sharkey, T.D., E.A. Holland y H. Mooney (Eds.) (1991) *Trace Gas Emissions by Plants*. Academic Press, San Diego: 93-119.
- Tingey, D.T. y W.F. Burns. (1980) Hydrocarbon emissions from vegetation. En: *Effects of Air Pollutants on Mediterranean and Temperate Forest Ecosystems*. Miller, P.R. (Ed.). Bekeley, CA: 24.30.
- Tingey, D.T., G.F. Evans y M.L.Gumpertz (1981) Effects of environmental conditions on isoprene emission from live oak . *Planta* 152: 565- 570
- Tingey, D.T., G.F. Evans, E.H. Bates y M.L.Gumpertz (1987) Isoprene emissions and photosynthesis in three ferns. The influence of light and temperature. *Plant Physiology* 69: 609-616
- Tingey, D.T., M. Manning, L.C. Grothaus y W.F. Burns (1979) The influence of light and temperature on isoprene emission rates from live oak. *Plant Physiology* 47: 112-117
- Tingey, D.T., M. Manning, L.C. Grothaus y W.F. Burns (1980) Influence on light and temperature on monoterpene emission rates from slash pine. *Plant Physiology* 65: 797-801
- Tobolsky, J.J. y J.W. Hanover (1971) Genetic variation in the monoterpenes of scotch pine. *Forest. Science* 17: 293-299.
- Trainer, M., E.T. Williams, D.D. Parrish, M.P. Buhr, E.J. Altwine, H.H. Westberg, F.C. Fehsenfeld y S.C. Liu (1988) Models and observations of the impact of natural hydrocarbons on rural ozone. *Nature* 329: 705-707 .
- Tyson, B.J., W.A.Dement y H. Mooney (1974) Volatilisation of terpenes from *Salvia mellifera*. *Nature* 252: 119-120.
- Venkatachalan, K.V., R. Kjonaas y R. Croteau. (1984) Development and essential oil content of secretory glands of sage (*Salvia officinalis*). *Plant Physiology* 76: 148-150
- Walter, J., J. Charon, A. Marpeau y J. Launay (1989). Effects of wounding on the terpene content of twigs of maritime pine (*Pinus pinaster* Art.). *Trees* 4: 210-219.
- Went, F.W. (1960) Blue hazes in the atmosphere. *Nature* 187: 641-643 .
- Yamaura, T., S.Tanaka y M. Tabata (1989) Light dependent formation of glandular trychomes and monoterpenes in thyme seedlings. *Phytochemistry* 28: 741-744.
- Yokouchi, Y. y Y. Ambe (1988) Diurnal variations of atmospheric isoprene and monoterpene hydrocarbons in an agricultural area in summertime. *Journal of Geophysical Research* 93: 3751- 3759.
- Zimmerman, P.R. (1979) Testing of hydrocarbon emissions from vegetation and methodology for compiling biogenic emission inventories EPA 450/4-79-004 Final Report. Research Triangle Park, NC.

- Zimmerman, P.R., J.P. Greenberg y C.E. Westberg. (1988) Measurements of atmospheric hydrocarbons and biogenic emission fluxes in the Amazon Boundary layer *Journal of Geophysical Research* **93**: 1407-1416.
- Zimmerman, P.R., R.B. Chatfield, J. Fishman, P.J. Crutzen y P.L. Hanst (1978) Estimates on the production of CO and H₂ from the oxidation of hydrocarbon emissions from vegetation. *Geophysical Research Letter*. **5**: 679-682