



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA**

INSTITUTO DE ECOLOGÍA

**“Daño en acículas de *Pinus greggii* Englem. por exposición
a ozono en cámaras experimentales acopladas a sensores
Arduino”.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

BIÓLOGO

PRESENTA:

Salvador Solis Aguilar



Ciudad de México, 2021.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 esta 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.

Agradecimientos institucionales.

Agradezco a la Universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, por permitirme cursar la licenciatura de Biología y brindarme una formación personal, académica y profesional de calidad.

La realización de la presente investigación se logró gracias al apoyo de beca por parte de la Secretaría de Educación, Ciencia, Tecnología e Innovación de la Ciudad de México por el Proyecto SECITI (SECITI)/103/2017-2021, titulado “Remoción biótica de contaminantes atmosféricos de la Ciudad de México, una aproximación”.

Por último, agradezco a la M. en C. Verónica Monserrat Rodríguez Sánchez por brindarme la oportunidad de ejercer como directora de la presente tesis, por su liderazgo en el desarrollo de la misma y por su empeño en mi desarrollo académico y profesional. Mi sincero agradecimiento al M. en C. Germán Calva Vásquez por brindarme la oportunidad de colaborar en su laboratorio, por su dedicación para el desarrollo de esta tesis y mi crecimiento profesional. Extiendo mi gratitud a mis sinodales: M. en C. Armando Cervantes Sandoval, Dr. Carlos Castillejos Cruz y M. en C. María Magdalena Ayala Hernández, al aceptar participar y contribuir al desarrollo del presente trabajo.

Agradecimientos a título personal.

A la Dra. Rocío Cruz Ortega y a su equipo de trabajo por permitirme contribuir en su laboratorio para mi desarrollo académico y profesional.

Al Parque Nacional Viveros de Coyoacán por la donación de los árboles de *Pinus greggii*.

A la Biól. Brenda Chávez Hernández por su orientación en la implementación, el manejo y el uso de las cámaras de experimentación y del software Arduino.

Dedicatoria.

A mis padres, Ana Isabel Aguilar García y José de Jesús Solís Chávez, porque gracias a su esfuerzo y a su dedicación logré entrar a esta hermosa carrera. Porque gracias a su amor, su apoyo y su guía, se sembraron las semillas que me permitieron culminar con este logro en mi vida.

A mi hermana, Diana C. Solís Aguilar, porque por tu amor y tus consejos, logré permanecer en este proceso que desde el inicio y hasta su culminación fue tan complejo. Nunca olvidaré todo el apoyo brindado hermanita, pues de no ser por ello yo no estaría hoy aquí.

A mi amiga y colega, Denisse Valeria Alvarez Lara, porque gracias a tu cariño y a tu perseverancia, logré germinar a esas semillas en mi interior, permitiéndome encontrar la motivación y el deseo de evolucionar y ser una mejor persona. No existen palabras que puedan expresar mi gratitud ya que el conocerte fue una de los mejores eventos en mi vida.

A las familias Álvarez Lara y Lara Castro, porque gracias a ustedes encontré la forma de proporcionar el sol, el agua y los nutrientes necesarios para permitir el desarrollo de una planta fuerte, vigorosa y resiliente.

A mis psicólogos, la lic. Ana L. González V. y el lic. Arturo Urbina S., gracias por todo su apoyo profesional.

Tabla de contenido.

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	3
MARCO TEÓRICO	5
Ozono.....	5
Formación del ozono	6
Legislación ambiental para el ozono en el mundo y en México	9
Estudio del ozono en la vegetación.....	10
Cámaras experimentales	11
Arduino, una opción para el monitoreo de variables ambientales.....	13
Impacto del ozono en la vegetación.....	16
Absorción del ozono.....	16
Conductancia estomática	17
Clorofila	18
<i>Pinus</i> spp. y su relación con ozono	19
<i>Pinus greggii</i> Englem	20
ANTECEDENTES.....	22
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	27
PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN	28
JUSTIFICACIÓN.....	29
HIPÓTESIS.....	30
OBJETIVO.....	30
General	30
Particulares	30
MÉTODO.....	31
Obtención de plantas de <i>Pinus greggii</i>	31
Aclimatación de <i>Pinus greggii</i>	31
Exposición de <i>Pinus greggii</i> a ozono.....	32
Monitoreo de variables ambientales.....	33
Mediciones morfológicas.....	34
Mediciones fisiológicas.....	35

Análisis estadístico	37
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	38
Registro de variables ambientales	38
Registro de daño morfológico.....	48
Registro de daño fisiológico.....	53
CONCLUSIONES.....	61
PERSPECTIVAS.....	62
REFERENCIAS	63
Referencias bibliográficas	63
Referencias electrónicas.....	71
ANEXOS	73
Anexo I. Solución nutritiva de Hoagland.....	73
Anexo II. Programación del software Arduino	74

Lista de tablas.

Tabla 1. Comparación de las concentraciones máximas de ozono con respecto a los valores límite de la Norma Oficial Mexicana (NOM-020-ssa1-2014), la Organización Mundial de la Salud y la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos10

Tabla 2. Registro de variables ambientales de la cámara control y tratamiento durante los periodos de exposición de *Pinus greggii* a ozono38

Tabla 3. Monitoreo de daños morfológicos en acículas de *Pinus greggii* por periodo de exposición a ozono49

Lista de figuras.

Figura 1. Capas de la atmósfera.....	6
Figura 2. Orografía de la Ciudad de México	8
Figura 3. Comportamiento diario del ozono en la Zona Metropolitana del Valle de México	9
Figura 4. Cámaras experimentales empleadas para determinar el daño por ozono en la vegetación de Japón	12
Figura 5. Componentes del hardware de Arduino.....	14
Figura 6. Esquematación del software de Arduino	15
Figura 7. Capa límite o capa estacionaria foliar y absorción de contaminantes atmosféricos por la vegetación	16
Figura 8. Árbol y acículas de <i>Pinus greggii</i>	20
Figura 9. Plantas de <i>Pinus greggii</i> durante la exposición a ozono mediante cámaras experimentales acopladas a sensores Arduino	32
Figura 10. Sensores MQ131 para ozono, BH1750 para luminosidad y DHT22 para temperatura y humedad relativa.....	33
Figura 11. Porómetro foliar de difusión dinámica Delta T AP4	34
Figura 12. Medidor de clorofila Minolta SPAD-502 Plus.....	35
Figura 13. Perfiles diarios de temperatura registrados durante la experimentación.....	41
Figura 14. Perfiles diarios de humedad relativa registrados durante la experimentación	43
Figura 15. Perfiles diarios de luminosidad registrados durante la experimentación	45
Figura 16. Vista superior de las plantas de <i>Pinus greggii</i> del control al término del experimento ...	47
Figura 17. Representación de los síntomas foliares visibles registrados en las acículas de <i>Pinus greggii</i> del tratamiento con ozono.....	48
Figura 18. Registro diario de conductancia estomática de <i>Pinus greggii</i> durante la experimentación con ozono	52

Figura 19. Registro diario del contenido de clorofila total de *Pinus greggii* durante la experimentación con ozono55

RESUMEN.

El ozono es un contaminante atmosférico que genera daños en la vegetación por medio de su absorción en el proceso de intercambio de gases, generando daños en la superficie foliar, senescencia prematura e inhibición de procesos metabólicos. *Pinus greggii* Englem. es una especie con amplia distribución en México y cuyo género es considerado sensible ante la exposición a ozono.

La presente investigación registró el daño foliar morfológico y fisiológico en plantas juveniles de *Pinus greggii* por exposición a ozono. Para ello, se emplearon cámaras de experimentación con sensores Arduino, para registrar la concentración del ozono y de variables ambientales (temperatura, humedad relativa y luminosidad) durante los periodos de exposición. El daño morfológico se caracterizó mediante la observación de las acículas durante la exposición; y la alteración fisiológica se determinó mediante el registro de la conductancia estomática y la comparación de la concentración de clorofila total. El análisis estadístico consistió en pruebas de t-student para la comparación de muestras independientes y pruebas ANOVA de medidas repetidas.

Se registraron seis periodos de exposición a ozono con valores medios de 78.40 ± 3.15 ppb de O_3 , 23.67 ± 0.42 °C de temperatura, 46.11 ± 19.20 % de humedad relativa y 10.55 ± 0.12 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ de luminosidad.

Al término de la exposición, se registraron daños morfológicos típicos causados por ozono como clorosis, necrosis y bandeo en coloración negra. Se identificaron reducciones significativas ($p < 0.05$, $p = 1.7 \times 10^{-15}$) en la conductancia estomática del tratamiento

($\bar{X}=156.06 \text{ mmolm}^{-2}\text{s}^{-1}$) respecto al control ($\bar{X}=56.06 \text{ mmolm}^{-2}\text{s}^{-1}$) y disminuciones significativas ($p<0.05$, $p= 1.1 \times 10^{-5}$) en el contenido de clorofila total del tratamiento ($\bar{X}=222.84 \text{ }\mu\text{molm}^{-2}$) respecto al control ($\bar{X}=150.31 \text{ }\mu\text{molm}^{-2}$).

Por lo anterior, debido a la presencia de síntomas visibles como clorosis y necrosis foliar, la disminución de conductancia estomática y del contenido de clorofila total, se concluye que *Pinus greggii* Englem. es una especie sensible ante la exposición a 78.40 ppb de ozono durante seis días.

INTRODUCCIÓN.

El ozono troposférico es uno de los contaminantes atmosféricos más comunes en las ciudades y áreas conurbanas del mundo (WHO, 2013; UNECE, 2017). Su aumento durante los últimos años se ha atribuido a las actividades humanas debido a la proliferación en las emisiones de óxidos de nitrógeno y compuestos orgánicos volátiles (EPA, 2006).

El aumento en la emisión de ozono puede ser un riesgo potencial tanto para el hombre como para la vegetación (Bičárová et al., 2019). Diversas investigaciones han indicado que las especies de gimnospermas pertenecientes al género *Pinus spp.* son altamente sensibles a la exposición a ozono (de Bauer & Hernández-Tejeda, 2007; Ruiz, 2015; Ciriani & Dalstein, 2018).

Para determinar la sensibilidad, los investigadores han empleado diferentes métodos basándose en características foliares morfológicas como la presencia de clorosis y necrosis en *Pinus uncinata* (Diaz-de-Quijano et al., 2016) y *P. sylvestris* (Ciriani & Dalstein, 2018); y características fisiológicas como la disminución de conductancia estomática en *P. halepensis* (Elvira et al., 2007) y *P. sylvestris* (Then et al., 2009) y del contenido de clorofila total en *P. halepensis* (Alonso et al., 2001) y *P. sylvestris* (Pliūra et al., 2019), mediante la exposición a ozono en cámaras experimentales (Alonso et al., 2001; Elvira et al., 2007; Inclán et al., 2005).

A pesar de que se han realizado estudios encaminados en determinar el efecto del ozono en diversas especies del género *Pinus*, no existen reportes publicados que caractericen el efecto de la exposición a ozono en cámaras experimentales sobre la

morfología foliar, la conductancia estomática y el contenido de clorofila total de *Pinus greggii*.

Pinus greggii Englem. es una especie nativa del país y es la cuarta especie de pino más importante en el Programa Nacional de Reforestación (PRONARE) de la Procuraduría Ambiental y del Ordenamiento Territorial (PAOT) de la Ciudad de México (Domínguez, 2018). Además, se ha sugerido el uso de esta especie para la reforestación de parques urbanos en la Ciudad de México (López, 2011), por lo cual, es una especie plantada en los viveros de Nezahualcóyotl (SEDEMA, 2016) y Coyoacán (SEMARNAT, 2016) de la Ciudad de México. A pesar de ser una especie empleada para reforestación en la Ciudad de México, se desconocen los efectos que ocasionaría la exposición de ozono sobre su morfología y/o fisiología a las concentraciones de ozono presentes en la ciudad.

Con base en lo anterior, la presente investigación se centró en el registro del daño foliar morfológico y fisiológico en árboles juveniles de *Pinus greggii* Englem por exposición a ozono, dentro de cámaras experimentales, donde se registró la temperatura, humedad relativa, luminosidad y concentración del contaminante con sensores Arduino; mediante observaciones se realizó la caracterización del daño foliar visible, para el daño fisiológico se hicieron mediciones de la conductancia estomática y la cuantificación de clorofila total en las acículas.

MARCO TEÓRICO.

Ozono.

El ozono (O_3) es una molécula triatómica conformada por átomos de oxígeno, es un alótropo del oxígeno mucho más reactivo que el oxígeno diatómico (O_2) y es considerado un poderoso oxidante que reacciona rápidamente con otros compuestos químicos ya que es inestable cuando se encuentra en altas concentraciones. En condiciones atmosféricas normales, el ozono es transformado en oxígeno diatómico en un lapso aproximado de 30 minutos, por lo que el ozono es un componente natural de la atmósfera y es vital para la vida (DMA, 2016).

El 90 % del ozono atmosférico se encuentra y se forma en la estratósfera (**figura 1**), esta capa de la atmósfera se encuentra a una altitud de entre 20 a 30 km y limita el ingreso de la radiación ultravioleta proveniente del Sol (SEDEMA, 2017). Sin embargo, cuando la formación de ozono ocurre en la tropósfera (capa atmosférica que tiene contacto con la biósfera) se considera un contaminante atmosférico secundario que se origina a partir de la interacción química entre algunos contaminantes atmosféricos primarios (i.e. óxidos de nitrógeno, NO_x) y algunos compuestos de la atmósfera (Alvarado, 2015).

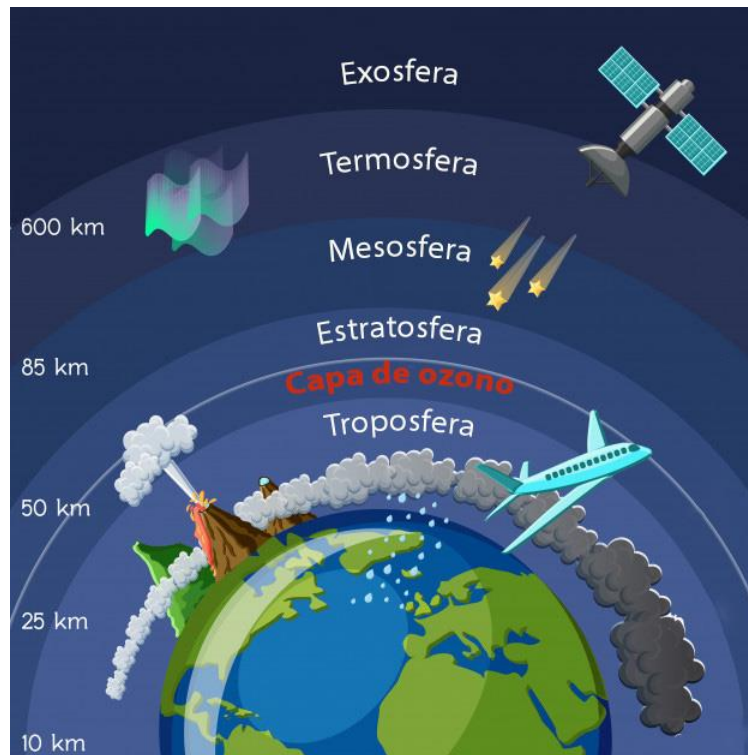
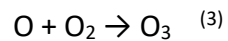
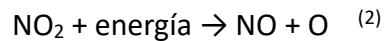
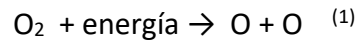


Figura 1. Capas de la atmósfera. Modificado de https://www.freepik.es/vector-premium/capas-atmosfera-infografia_3048389.htm

Formación del ozono.

Con base en EPA (2006) y SEDEMA (2017), la formación de ozono estratosférico inicia con la disociación de oxígeno diatómico (O_2) en dos moléculas de oxígeno atómico (O)⁽¹⁾ y a nivel troposférico mediante la disociación de dióxido de nitrógeno (NO_2) en monóxido de nitrógeno (NO) y oxígeno atómico (O)⁽²⁾. Tanto en la estratósfera como en la tropósfera la disociación de los átomos oxígeno diatómico (O_2) y de dióxido de nitrógeno (NO_2) ocurre por la acción de una fuente de energía como la radiación solar (rayos ultravioleta) o las descargas eléctricas. El oxígeno atómico (O) formado reacciona con el oxígeno molecular (O_2) presente en la atmósfera, produciendo el ozono (O_3)⁽³⁾. El ozono puede reaccionar nuevamente con el monóxido de nitrógeno en un proceso de regulación cíclica que evita la producción excesiva de ozono en la atmósfera⁽⁴⁾.



Sin embargo, estudios recientes han reportado un aumento en la concentración de ozono en algunos países de Asia, Europa y América, atribuido al acelerado crecimiento poblacional (Feng et al., 2014; Moura et al., 2014; Gao et al., 2016). Esto genera como consecuencia un aumento de las emisiones de precursores de ozono como los óxidos de nitrógeno (NO_x) y los compuestos orgánicos volátiles (COV).

La Ciudad de México (CDMX) se reconoce como una de las ciudades más grandes del mundo y con grandes problemas de contaminación ambiental (de Bauer & Hernández-Tejeda, 2007). Se ha propuesto que la causa principal de sus problemas de contaminación durante los últimos 50 años han sido ocasionados por el acelerado crecimiento poblacional (Escobedo & Chacalo, 2008).

Además, la CDMX se encuentra a 2,240 msnm y está rodeada por sistemas montañosos con diferentes altitudes que van desde los 3,530 msnm hasta los 3,930 msnm por lo que la dispersión de los precursores de ozono y de las partículas de ozono, causada por los vientos dominantes que provienen del Norte-Noreste hacia el Sur-Suroeste, se ve dificultada por su orografía (**figura 2**). Es por ello que el ozono es un contaminante atmosférico que históricamente ha excedido los estándares de calidad del aire en la CDMX (**figura 3**) (SEDEMA, 2017).

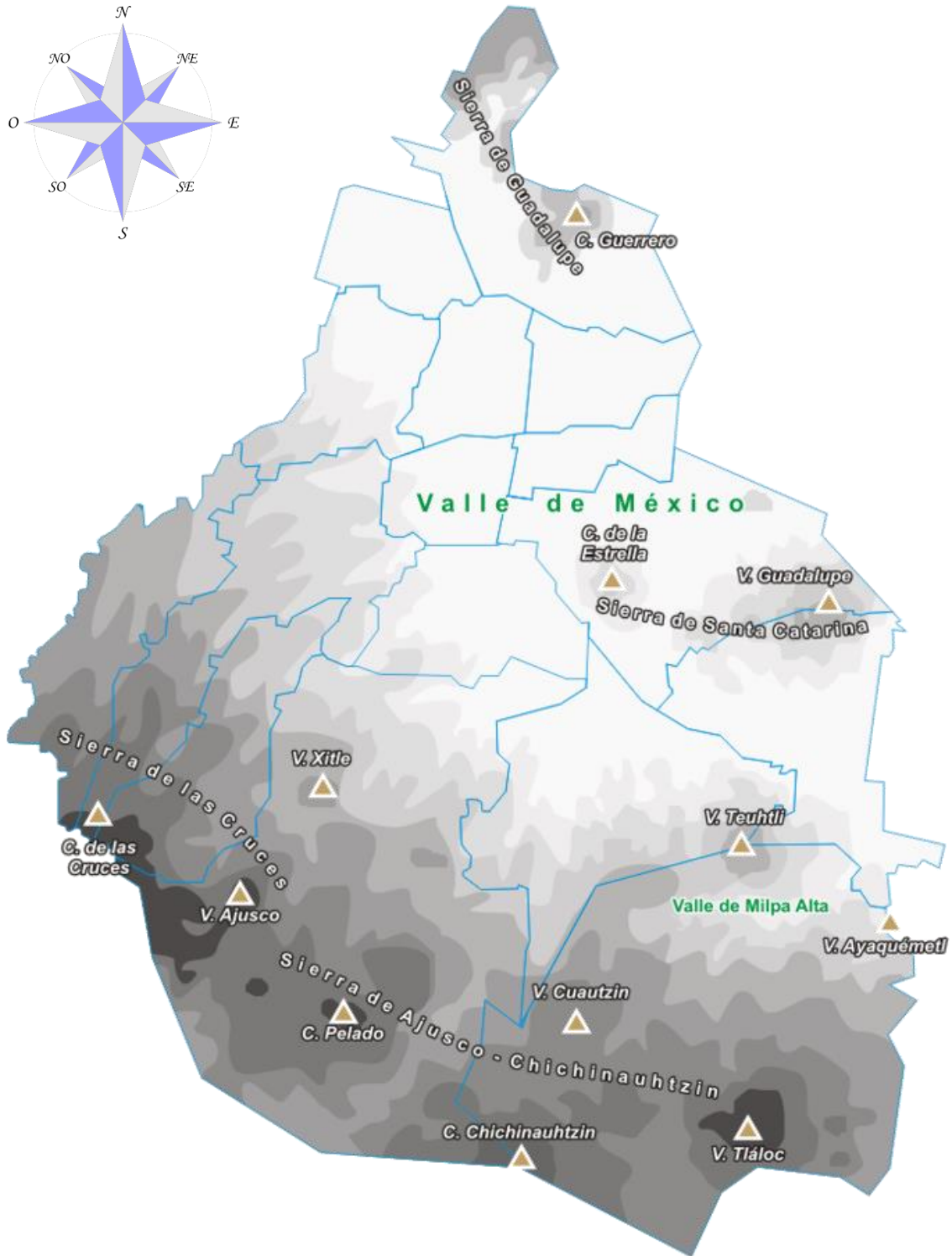


Figura 2. Orografía de la Ciudad de México. Fuente: <https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/f/f8/MX-DF-Relieve.png>

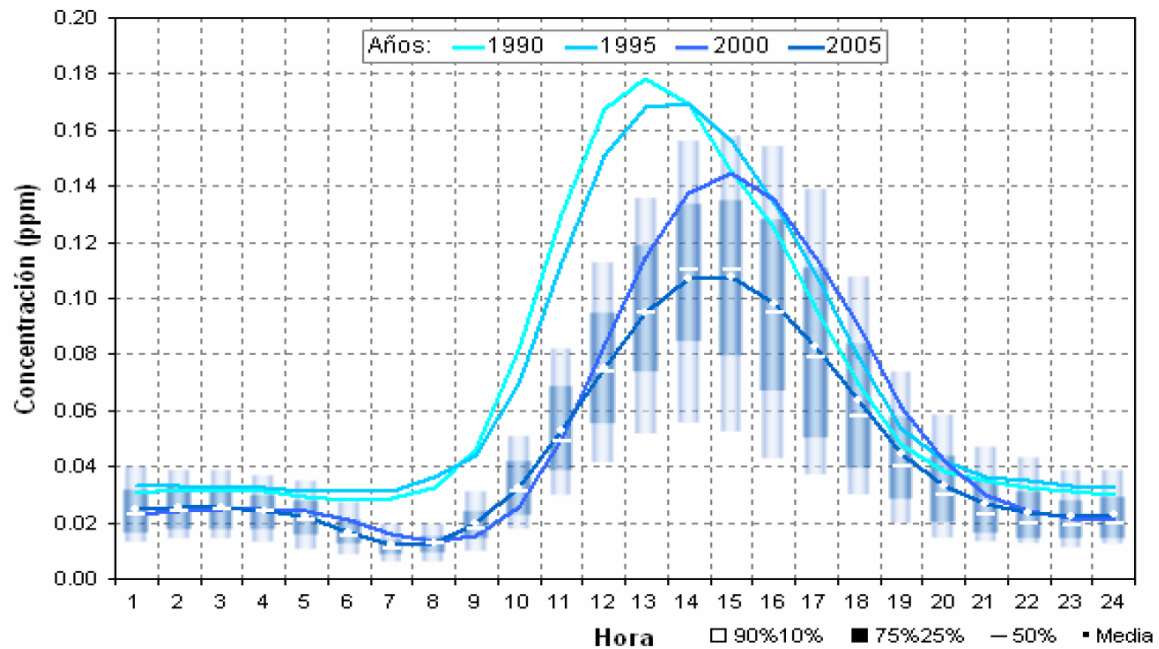


Figura 3. Comportamiento diario del ozono en la Zona Metropolitana del Valle de México. Fuente: SEDEMA (2006).

Legislación ambiental para el ozono en el mundo y en México.

En México es la Norma Oficial Mexicana (NOM-020-SSA1-2014) quien dicta los valores permisibles de concentración de ozono. Con base en dicha Norma, en la Ciudad de México y durante los últimos años, se ha observado una reducción importante en las concentraciones máximas anuales de ozono. Sin embargo, los valores permisibles para el máximo de una y de ocho horas diarias, han sido rebasados. Por ejemplo, en 2017 la CDMX y su área metropolitana registró un total de 234 días en los que el valor máximo promedio de ocho horas superó el valor límite de la Norma (70 ppb); en el mismo año, se reportó un total de 869 horas en los que el valor máximo promedio de una hora (795 ppb) se excedió. Tal como se muestra en la **tabla 1**, los datos reportados por la SEDEMA (2017) permite identificar que la concentración de ozono en la Ciudad de México superan los valores permisibles establecidos por la Norma Oficial Mexicana (NOM-020-SSA1-2014), la Agencia

de Protección Ambiental de los Estados Unidos (US EPA, por sus siglas en inglés) y la Organización Mundial de la Salud (OMS).

Tabla 1. Comparación de las concentraciones máximas de ozono con respecto a los valores límite de la Norma Oficial Mexicana (NOM-020-SSA1-2014), la Organización Mundial de la Salud y la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos. En el caso de la NOM se indica el número de horas en las que superó el valor límite. Tomado de SEDEMA (2017).

	NOM		OMS	US EPA
	No exceder el máximo de 1 h	Máximo 8 h	Máximo 8h	Máximo anual del promedio de ocho horas, evaluado en 3 años
	95 ppb	70 ppb	100 µg/m³	0.075 ppb
Zona Metropolitana	869 h	140 ppb	217 µg/m ³	0.119 ppb
Ciudad de México	817 h	140 ppb	217 µg/m ³	0.119 ppb
Área conurbada (EdoMéx)	443 h	119 ppb	184 µg/m ³	0.105 ppb

Estudio del ozono en la vegetación.

El efecto que el ozono provoca en la vegetación se ha estudiado desde hace más de 50 años en diferentes partes del mundo, utilizando experimentos en campo y en laboratorio (Felzer et al., 2007). Los estudios en campo han permitido entender la capacidad de remoción del ozono a través del tiempo por diferentes ecosistemas forestales relacionando los cambios de diversas variables ambientales como la temperatura, la humedad relativa y la concentración del contaminante, con cambios en la morfología foliar de las especies. Lo cual, permitió determinar los síntomas foliares típicos que la exposición a ozono ocasiona sobre la superficie foliar de las especies (Skelly et al., 1987; Fredericksen et al., 1996; de Bauer & Hernández-Tejeda, 2007).

Por otra parte, los estudios realizados en condiciones de laboratorio han permitido monitorear parámetros ambientales, edáficos y/o bióticos, que influyen en la absorción del ozono (Calfapietra et al., 2016).

Dichos estudios son realizados en sistemas que permiten dosificar la concentración del contaminante durante un periodo de tiempo determinado, estos sistemas cuentan con sensores que permiten cuantificar la concentración de los contaminantes y el monitoreo de otras variables ambientales como temperatura, humedad relativa e intensidad lumínica, con el objetivo de complementar la información obtenida hacia el efecto de la exposición a ozono en la vegetación y poder evaluar sus respuestas morfológicas y/o fisiológicas de las especies de estudio, estos sistemas son denominados cámaras de experimentación (Liu et al., 2006; Rodríguez, 2011; Pliūra et al., 2019).

Cámaras experimentales.

Las cámaras de experimentación (**figura 4**) se basan en emplear una área determinada y relativamente hermética que permita mantener una concentración estable del contaminante en el microambiente del interior de la cámara. Posibilitando así la obtención de correlaciones adecuadas dosis-respuesta respecto a la concentración del gas, refutando el sinergismo de otros contaminantes que en el aire urbano se encuentran presentes.



Figura 4. Cámaras experimentales empleadas para determinar el daño por ozono la vegetación de Japón.
Fuente: <http://web.tuat.ac.jp/~negitono/Research%20in%20Izuta%20Lab.html>

Lo más importante que se debe tener en cuenta al emplear cámaras de experimentación es la selección de los materiales con los que se elaborarán las cámaras. Entre los materiales más usados están el acero inoxidable, aluminio, PVC, Plexiglás, Polipropileno o Polietileno. La razón de este criterio es que el material seleccionado no debe reaccionar con ninguno de los gases emitidos en su interior (Arenas, 2015).

Su aplicación al estudio de los efectos producidos por contaminantes atmosféricos, es la creación de una atmósfera perfectamente controlada cuya, composición puede ajustarse con gran exactitud y precisión (Pujadas et al., 1997). Por ello, las cámaras de experimentación son el método más usado en estudios de laboratorio para determinar los efectos en la vegetación de diversos contaminantes atmosféricos como el ozono (Elagöz & Manning, 2005; Then et al., 2009; Xu et al., 2012). En años recientes, este tipo de

investigaciones han despertado un gran interés en el uso de softwares específicos para el monitoreo continuo de variables experimentales (Ferrer-Cid et al., 2019).

Arduino, una opción para el monitoreo de variables ambientales.

Para el monitoreo de contaminantes atmosféricos existen diversos métodos químicos que permiten su cuantificación. Sin embargo, estos métodos demandan tiempo para su análisis y sus costos son elevados, además que no todos permiten el monitoreo continuo de la concentración del gas (Al Ahasan et al., 2018; Dige & Tandle, 2020).

Diversos autores han propuesto al uso de sensores como una alternativa funcional, eficiente y económica ante estas problemáticas. Los sensores basan su funcionamiento en la cuantificación de los electrones intercambiados (corriente eléctrica) en una reacción óxido-reductora en la que interviene el gas blanco (Ni et al., 2000). Existen sensores programables (Arduino) que permiten monitorear en tiempo real la concentración de diversos contaminantes atmosféricos como el ozono (Ferrer-Cid et al., 2019; Kumar & Sharma, 2020; Liu et al., 2020) y monitorear diversas variables ambientales como la temperatura, la humedad relativa y la luminosidad (Jo & Khan, 2018; Rodriguez-Vasquez et al., 2020).

Arduino es una placa basada en un microcontrolador de código abierto que cuenta con hardware, software y un circuito digital integrado que permite ejecutar de forma automática diversas instrucciones gracias a que es programable mediante pines de entradas y salidas digitales, analógicos y de comunicación (Núñez, 2014).

El hardware (**figura 5**) de Arduino es una placa de circuito impreso que incorpora un microcontrolador reprogramable y una serie de entradas para clavijas denominadas pines, estos pines están unidos internamente a las entradas y salidas del microcontrolador, que permite conectar diferentes componentes eléctricos (i.e.: sensores). Mientras que su software (**figura 6**) es un entorno de desarrollo libre y multiplataforma (Linux, MacOS y Windows) que se instala en el ordenador para escribir y cargar un conjunto de instrucciones en la memoria del microcontrolador. Esta programación se realiza a través de un ordenador conectado al hardware mediante cable USB (Pérez & Rodríguez, 2018).

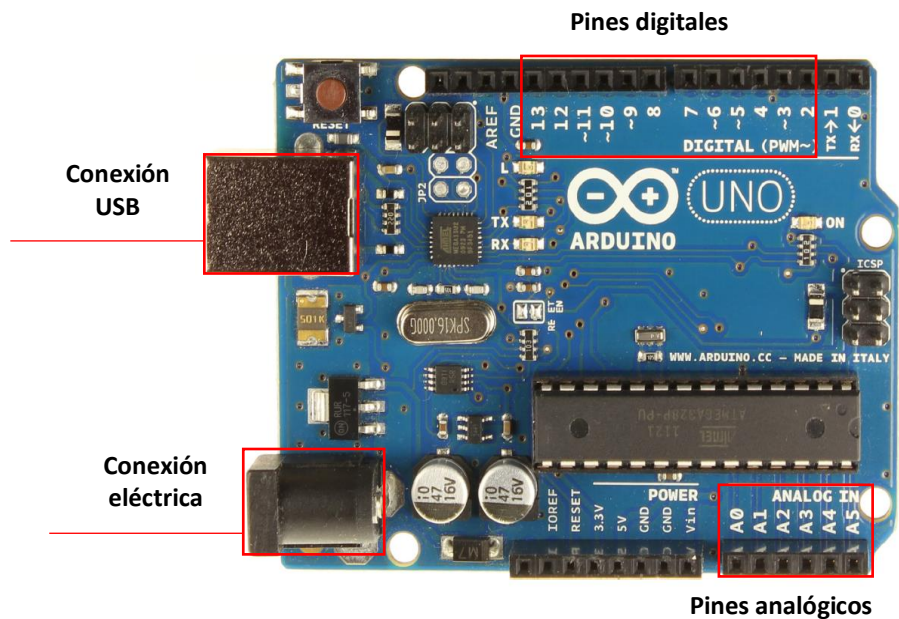
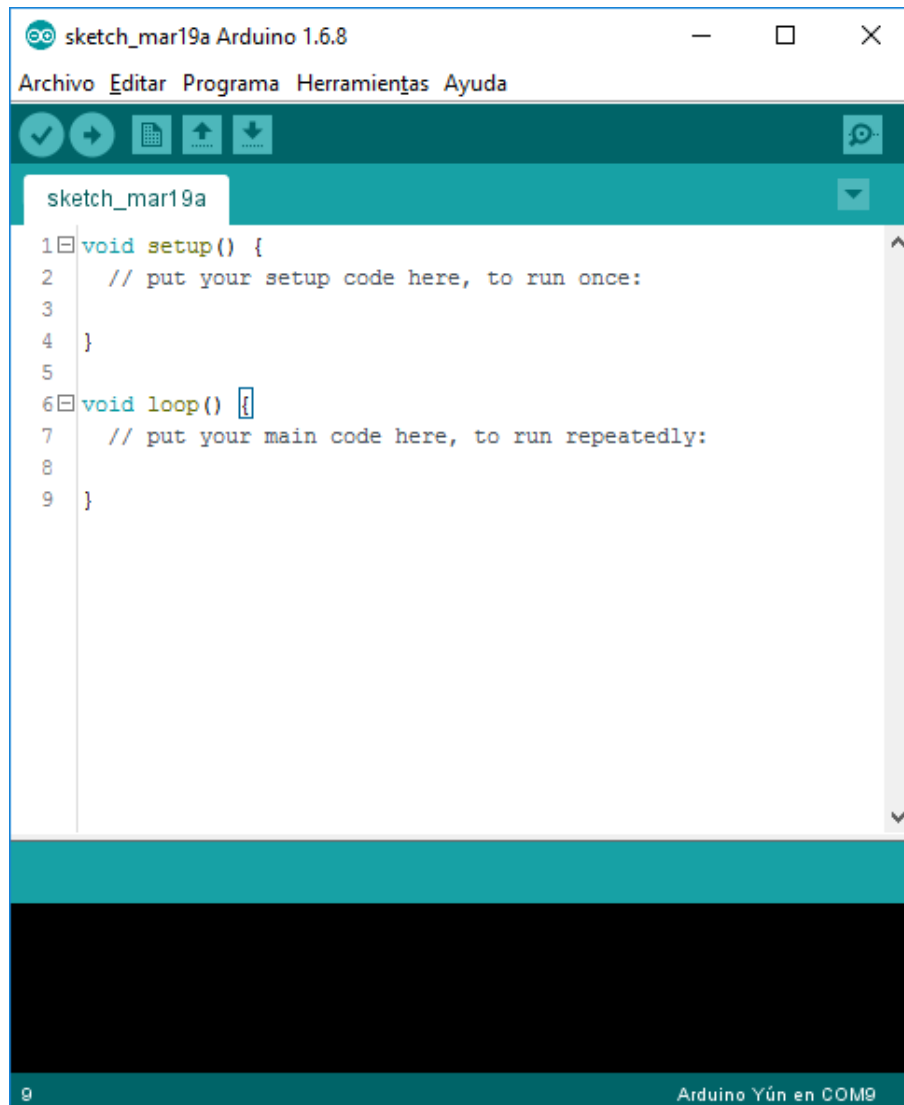


Figura 5. Componentes del hardware de Arduino. Modificado de Di Justo & Gertz (2013).



The image shows a screenshot of the Arduino IDE software interface. The window title is "sketch_mar19a Arduino 1.6.8". The menu bar includes "Archivo", "Editar", "Programa", "Herramientas", and "Ayuda". The toolbar contains icons for checkmark, play, upload, download, and help. The sketch name "sketch_mar19a" is displayed in a dropdown menu. The main editor area contains the following code:

```
1 void setup() {
2   // put your setup code here, to run once:
3
4 }
5
6 void loop() {
7   // put your main code here, to run repeatedly:
8
9 }
```

The status bar at the bottom shows "9" on the left and "Arduino Yún en COM9" on the right.

Figura 6. Esquematización del software de Arduino.

Impacto del ozono en la vegetación.

Absorción del ozono.

La primera zona de contacto, entre la vegetación y el ozono, ocurre en las ceras epicuticulares de la hoja, las cuales, actúan como barrera protectora de las células epidérmicas subyacentes (Vaultier & Jolivet, 2015). De acuerdo con Azcón-Bieto & Talón (2013), sobre la superficie de la hoja, se encuentra una capa de gases estáticos denominada capa estacionaria. En esta capa, se pueden encontrar algunas partículas inmóviles tales como el ozono (figura 7).

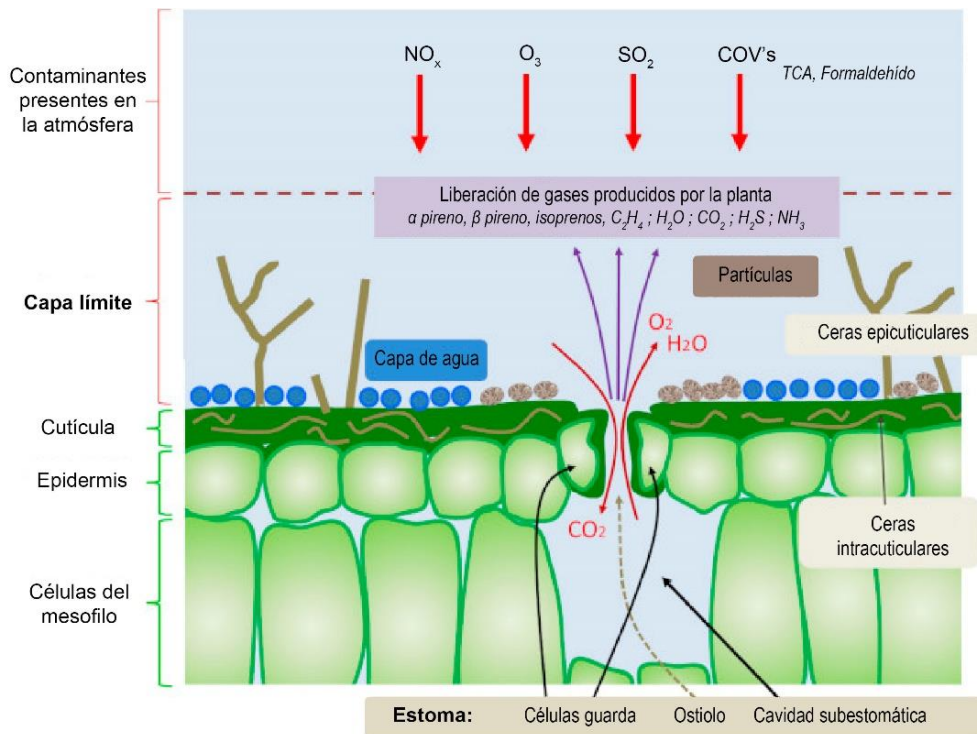


Figura 7. Capa límite o capa estacionaria foliar y absorción de contaminantes atmosféricos por la vegetación. Modificado de <https://www.encyclopedie-environnement.org/en/life/impact-air-pollutants-on-vegetation/>

Una vez estático sobre la superficie de la hoja, el ozono entra a los tejidos a través de los estomas (Tausz et al., 2007). Dentro de la cavidad subestomática, el ozono reacciona con el apoplasto de las células del mesófilo, degradándose inmediatamente en Especies Reactivas de Oxígeno (ERO y ROS por sus siglas en inglés) tales como peróxido de hidrógeno (H_2O_2), oxígeno atómico (O_2^-) y radicales hidroxilo (HO^-) o superóxido (O_2^-) (Vaultier & Jolivet, 2015). Las ERO, causan efectos tóxicos sobre el ADN, las proteínas, los lípidos y los carbohidratos (Jaspers & Kangasjärvi, 2010). En condiciones normales, algunas ERO son eliminadas por el sistema antioxidante de la célula, que está formado por enzimas como la superóxido dismutasa, la peroxidasa, la catalasa y otras sustancias como el ascorbato, el glutatión y los carotenoides (Barrantes, 2000). Sin embargo, cuando la acumulación de ERO excede la capacidad detoxificante de la planta, lo que puede producir un daño fotooxidativo que afecta la integridad de las células. Si existe un daño a las células del mesófilo que causan su colapso y muerte, podrían observarse síntomas de daño en la superficie de la hoja y/o alteraciones fisiológicas (Gulke & Heath, 2020).

Conductancia estomática.

La conductancia estomática estima la tasa de intercambio gaseoso y de transpiración a través de los estomas de la hoja, determinadas por el grado de apertura estomática (Pask et al., 2013). Además de regular la entrada de dióxido de carbono y las pérdidas de agua, los estomas son la principal vía de acceso del ozono ya que la cutícula es prácticamente impermeable a este gas (Elvira et al., 2007).

Diversos estudios, han reportado que uno de los primeros síntomas de acción del ozono, ocurre mediante la alteración de la conductancia estomática en diversas especies

arbóreas (Gao et al., 2016) y de coníferas (Grulke & Heath, 2020). El experimento realizado por Xu et al. (2012), demostró que la exposición de *P. tabulaeformis* a 40 ppb de ozono en cámaras experimentales, estimuló el cierre parcial de los estomas tras pocos segundos posterior a la exposición.

Clorofila.

La fotosíntesis es el proceso químico mediante el cual, los organismos autótrofos utilizan la energía de la luz solar para ensamblar moléculas orgánicas ($C_nH_{2n}O_n$) provenientes de fuentes inorgánicas (CO_2 y H_2O). Este proceso ocurre en los cloroplastos e inicia cuando las moléculas de clorofila captan la energía lumínica y la transforman en energía química (ATP) y compuestos reductores (NADPH) para su posterior transformación en moléculas orgánicas para el desarrollo de biomasa (Sánchez, 2018). La clorofila *b* funciona como pigmento accesorio en la captación y la absorción de luz, mientras que las moléculas de clorofila *a* son el único pigmento con capacidad de transducción de la energía luminosa en energía fotoquímica en los centros de reacción del fotosistema II (P680) y el fotosistema I (P700) (Barrantes, 2000).

El daño fotooxidativo por exposición a ozono puede ocurrir en los sistemas pigmento-proteína mediante la peroxidación de los lípidos de membrana. Las especies reactivas de oxígeno producidas posterior a la absorción del ozono, reaccionan con los ácidos grasos insaturados y proteínas de la membrana conduciendo a la destrucción de los sistemas de las membranas tanto celulares como de organelos, lo cual, pueden causar daño en moléculas asociadas a las membranas tales como los pigmentos fotosintéticos (Pliūra et al., 2019). El experimento realizado por Anderson et al. (2003), demostró que la exposición

de *P. ponderosa* a 40 ppb de ozono en cámaras experimentales estimuló una disminución del 45 % en el contenido de clorofila total.

***Pinus* spp. y su relación con ozono.**

De acuerdo con Domínguez (2018), los bosques de pino están representados por los bosques de coníferas (*Pinus* y *Quercus*), los cuales, son el segundo ecosistema terrestre más abundante del país. Además, México es el país con el mayor número de especies pertenecientes al género *Pinus*, ya que, se distribuyen aproximadamente 50 de las 115 especies de pinos reconocidas en el mundo. Por lo que, el género *Pinus* ha sido utilizado como especie bioindicadora del depósito atmosférico de ozono debido a su alta sensibilidad (Ruiz, 2015). Los pinos en México presentan una cobertura de 323,300 km², lo que representa el 16% del territorio nacional. Se distribuyen principalmente a lo largo de la Sierra Madre Occidental, la Sierra Madre Oriental, el Eje Neo-volcánico, la Sierra madre del Sur, el Macizo de Oaxaca, la Sierra Madre de Chiapas y las sierras de Juárez y San Pedro Mártir en B.C.N. (Domínguez, 2018).

Por otra parte, diferentes estudios han señalado la sensibilidad de las especies pertenecientes a este género ante la exposición a contaminantes atmosféricos como el ozono (Dalsteins & Vas, 2004; de Bauer & Hernández-Tejeda, 2007; Karnosky et al., 2007; Ruiz, 2015; Ciriani & Dalstein, 2018; Grulke & Heath, 2020). El estudio realizado por Miller et al. (2002), llevado a cabo en diferentes Parques Nacionales de la Ciudad de México, permitió identificar a nueve especies del género *Pinus* como sensibles; a partir de síntomas foliares típicos de exposición a ozono, tales como moteado clorótico y bandeado. Sin embargo, a pesar de los diversos estudios que se han realizado sobre los efectos que la

exposición a ozono puede ocasionar en especies pertenecientes al género *Pinus*, aún no se cuenta con registros sobre el efecto que algún contaminante atmosférico ocasione en *Pinus greggii*.

***Pinus greggii* Englem.**

Pinus greggii Englem. (**figura 8**) es una especie nativa de México, que se distribuye en la Sierra Madre Oriental, en los estados de Coahuila, Nuevo León, San Luis Potosí, Querétaro, Hidalgo y Puebla (Parraguirre et al., 2002). Los árboles de *P. greggii*, alcanzan una altura máxima de 25 m. y un diámetro de 40 cm. Su corteza es color marrón grisáceo, áspero y dividido por profundas fisuras verticales. La copa del árbol es abierta y redondeada, con follaje denso, sus ramas son ascendentes, largas y delgadas, que se extienden de manera horizontal al tronco (CONAFOR, 2012).

Sus hojas se presentan en acículas, con fascículos de tres acículas, la longitud de cada acícula es de 7 a 15 cm de largo y una anchura de 0.10 a 0.14 cm, de color verde claro brillante y de forma triangular. Cada acícula puede presentar de 34 a 41 estomas por cada 3 mm de longitud y puede presentar de 3 a 4 canales resiníferos (CONAFOR, 2012; Domínguez, 2018).

En México, por su rápido crecimiento y su buena adaptación a suelos pobres, se ha empleada en programas de restauración de suelos (CONAFOR, 2012). Además, por su gran capacidad de supervivencia y desarrollo en condiciones de humedad limitada, es la cuarta especie de pino utilizada en las plantaciones del Programa Nacional de Reforestación (Domínguez, 2018).



Figura 8. Árbol y acículas de *Pinus greggii*. Modificado de https://www.naturalista.mx/taxa/135782-Pinus-greggii/browse_photos

ANTECEDENTES.

A continuación, se presentan las investigaciones previas encontradas para el género *Pinus spp.* y sus efectos por acción del ozono.

- Evans & Miller (1972), reportaron a *Pinus ponderosa*, *P. jeffreyi*, *P. coulteri* y *P. lambertiana*, como especies sensibles a la exposición por ozono, ya que presentaron moteado clorótico en sus acículas en tratamientos de 350 ppb de O₃ por 9 horas diarias, durante 55 días de exposición.
- Evans & Fitzgerald (1993), señalaron a *P. ellioti* como una especie sensible a ozono. Atribuido a la presencia de moteado clorótico por su exposición a 70 ppb O₃, durante 7 horas al día, por 17 días.
- McQuattie & Shier (1993), identificaron a *P. rigida* como especie sensible a la exposición a ozono. Debido a la presencia de moteado clorótico y necrosis apical foliar, por su exposición a 50 ppb O₃, durante 8 horas al día, por 13 semanas.
- Anttonen et al. (1996), reportaron a *P. taeda* como especie sensible a la exposición a ozono. Dado por la presencia de moteado clorótico y necrosis foliar, por su exposición a 100 ppb O₃, durante 5 horas al día, por 140 días.
- Fredericksen et al. (1996), identificaron que los efectos adversos morfológicos de la exposición a ozono, en diversos bosques de Norte América, eran resultado de una acumulativa absorción del contaminante.
- Sanz et al. (2000), emplearon a *P. bungeana* y *P. radiata*, para biomonitorio de ozono. Identificaron en ambas especies síntomas foliares típicos por exposición a ozono, como moteado clorótico.

- Soda et al. (2000), identificaron a *P. halepensis* como especie sensible ante la exposición a ozono. Por la presencia de moteado clorótico, por su exposición a 20 ppb O₃, durante 20 semanas.
- Alonso et al. (2001), reportaron que la exposición durante dos meses a 40 ppb de O₃, en *P. halepensis* disminuyó el contenido de total de clorofila. Atribuido a su efecto en la actividad fotosintética y debido a la generación de especies reactivas de oxígeno, producidas posteriormente a su absorción.
- Miller et al. (2002), tras realizar diversos estudios en diferentes parques urbanos de la Ciudad México; reportaron a cinco especies de pino como altamente sensibles (*P. hartwegii*, *P. radiata*, *P. montezumae*, *P. montezumae var. lindleyim* y *P. leiophylla*), a cuatro especies de pino como moderadamente sensibles (*P. patula*, *P. teocote*, *P. rudis* y *P. pseudostrobus*) y a dos especies de pino como resistentes (*P. cembroides* y *P. ayacahuite*). Esta clasificación se atribuyó a la presencia o ausencia de moteado clorótico.
- Dalsteins & Vas (2004), después de monitorear a *P. halepensis* y *P. cembra* durante dos años, se reportaron como especies sensibles debido a la presencia de moteado clorótico tras su exposición a 60 ppb de O₃.
- Inclán et al. (2005), reportaron que tras una exposición a ozono de 40 ppb de O₃, durante 39 meses, se reduce la conductancia estomática de *P. halepensis*. Atribuido posiblemente a la disminución en la actividad enzimática de la RuBisCo, reduciendo la eficiencia en la fijación de dióxido de carbono.

- Liu et al. (2006), señalaron que la exposición a 80 ppb de O₃ en cámaras abiertas (open-top), durante 90 días, provocó clorosis foliar y decremento de la conductancia estomática de *P. tabuliformis*. También, atribuido al tiempo de exposición, ocurrió una disminución de la actividad enzimática de la RuBisCo, reduciendo la eficiencia de la fijación de CO₂.
- Elvira et al. (2007), monitorearon a *P. halepensis* durante tres años consecutivos en condiciones naturales y dentro de cámaras open-top con 60 ppb de O₃. Mostraron que existe una reducción de la conductancia estomática, debido a las condiciones de estrés hídrico y la exposición a contaminantes atmosféricos como el ozono.
- Karnosky et al. (2007), reportaron la sensibilidad a ozono en *P. taeda*, *P. echinata*, *P. elliotii*, *P. palustris* y *P. virginiana*. Debido a la presencia de moteado clorótico y senescencia acelerada en sus acículas por la disminución de la conductancia estomática, posterior a una exposición a 100 ppb de O₃.
- Oguntimehin & Sakugawa (2009), señalaron que posterior a una exposición a 75-150 ppb de O₃ por 60 días disminuyó la conductancia estomática, el contenido total de clorofila *a*, clorofila *b*, clorofila *total* y la relación entre ambas clorofilas en *P. densiflora*. Debido a una disminución de la actividad del fotosistema II, igual que la eficiencia en la fijación de CO₂.
- Díaz-De-Quijano et al. (2012), reportaron a *P. uncinata* como sensible debido a la presencia de moteado clorótico, tras exponerla en cámaras open-top a 88 ppb de O₃.

- Vollenweider et al. (2013), encontraron que la concentración de ozono durante los últimos 30 años se ha duplicado a nivel global, con valores desde 60-70 ppb hasta 180 ppb. Ocasionado principalmente por el crecimiento poblacional y el desarrollo industrial.
- Ruiz (2015), reportó como sensibles al 87.2 % de las acículas de una recolecta de más de 7.000 unidades *Pinus spp.* en el Estado de México debido a la presencia de moteado clorótico.
- Gao et al. (2016), señalaron en diversas especies arbóreas que la difusión del ozono y de sus productos (especies reactivas de oxígeno) a través de la célula, pueden reaccionar con la grana y los tilacoides del cloroplasto, afectando a la molécula de clorofila, propiciando el moteado clorótico y la necrosis foliar.
- Ciriani & Dalstein (2018), señalaron a *P. sylvestris* como sensible a ozono debido a la presencia de moteado clorótico tras su monitoreo en Francia a una exposición de 134 ppb de O₃.
- Bičárová et al. (2019), reportaron a *P. mugo* como sensible a ozono debido a la presencia de moteado clorótico tras su monitoreo en Eslovaquia a 60 ppb de O₃. Además, identificaron una disminución en la conductancia estomática por el efecto de una senescencia acelerada.
- Marzuoli et al. (2019), atribuyeron en diferentes especies arbóreas que la disminución en el contenido de clorofilas por la exposición a ozono, se debe a la producción de especies reactivas de oxígeno en el cloroplasto, que originan la destrucción de moléculas de clorofila.

- Pliūra et al. (2019), reportaron a *P. sylvestris* como especie potencialmente tolerante a ozono, luego de exponerla a 150 ppb de O₃, por 4 semanas. A pesar de encontrar una disminución de la conductancia estomática, las concentraciones del contenido de clorofila *a* y carotenos aumentaron. Esto lo atribuyeron a una respuesta de evasión adaptativa (el cierre de estomas) durante la exposición, y a un aumento en la concentración interna de CO₂ como una mecanismo de tolerancia a ozono.

De la década de los 70s hasta la actualidad, las investigaciones reportan diversos daños ocasionados por la exposición a ozono en diversas plantas de coníferas. Los estudios se han enfocado en la caracterización del daño (*in situ*) por medio de la presencia- ausencia de síntomas foliares típicos, correlacionando los registros de concentración de ozono. Sin embargo, para comprender el mecanismo de acción del ozono se requiere de metodologías con enfoque multidisciplinario. Sin embargo, este enfoque debe de incluir un conocimiento de las condiciones de experimentación y de variables tanto morfológicas como fisiológicas.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Durante los últimos 30 años la concentración de ozono se ha duplicado a nivel global aumentando su valor de 70 ppb hasta 180 ppb (Vollenweider et al., 2013). La contaminación por ozono y otros contaminantes ocurre en las grandes urbes como la Ciudad de México, cuyos problemas de contaminación en los últimos 50 años son consecuencia del acelerado crecimiento poblacional (de Bauer & Hernández-Tejeda, 2007; Escobedo & Chacalo, 2008).

La presencia de compuestos fitotóxicos como el ozono y sus precursores en la CDMX se dio a conocer por de Bauer (1972). Desde entonces, se han generado diversos estudios que se centraron en identificar los síntomas foliares inducidos por la exposición a estos compuestos oxidantes en *Pinus spp.* (Krupa & de Bauer, 1976) pues es una especie que está presente en los diferentes bosques urbanos de la CDMX (Sandoval, 2019).

El estudio realizado en el Valle de México por Miller et al. (2002), identificaron como sensibles ante la exposición media anual de 37.4 ppb de ozono a *P. hartwegii*, *P. radiata*, *P. montezumae*, *P. montezumae var. lindleyi*, *P. leiophylla*, *P. patula*, *P. teocote*, *P. rudis* y *P. pseudostrobus*, por la presencia de moteado clorótico. El estudio realizado por Ruiz (2015), señaló al género *Pinus spp.* presente en el Parque Nacional Izta-Popo como sensible a la exposición media horaria de 122.0 ppb de ozono, considerando al género como indicador ambiental de dicho bosque debido a la presencia de moteado clorótico en sus acículas.

Diversos estudios han reportado los efectos de la exposición a ozono en cámaras experimentales para diferentes especies de pino. En *Pinus halepensis* se reportó una disminución del contenido de clorofila total posterior a la exposición a 40.0 ppb de ozono (Alonso et al., 2001), mientras que para la misma especie se reportó una disminución de la

conductancia estomática posterior a su exposición a 60.0 ppb de ozono (Elvira et al., 2007). En *P. uncinata*, se reportó la presencia de moteado clorótico en sus acículas posterior a la exposición a 80.0 ppb de ozono (Díaz-De-Quijano et al., 2012)

A pesar de que en el género *Pinus spp*, se ha estudiado ampliamente los efectos del ozono en su morfología y fisiología, no existen reportes que hayan indicado el efecto del ozono en la morfología foliar, en la conductancia estomática y el contenido de clorofila total, en concentraciones de exposición a ozono similares a la de la ciudad de México en *Pinus greggii* Englem. Ante esta situación, se plantean las siguientes preguntas de investigación.

PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN.

- ¿Las cámaras experimentales simulan condiciones de exposición a ozono similares a las de la CDMX?
- ¿Cuál es el efecto de la exposición a ozono sobre la morfología foliar de plantas jóvenes de *Pinus greggii*?
- ¿Cuál es el efecto de la exposición a ozono en la conductancia estomática de plantas jóvenes de *P. greggii*?
- ¿Cuál es el efecto de la exposición a ozono en el contenido de clorofila total de plantas jóvenes de *P. greggii*?
- ¿Se puede considerar a *P. greggii* como una especie sensible ante la exposición a >60.00 ppb de ozono, por la presencia de síntomas foliares, la afectación de conductancia estomática y del contenido de clorofila total?

JUSTIFICACIÓN.

El ozono troposférico es un contaminante atmosférico que afecta la morfología (Díaz-de-Quijano et al., 2016; Ciriani & Dalstein, 2018) y la fisiología (Liu et al., 2006; Pliūra et al., 2019) de las plantas, lo que genera consecuencias negativas sobre los servicios ecosistémicos que estas proporcionan (Reyes, 2019). Por ejemplo, los bosques de Pino ayudan en la recarga de los mantos acuíferos, disminuyen la erosión de suelos y contribuyen a la captura de dióxido de carbono y la producción de oxígeno (CONAFOR, 2012). Dado que, durante los últimos diez años *Pinus greggii* ha sido empleada en programas de reforestación en todo el territorio nacional (Domínguez, 2018), que es una especie cultivada en el vivero de Coyoacán (SEMARNAT, 2016) y Nezahualcóyotl (SEDEMA, 2016) debido a que se ha recomendado su uso para la reforestación de parques urbanos en la ciudad de México (López, 2011) y que el género *Pinus* ha sido reportado como altamente sensible a la exposición a ozono (de Bauer & Hernández-Tejeda, 2007; Ruiz, 2015). Es de suma de importancia identificar los posibles efectos de la exposición a ozono en la morfología y la fisiología de *Pinus greggii* a condiciones similares a las reportadas para la ciudad de México, con ello se contribuirá a determinar su sensibilidad ante el ozono y definir si es útil para ser empleada en los planes de reforestación, como una especie indicadora o sensible.

HIPÓTESIS.

La exposición en concentraciones superiores a 60 ppb de ozono, en diversas especies del género *Pinus* ha ocasionado la presencia de síntomas foliares típicos, como el moteado clorótico, la disminución de la conductancia estomática y del contenido de clorofila total. Por lo que, se espera que la exposición de *Pinus greggii* a >60.00 ppb O₃ ocasione alteraciones morfológicas en las acículas de los árboles, diferencias en la conductancia estomática y el contenido de clorofila total.

OBJETIVO.

General.

Registrar el daño foliar morfológico y fisiológico en árboles juveniles de *Pinus greggii* Englem. por exposición a ozono.

Particulares.

- Implementar un sistema de exposición cerrado para la experimentación.
- Monitorear las variables microambientales durante el experimento.
- Identificar los daños visibles por exposición a ozono en la superficie foliar en plantas jóvenes de *P. greggii*.
- Determinar los efectos de la exposición a ozono en el intercambio de gases en plantas jóvenes de *P. greggii*.
- Cuantificar los daños en la concentración de clorofila total por la exposición a ozono en plantas jóvenes de *P. greggii*.

MÉTODO.

Obtención de plantas de *Pinus greggii*.

Se solicitó la donación de 30 árboles de *Pinus greggii* al Vivero de Coyoacán, en la CDMX, a cargo del biólogo Horacio Bonfil Sánchez. El vivero se ubica en la Avenida México Coyoacán sin número, Colonia del Carmen, de la Ciudad de México. Los árboles donados poseían una altura total menor a 50 cm. y una edad aproximada de entre 4 a 6 años. Posteriormente, los árboles fueron trasladados al Laboratorio de Contaminación Atmosférica de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza (FES-Z), de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).

Dentro del laboratorio, cada planta fue trasplantada a contenedores cilíndricos de plástico con capacidad de dos litros, con medidas de 14 cm de base por 30 cm de altura y con orificios en la base para drenaje de riego. El sustrato utilizado fue el propuesto por la CONAFOR (2012), el cual, consiste en un sustrato inerte de proporción 40:30:20:10 (V/V/V/V) de tierra negra, turba, vermiculita y agrolita.

Aclimatación de *Pinus greggii*.

Esta etapa consistió en un periodo de tres semanas, tal como lo sugieren Ojeda (2007) y CONAFOR (2012). Este proceso se realizó con la finalidad de asegurar un crecimiento eficiente y homogéneo de los árboles. Durante este periodo, los árboles se desarrollaron a temperatura, humedad relativa y luminosidad del Laboratorio de Contaminación Atmosférica.

Para asegurar la nutrición mineral, se adicionaron semanalmente 150 mL de solución nutritiva de Hoagland* por maceta (Hoagland & Arnon, 1950) (**Anexo 1**). Además de riegos por inmersión a capacidad de campo, dos veces por semana (Ojeda, 2007).

Exposición de *Pinus greggii* a ozono.

La exposición a ozono se llevó a cabo en el Laboratorio de Contaminación Atmosférica, dentro de dos cámaras experimentales (**figura 9**) una como control y otra como tratamiento (Chávez, datos no publicados). Los periodos y el tiempo de exposición se determinaron con base en los empleados por otras experimentaciones para especies pertenecientes al género *Pinus* (Alonso et al., 2001; Dalsteins & Vas, 2004; Z. Liu et al., 2006; Bičárová et al., 2019), con ligeras modificaciones de acuerdo a los registros de cada hora en la concentración de ozono para la ciudad de México, reportados por la SEDEMA (2017). Se emplearon un total de 14 plantas de *Pinus greggii* como unidades experimentales, introduciendo siete plantas por cámara en cada periodo de exposición con ozono.

El tratamiento con ozono se realizó con base al protocolo propuesto por Chávez (datos no publicados), el cual, tuvo una duración de tres semanas continuas, con dos periodos de exposición por semana (lunes y jueves), cada periodo tuvo una duración de dos horas (de 10:00 a 12:00 h). La emisión de ozono se llevó a cabo mediante un generador de ozono para purificación de aire marca APEL modelo A-2.

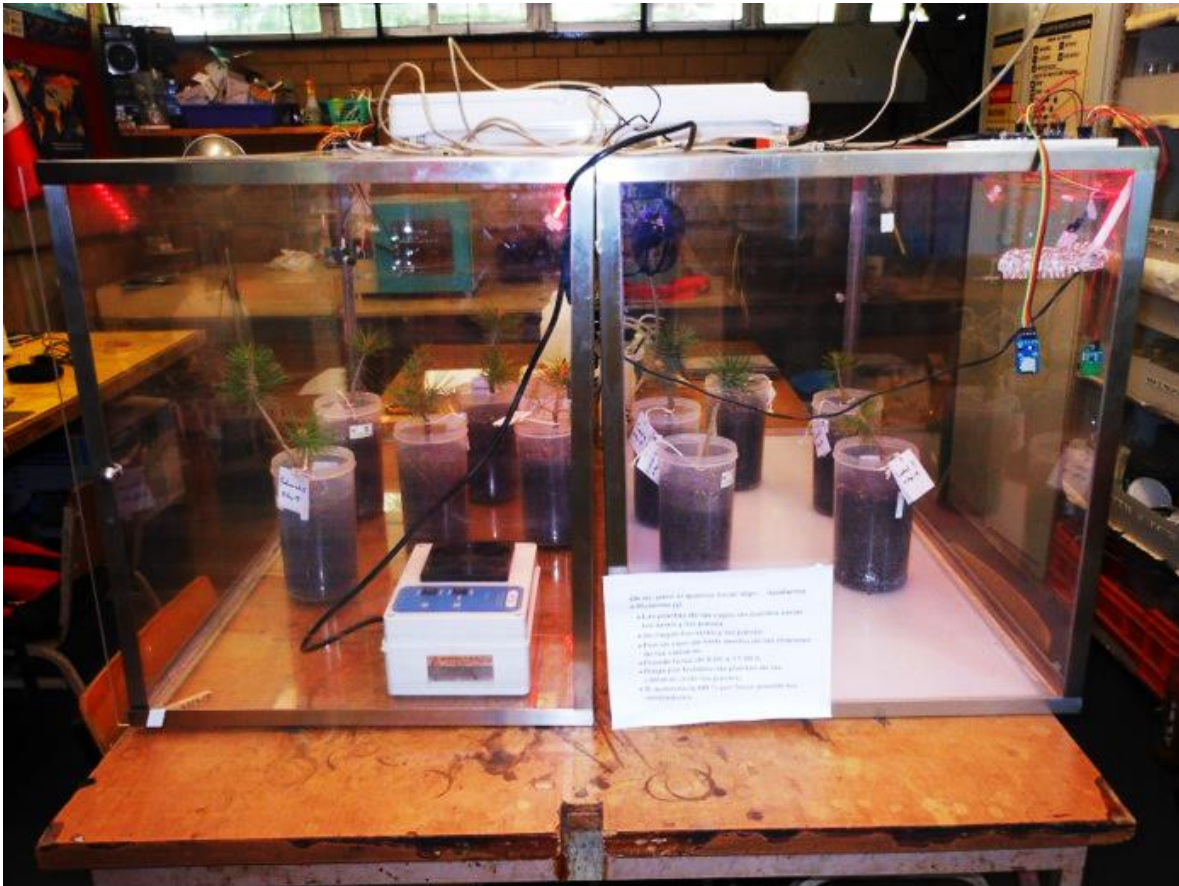


Figura 9. Plantas de *Pinus greggii* durante la exposición a ozono mediante cámaras experimentales acopladas a sensores Arduino.

Monitoreo de variables ambientales.

Software Arduino.

El monitoreo de variables ambientales durante los periodos de exposición, se llevó a cabo mediante el protocolo propuesto por Chávez (datos aún no publicados), mediante el registro del contaminante, la temperatura (T), la humedad relativa (Hr) y la luminosidad (L) del interior de las cámaras, a través del software Arduino versión 1.8.12 (2019-04-12) y los sensores MQ131 para ozono, BH1750 para luminosidad y DHT22 para temperatura y humedad relativa (**figura 10**), determinando la dosis efectiva de exposición a ozono mediante la diferencia entre la concentración del contaminante registrado en la cámara

tratamiento y la cámara control. Para conocer el código de programación, consultar el **Anexo 2**.

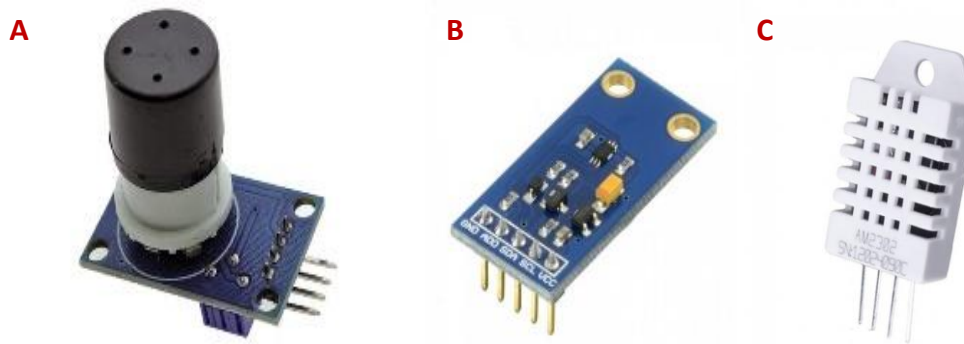


Figura 10. Sensores MQ131 (A) para ozono, BH1750 (B) para luminosidad y DHT22 (C) para temperatura y humedad relativa.

Software Hoboware.

De manera complementaria, externo a los periodos de exposición y con la finalidad de establecer las condiciones ambientales en las cuales las plantas se desarrollaron, se realizó un registro de temperatura, humedad relativa y luminosidad mediante el software Hoboware, marca Hobbo versión 3.7.18 (2020-01-23).

Mediciones morfológicas.

Identificación de síntomas foliares.

Se realizó un monitoreo de las acículas mediante la observación y el registro de los daños ocasionados por la exposición a ozono. Dicha identificación se realizó desde el inicio hasta el término de la experimentación, diariamente.

Mediciones fisiológicas.

Para las mediciones que se mencionarán en el presente apartado, se empleó un muestreo por juicio (no probabilístico), el cual, consistió en la selección de tres fascículos de las acículas más jóvenes con longitud mínima de cinco centímetros. Las mediciones se llevaron a cabo durante las primeras horas del día (de 7:00 a 10:00 h) y diariamente desde el inicio hasta el término del experimento. Por cada planta y de cada medición, se realizaron tres repeticiones.

Conductancia estomática.

El registro de conductancia estomática se llevó a cabo 24 h previas a la primera exposición, dicho registro continuó cada día hasta el término del experimento. Las mediciones se realizaron mediante el porómetro foliar de difusión dinámica Delta T AP4 (figura 11) Delta T Devices Ltd. Cambridge, UK.



Figura 11. Porómetro foliar de difusión dinámica Delta T AP4. Fuente: <https://www.alphaomega-electronics.com/es/medio-ambiente/1261-ap4-porometro-de-hojas-de-delta-t-5-anos-de-garantia.html>

Clorofila total.

Se empleó el método descrito por Sánchez (2018), registrando el valor promedio de diez lecturas por cada repetición mediante el equipo Minolta SPAD-502 Plus de Spectrum Technologies Inc (**figura 12**). El registro del contenido de clorofilas se realizó con tres repeticiones por cada muestra experimental, iniciando 24 h previas a la primera exposición y continuó cada día hasta el término del experimento.



Figura 12. Medidor de clorofila Minolta SPAD-502 Plus. Fuente: <https://patagoniatools.com.ar/productos/laboratorios/minolta-spad-502-plus/>

Para determinar la concentración de clorofila total foliar ($\mu\text{mol}/\text{m}^2$), se empleó la ecuación exponencial propuesta por Markwell et al. (1995), derivada de un modelo de calibración para el equipo Minolta SPAD-502 Plus de Spectrum Technologies Inc:

$$Chl = 10^{(M^{(0.265)})}$$

Donde:

M = valor obtenido por la medición con SPAD-502.

Análisis estadístico.

Para el análisis de las variables microambientales registradas con los sensores Arduino durante los periodos de exposición y las variables fisiológicas de conductancia estomática y de clorofila total, se realizó la estadística inferencial mediante pruebas de t-Student para muestras independientes, comparando la media del control con la media del tratamiento. Por otra parte, los valores medios del control y del tratamiento de conductancia estomática y de clorofila total, fueron analizados de manera independiente mediante una prueba de ANOVA de medidas repetidas. Todos los análisis se realizaron en el programa estadístico SPSS statistics (26.0 32-bit 2021-07-13).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Registro de variables ambientales.

Software Arduino.

Comparando los datos microambientales registrados en el interior de las cámaras de experimentación durante la exposición a ozono y mediante un análisis de t-Student para muestras independientes, no se encontraron diferencias significativas en el valor medio de humedad relativa ($p < 0.05$, $p = 0.695$) entre la cámara control y la cámara tratamiento. Sin embargo, se encontraron diferencias significativas en el valor medio de temperatura ($p < 0.05$, $p = 0.003$), luminosidad ($p < 0.05$, $p < 2.2 \cdot 10^{-16}$) y concentración de ozono ($p < 0.05$, $p < 2.2 \cdot 10^{-16}$) entre la cámara control y tratamiento. En la **tabla 2** se muestran los valores medios de temperatura, humedad relativa y luminosidad, registradas con los sensores Arduino durante los periodos de exposición a ozono.

Tabla 2. Registro de variables ambientales de la cámara control y tratamiento durante los periodos de exposición a ozono de *Pinus greggii*. Se muestra el promedio por periodo de exposición, con $n = 8$ y \pm d. e.

Cámara control					
Periodo de exposición	Temperatura (°C)	Humedad relativa (%)	Luminosidad ($\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$)	Concentración de ozono (ppb)	
1	22.56 \pm 0.77	44.56 \pm 17.69	10.41 \pm 0.06	33.00 \pm 3.04	
2	21.56 \pm 0.53	42.89 \pm 14.37	10.30 \pm 0.09	30.67 \pm 2.40	
3	23.56 \pm 0.53	48.00 \pm 17.01	10.41 \pm 0.06	30.67 \pm 5.72	
4	23.33 \pm 0.50	48.00 \pm 17.01	10.30 \pm 0.09	35.22 \pm 5.04	
5	22.56 \pm 0.53	47.00 \pm 17.15	10.14 \pm 0.03	33.56 \pm 0.88	
6	22.56 \pm 0.53	48.00 \pm 17.01	10.41 \pm 0.06	30.67 \pm 5.72	
Promedio	22.85 \pm 0.56	46.41 \pm 16.71	10.33 \pm 0.10	32.30 \pm 3.80	
Cámara tratamiento					
Periodo de exposición	Temperatura (°C)	Humedad relativa (%)	Luminosidad ($\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$)	Concentración de ozono (ppb)	Dosis efectiva (ppb)
1	22.44 \pm 0.53	48.11 \pm 16.77	10.53 \pm 0.05	110.11 \pm 8.51	77.10
2	21.22 \pm 0.44	38.56 \pm 14.31	10.55 \pm 0.09	107.78 \pm 4.66	77.11
3	25.33 \pm 0.50	48.89 \pm 20.84	10.53 \pm 0.09	112.67 \pm 8.14	82.00
4	23.44 \pm 0.53	44.22 \pm 20.11	10.57 \pm 0.06	111.22 \pm 6.55	76.00
5	24.00 \pm 0.00	48.00 \pm 22.37	10.57 \pm 0.06	109.00 \pm 6.86	75.44
6	25.33 \pm 0.50	48.89 \pm 20.84	10.53 \pm 0.05	113.42 \pm 8.14	82.75
Promedio	23.67 \pm 0.42	46.11 \pm 19.20	10.55 \pm 0.12	110.57 \pm 7.14	78.40 \pm 3.15

Los factores que regulan la apertura y el cierre estomático de las plantas son diversos. De acuerdo con Esquivia (1992), la luz es el estímulo más importante en la apertura de los estomas ya que la incidencia de esta favorece la actividad fotosintética y los estomas se abren para la captura de CO₂. Morales et al., (2006), señalan que la temperatura ambiental influye en la apertura y el cierre estomático ya que los estomas tienden a abrir cuando la temperatura aumenta en un rango de 0 a 30 °C, si aumenta a más 30 °C los estomas tienden a cerrarse. Con base en lo anterior, debido al aumento significativo en la temperatura y la luminosidad de la cámara tratamiento se esperaría un aumento en la conductancia estomática del grupo tratamiento, permitiendo la absorción del contaminante a través de los estomas hacia el interior de las acículas de *Pinus greggii*.

Los sensores Arduino permitieron registrar un aumento significativo en la concentración de ozono de la cámara tratamiento. Por lo que la dosis efectiva de exposición a ozono se registró en un valor medio de 78.40 ppb de O₃, con un valor mínimo de 77.10 ppb O₃ y un valor máximo de 82.75 ppb O₃. Dicha concentración media (78.40 ppb de O₃), se encuentra por debajo del valor máximo permisible para el promedio de una hora (95.00 ppb) publicado por la Norma Oficial Mexicana (NOM-020-SSA1-2014).

La concentración de ozono registrada en el presente experimento se encuentra por debajo del valor promedio horario reportado por Ruiz (2015) para el Parque Nacional Izta-Popo que corresponde a 122 ppb O₃ para el mes de julio del 2015, por Reyes (2019) para el Parque Nacional Desierto de los Leones que corresponde a 87 ppb O₃ para el mes de marzo del 2018 y por la Secretaría del Medio Ambiente de la Ciudad de México (s/a) que corresponde a 92.23 ppb O₃ para el mes de Marzo del 2020.

Con base en lo anterior, las cámaras experimentales permitieron simular condiciones de exposición a ozono similares a las reportadas para la ciudad de México, por lo cual, es lógico suponer que a las concentraciones de ozono que la ciudad presenta, las plantas de *Pinus greggii* mostrarán alteraciones morfológicas y fisiológicas en sus acículas. En apartados posteriores se contrastarán las alteraciones originadas por el ozono registradas en la presente investigación con las alteraciones reportadas en diversas investigaciones.

Software Hoboware.

Durante la experimentación, las plantas de *P. greggii* se trasladaron diariamente hacia el exterior del Laboratorio de Contaminación Atmosférica con la finalidad de recibir la temperatura, la humedad relativa y la luminosidad necesaria para su desarrollo. Por las tardes, se trasladaron hacia el interior del laboratorio para su resguardo. Durante el desarrollo del experimento, se registraron mediciones de dichas variables ambientales con el software Hoboware.

Una vez que las plantas eran transportadas hacia el exterior del laboratorio, se registró un aumento de la temperatura posterior a las 9:00 h en los días de no exposición a O₃ y posterior a las 11:00 h en los días de exposición a O₃, ambos días con un pico máximo a las 13:00 h y una disminución hasta su estabilización después de las 15:00 h. Durante estos lapsos de tiempo, se registró una temperatura media de 32.83 ± 1.09 °C, una mínima de 21.00 ± 8.13 °C y una máxima de 44.17 ± 7.51 °C. Al resguardar las plantas al interior del laboratorio y posterior a las 17:00 h, se registró una temperatura media de 23.57 ± 1.25 °C que se mantuvo hasta el siguiente día (**figura 13**).

Los datos registrados de temperatura se encontraron dentro del rango óptimo de desarrollo reportado para diversas especies de pino xerófitas como *Pinus halepensis* (Barrantes, 2000; Puértolas, et al., 2008) y *P. cembroides* (López, et al., 2013). Entre los cuales, *P. greggii* puede desarrollarse en condiciones de temperatura que van desde valores mínimos de 15 °C a máximos de 45 °C (CONAFOR, 2010; Muñoz, et al., 2012).

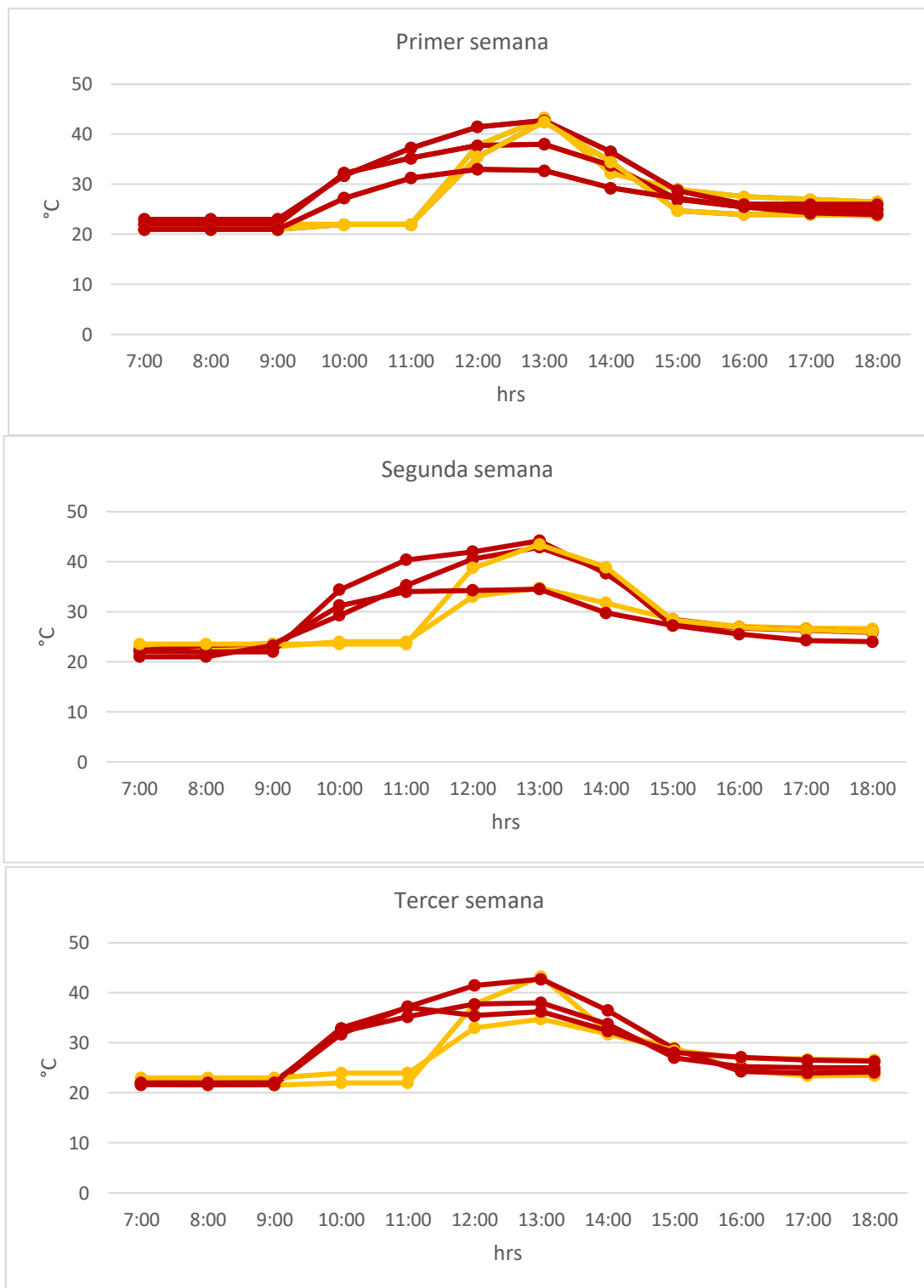


Figura 13. Perfiles diarios de temperatura registrados durante la experimentación. Se muestra el promedio por hora, con $n = 4$. Las líneas de tendencia en coloración roja (●) representa a los días de no exposición a ozono y las líneas de tendencia en coloración amarilla (●) representa a los días de exposición a ozono.

En el caso de la humedad relativa (**figura 14**) se observaron cambios posterior a las 8:00 h en los días de no exposición a O₃ y posterior a las 11:00 h en los días de exposición a O₃. Generalmente se observaron disminuciones posteriores a las 8:00 h, con una disminución máxima hasta las 12:00 h, estabilizándose posterior a las 16:00 h. Excepto algunos días de la segunda y tercer semana donde se registró un aumento posterior a las 8:00 h, con un pico máximo a las 11:00 h y su disminución inició posterior a las 13:00 h. Durante los periodos de cambio de humedad relativa, se registró una humedad relativa media del 18.66 ± 2.41 %, mínima del 7.36 ± 6.92 % y máxima del 46.51 ± 10.44 %. La humedad relativa se mantuvo estable posterior a las 17:00 h, registrando un valor medio de 35.93 ± 5.64 %.

Los datos registrados de humedad relativa se encontraron dentro del rango óptimo de desarrollo reportado para diversas especies de pino xerófitas como *Pinus halepensis* (Barrantes, 2000) y *P. cembroides* (López, et al., 2013). Entre los cuales, *P. greggii* puede desarrollarse en condiciones de humedad relativa que van desde valores mínimos del 20 % (Bautista, et al., 2018) a máximos del 68 % (Castro, et al., 2018).

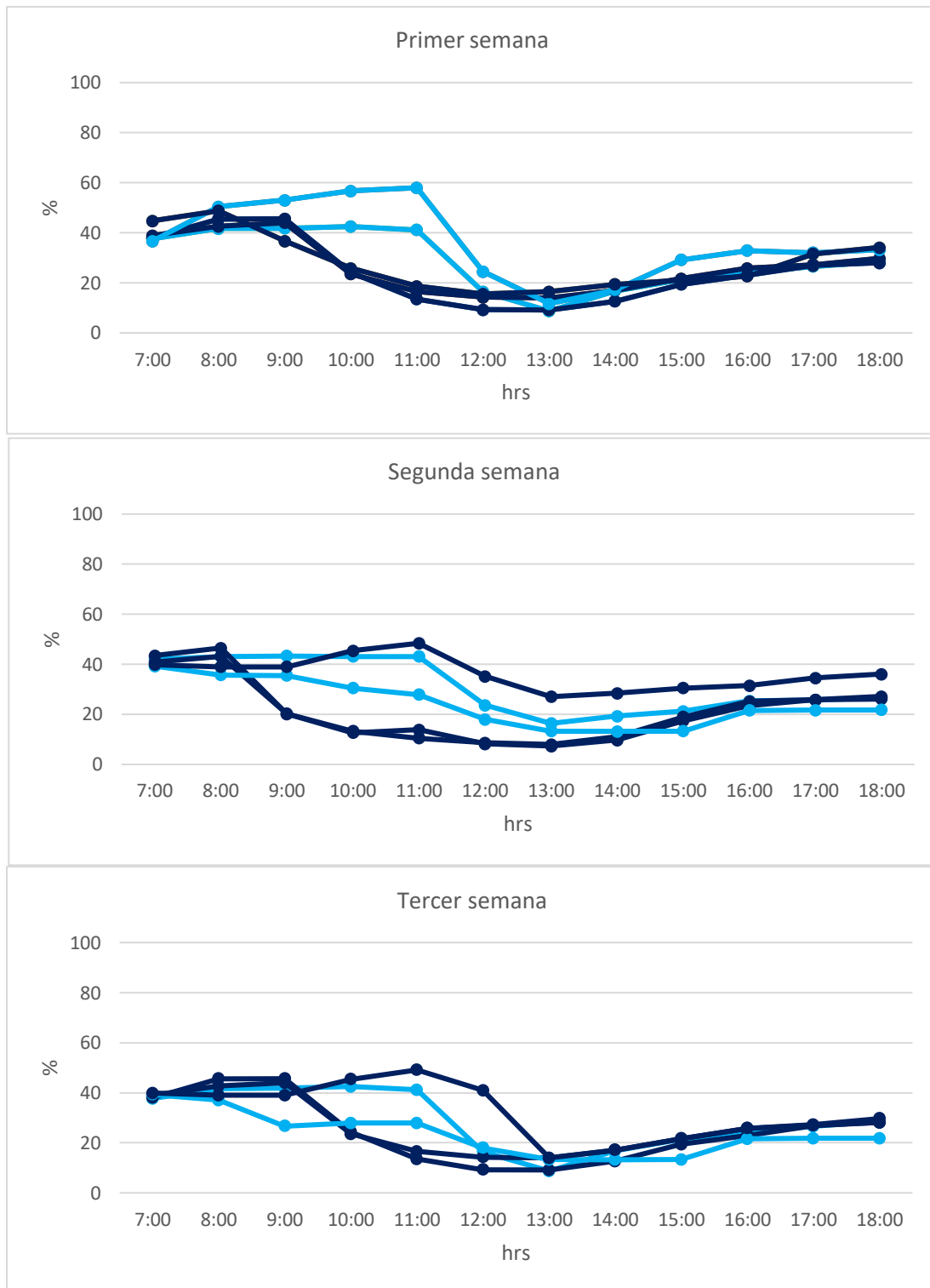


Figura 14. Perfiles diarios de humedad relativa registrados durante la experimentación. Se muestra el promedio por hora, con $n = 4$. Las líneas de tendencia en coloración azul marino (●) representa a los días de no exposición a ozono y las líneas de tendencia en coloración azul claro (●) representa a los días de exposición a ozono.

En cuanto a la luminosidad (**figura 15**), se registró un aumento posterior a las 9:00 h en los días de no exposición a O₃ y posterior a las 11:00 h en los días de exposición a O₃, alcanzando un pico máximo posterior a las 11:00 h y una disminución a partir de las 14:00 h. Durante este periodos de tiempo, se registró una luminosidad media de $218.24 \pm 128.90 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$, mínima de $5.92 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ y máxima de $597.18 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$. La luminosidad se mantuvo estable posterior a las 17:00 h, registrando un valor medio de $0.92 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$.

Los datos registrados de luminosidad se encontraron dentro del rango óptimo de desarrollo reportado para diversas especies de pino xerófitas como *Pinus halepensis* (Barrantes, 2000; Puértolas, et al., 2008). Entre los cuales, *P. greggii* puede desarrollarse en condiciones de luminosidad que van desde valores mínimos de $272 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ a máximos de $1400 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ (Bautista, et al., 2018).

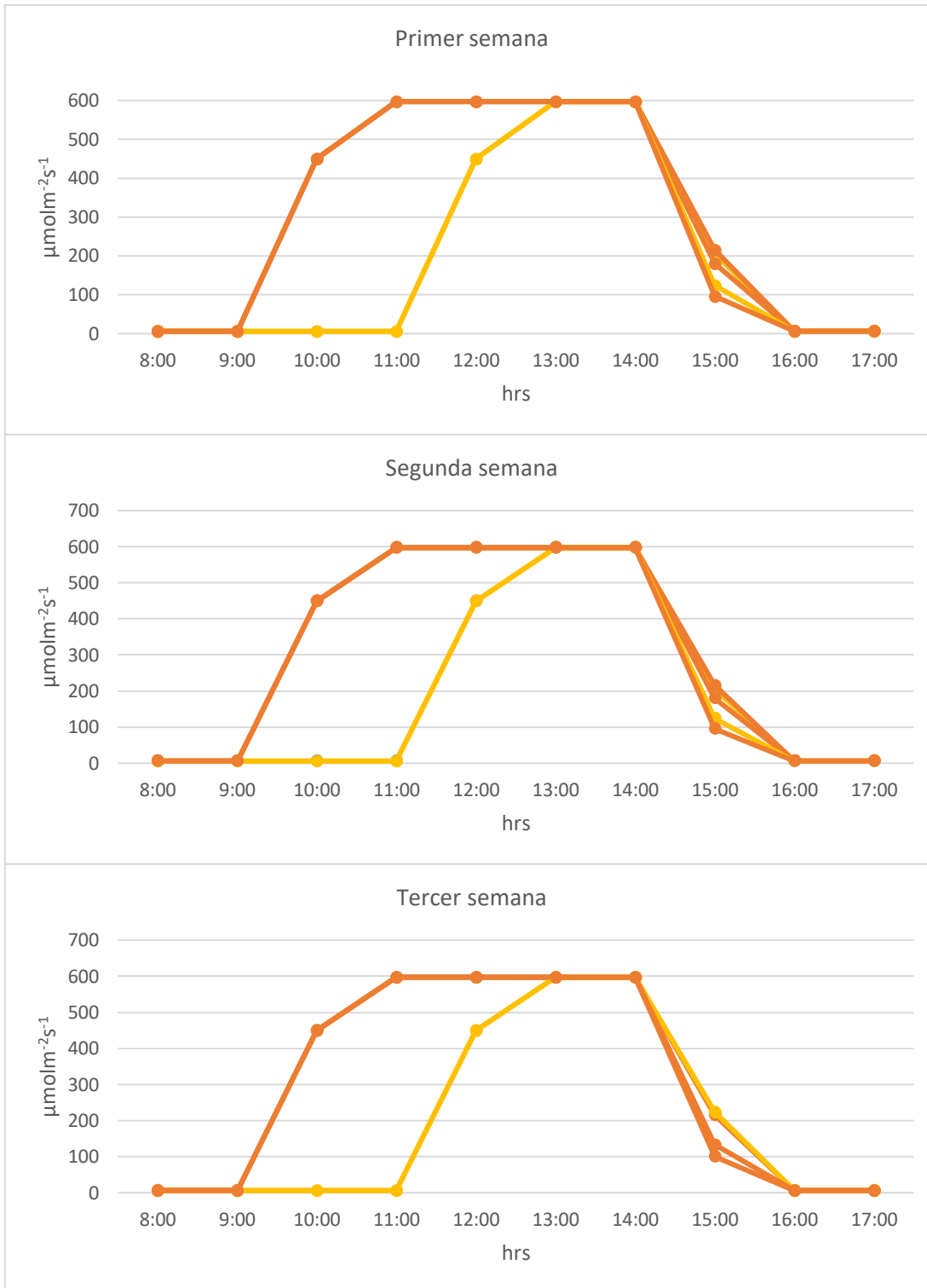


Figura 15. Perfiles diarios de luminosidad registrados durante la experimentación. Se muestra el promedio por hora, con $n = 4$. Las líneas de tendencia en coloración naranja (●) representa a los días de no exposición a ozono y las líneas de tendencia en coloración amarilla (●) representa a los días de exposición a ozono.

Con base en lo anterior, las condiciones ambientales de temperatura, humedad relativa y luminosidad, no influyeron en el desarrollo de los síntomas morfológicos y fisiológicos ocasionados por la exposición a ozono en las acículas de *P. greggii* que a continuación se explican.

Registro de daño morfológico.

Durante la experimentación y el monitoreo, las plantas de *P. greggii* del control no registraron daños nuevos externos a los que se presentaron desde su donación y no fueron posible de corregir durante su aclimatación (**figura 16**), tales daños se caracterizaron por la presencia de clorosis en la zona media de la acícula. Por otra parte, las plantas de *P. greggii* del tratamiento registraron cuatro síntomas foliares típicos de exposición a ozono (**figura 17**), la aparición seriada de cada síntoma morfológico se muestra en la **tabla 3**.

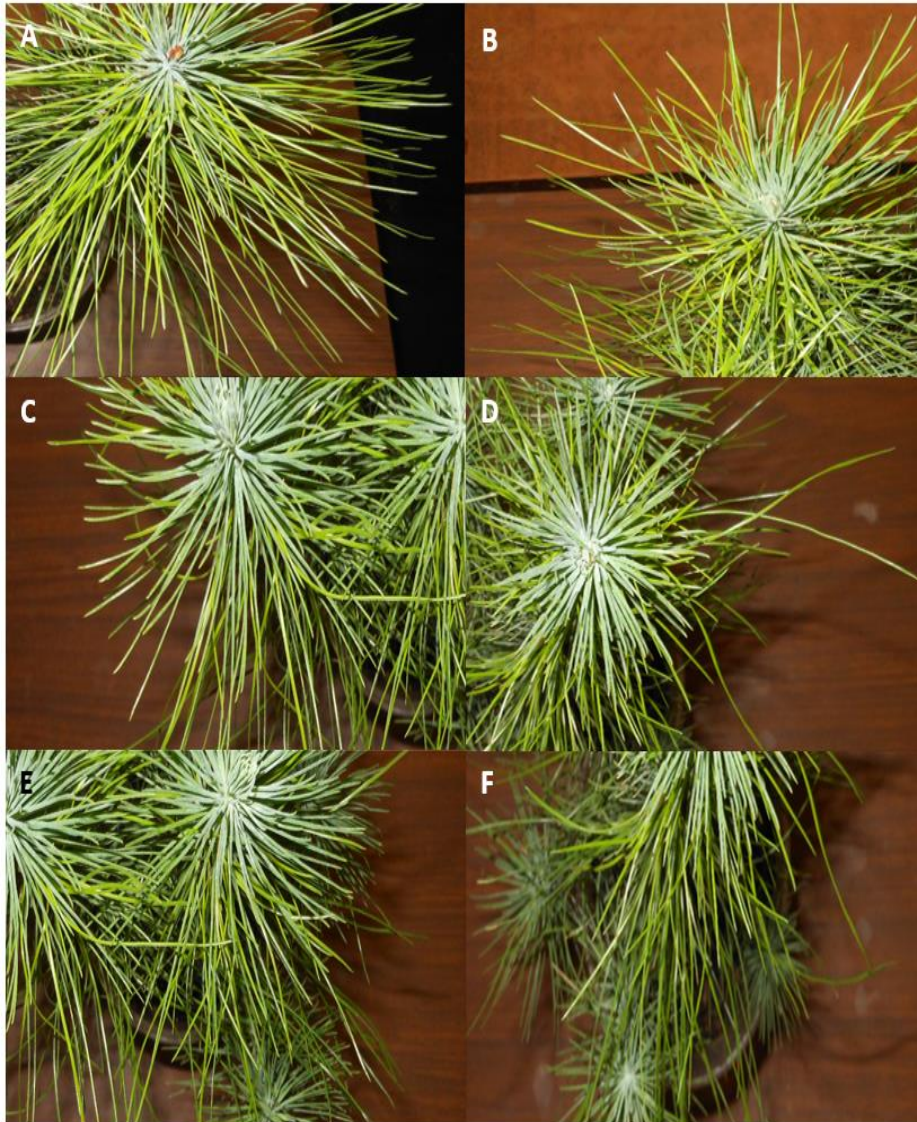


Figura 16. Vista superior de las plantas de *Pinus greggii* del control al término del experimento (A-F).



Figura 17. Representación de los síntomas foliares visibles registrados en las acículas de *Pinus greggii* del tratamiento con ozono. A representa al control. B, C y D representan al tratamiento con ozono. Flechas indican moteado clorótico (B y C), recuadro indica necrosis apical (D) y círculo señala bandeo en coloración negro (D).

Tabla 3. Monitoreo de daños morfológicos en acículas de *Pinus greggii* por periodo de exposición a ozono.

Día de exposición	Dosis efectiva (ppb)	Daño morfológico	Área afectada
1	77.11 ± 8.51	Sin daño visible	
2	77.11 ± 4.66	Moteado clorótico	Zona media de acículas jóvenes
3	82.00 ± 8.14	Moteado clorótico	Ápice de acículas jóvenes
4	76.00 ± 6.55	Necrosis	Ápice de acículas maduras
		Bandeado negro	Ápice de acículas jóvenes
5	75.44 ± 6.86	Necrosis	Ápice de acículas maduras
6	82.75 ± 8.14	Necrosis	Ápice de acículas maduras y jóvenes

Todos los daños visibles aparecieron en las acículas de un año (mayores a 5.00 cm de longitud). El moteado clorótico (**figura 17 B**) fue el primer síntoma visible y se registró posterior al primer periodo de exposición. Desde su primera aparición continuó manifestándose hasta el término del experimento en la superficie adaxial, en la zona media y el ápice de la acícula (**figura 17 C**). Los síntomas posteriores al tercer periodo de exposición fueron la pigmentación marrón (necrosis) y en muy pocas acículas el bandeo en coloración negra (**figura 17 D**). La pigmentación marrón se caracterizó por ser un síntoma que reemplazó las zonas de moteado clorótico, cambiando su coloración típica de amarillo claro a marrón oscuro. Por otra parte, el bandeo en coloración negra se presentó en las zonas apicales de las acículas, acompañado de pigmentación amarilla a marrón adyacente al bandeo.

Las afectaciones reportadas en esta experimentación han sido previamente señaladas por diversos autores para diferentes especies de pino. Por ejemplo, se ha reportado sensibilidad por la presencia de moteado clorótico en *P. cembra* (Dalsteins & Vas, 2004; Sicard et al., 2016), *P. halepensis* (Barrantes, 2000; Dalsteins & Vas, 2004; Sicard et

al., 2016), *P. musgo* (Bičárová et al., 2019), *P. sylvestris* (Sicard et al., 2016; Ciriani & Dalstein, 2018) y *P. uncinata* (Díaz-De-Quijano et al., 2012; Diaz-de-Quijano et al., 2016).

Con base en lo anterior, las observaciones registradas permiten confirmar que *P. greggii* presenta sensibilidad ante la exposición a ozono, lo cual, la convierte en una especie con potencial para el monitoreo de efectos fitotóxicos por exposición a dicho contaminante.

En México, las afectaciones encontradas en esta experimentación han sido previamente reportadas desde los años 70's. Krupa & de Bauer (1976), reportaron moteado clorótico debido al daño por ozono en diversas especies del género *Pinus spp.* Mientras que el estudio publicado por Miller et al. (2002), identificó a nueve de once especies como altamente sensibles a ozono, debido a la presencia de moteado clorótico; dichas especies fueron *P. hartwegii*, *P. radiata*, *P. montezumae*, *P. montezumae var. lindleyi*, *P. leiophylla*, *P. patula*, *P. teocote*, *P. rudis* y *P. pseudostrobus*. Mientras que *P. cembroides* y *P. ayacahuite* fueron catalogadas como resistentes a ozono debido a la ausencia de síntomas foliares típicos. Por otro lado, el estudio realizado por Ruiz (2015), en el Estado de México, identificó síntomas foliares típicos de exposición a ozono en acículas recolectadas de diversas especies de *Pinus spp.* Reportando al 46 % de las muestras como sensibles debido a la presencia de moteado clorótico en más del 75 % de la acícula, pero el 12 % de las muestras presentó ausencia de síntomas foliares típicos por exposición a ozono.

La presencia de síntomas foliares típicos ha sido atribuida a una alteración en la estructura anatómica foliar. Roshchina & Roshchina (2003), señalaron que el colapso celular atribuido por la exposición a ozono, se debe a que el contaminante y sus productos (ERO

como peróxido de hidrógeno y radicales hidroxilo) reaccionan con los ácidos grasos y las proteínas de la membrana plasmática, activando parte del sistema antioxidante que limita la lipoperoxidación de la membrana plasmática ocasionada por el ozono. Sin embargo, cuando la difusión del gas y de sus productos supera la capacidad antioxidante de la célula, las ERO pueden reaccionar con los componentes de la membrana plasmática y otros organelos. Alterando su funcionalidad, lo que conlleva a alteraciones metabólicas y a una muerte celular programada (Gao et al., 2016). Es así, como la degradación del mesófilo foliar permite visualizar el daño por exposición a ozono sobre la superficie de la hoja (Kivimäenpää et al., 2010).

Registro de daño fisiológico.

Conductancia estomática de *Pinus greggii*.

Durante la experimentación con ozono, las plantas de *P. greggii* del control presentaron una tasa de conductancia estomática media de $159.83 \text{ mmolm}^{-2}\text{s}^{-1}$, mínima de $144.17 \text{ mmolm}^{-2}\text{s}^{-1}$ y máxima de $177.89 \text{ mmolm}^{-2}\text{s}^{-1}$. Mientras que las plantas de *P. greggii* del tratamiento presentaron una tasa de conductancia estomática media de $93.00 \text{ mmolm}^{-2}\text{s}^{-1}$, mínima de $56.06 \text{ mmolm}^{-2}\text{s}^{-1}$ y máxima de $161.67 \text{ mmolm}^{-2}\text{s}^{-1}$. Se registró una disminución del 28 % en la conductancia estomática del tratamiento respecto al control y posterior al primer periodo de exposición. Dicha disminución continuó hasta el término del experimento, con valores del 38 % en la primera semana, del 48 % durante la segunda semana y del 64 % en la última semana de experimentación.

Mediante un análisis de ANOVA de medidas repetidas, se puede concluir que la conductancia estomática del control no presentó diferencias significativas ($p < 0.05$, $p =$

0.425) a través del tiempo de experimentación, sin embargo, la conductancia estomática del tratamiento presentó diferencias significativas ($p < 0.05$, $p = 2 * 10^{-16}$) a través del tiempo de experimentación. Por otra parte, mediante un análisis de t-Student para muestras independientes, se puede concluir que se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$, $p = 0.001$) en la conductancia estomática del tratamiento respecto al control, posterior al primer periodo de exposición a ozono. La **figura 18** muestra los valores medios de conductancia estomática registrados y analizados para las plantas de *P. greggii* del control y del tratamiento a lo largo de la experimentación con ozono.

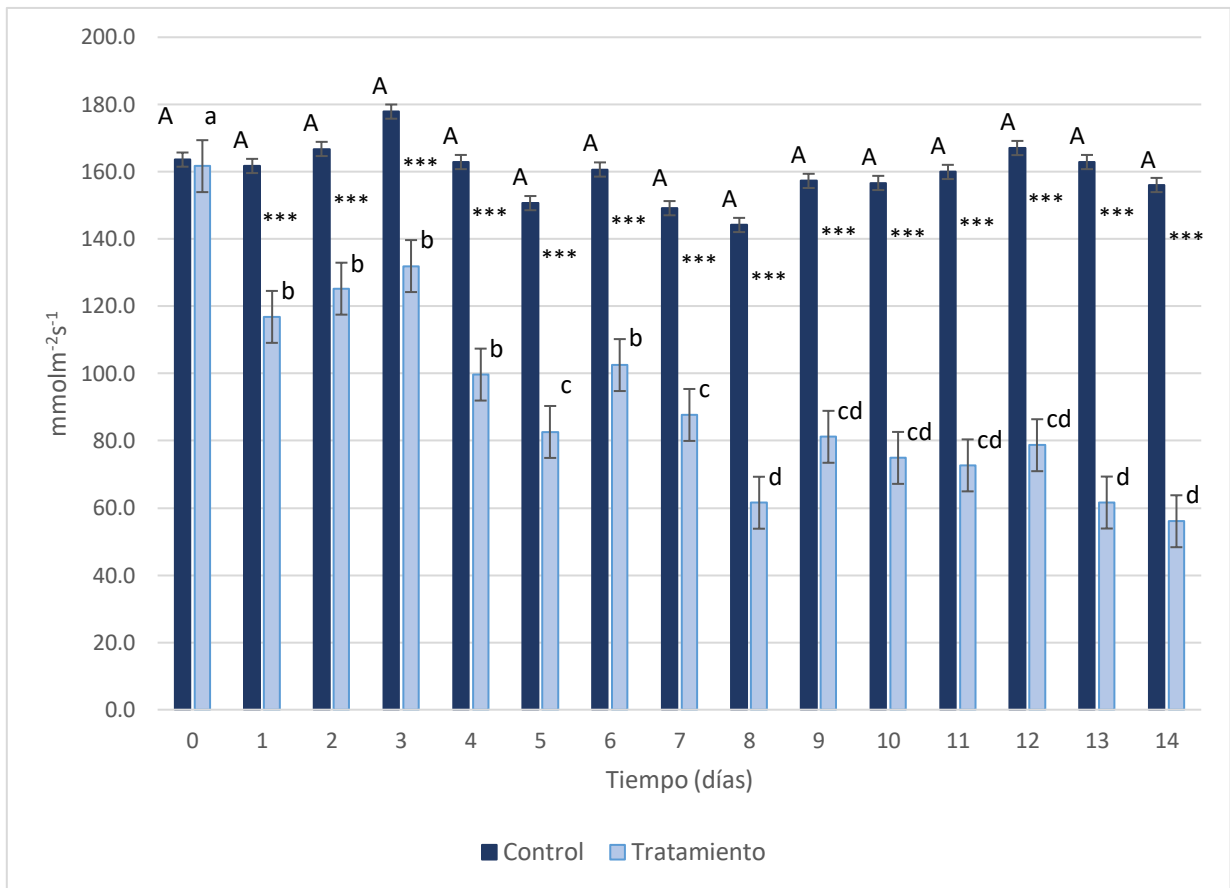


Figura 18. Registro diario de conductancia estomática de *Pinus greggii* durante la experimentación con ozono. Se muestra el promedio de tres réplicas \pm e.e., con $n = 8$ y IC = 95 %. Los asteriscos representan diferencias significativas entre el control y el tratamiento (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ y *** $p < 0.001$) derivadas de una prueba de t-student para muestras independientes. Letras diferentes representan diferencias significativas a través del tiempo de experimentaciones para el control (A) y el tratamiento (a, b, c y d), derivadas de una prueba de ANOVA de medidas repetidas.

La tasa de conductancia estomática de *P. greggii* registrada en el control de la presente investigación se encuentra dentro del intervalo de las referencias proporcionadas por otros autores para especies de pino esclerófilas como *P. halepensis* con un valor medio de $150 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (Inclán et al., 2005) y de $170 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (Saquete & Lledó, 2005), *P. cembroides* con un valor medio de $180 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (Rodríguez, 2011), *P. patula* con un valor medio de $150 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ y para *P. greggii* en particular con un valor medio de $164 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (Ortiz, 2006).

Por otra parte, la exposición a ozono en especies de pino ha sido ampliamente documentada, demostrado tener efectos diversos en la conductancia estomática. En exposiciones mayores a dos meses y en concentraciones menores a 100 ppb de O₃ se han registrado aumentos en la conductancia estomática de *P. halepensis* (Inclán et al., 2005), *P. densiflora* (Oguntimehin & Sakugawa, 2009) y *P. canariensis* (Then et al., 2009). Mientras que en exposiciones menores a tres meses y en concentraciones menores a 150 ppb de O₃ se han registrado disminuciones en la conductancia estomática del 40 % en *P. halepensis* (Elvira et al., 2007), del 16 % en *P. tabuliformis* (Liu et al., 2015), del 73 % en *P. mugo* (Bičárová et al., 2019) y del 66 % en *P. sylvestris* (Pliūra et al., 2019).

La posible disminución en la conductancia estomática por exposición a ozono se evidencio por McAdam et al. (2017), su estudio permitió establecer la relación entre el cierre estomático de las especies vegetales y la exposición a ozono, atribuido a que las ERO (peróxido, hidróxido y radicales libres) producidas durante la exposición a dicho contaminante aumentan la síntesis de la fitohormona ácido abscísico. Esto coincide con Heath (2008), quien señaló que la exposición a ozono aumentó la concentración interna de iones de calcio (Ca²⁺) en las células oclusivas de los estomas. De acuerdo con Azcón-Bieto & Talón (2013), un incremento en la concentración de Ca²⁺ libre en el citoplasma de las células oclusivas da como respuesta la síntesis de la fitohormona ácido abscísico, que induce la apertura de canales de salida de iones potasio (K⁺). Lo anterior, determina la pérdida de turgencia de las células oclusivas y, en consecuencia, una disminución de la conductancia estomática (Vaultier & Jolivet, 2015).

Clorofila total de *Pinus greggii*.

Durante la experimentación con ozono, las plantas de *P. greggii* del control presentaron un rango de clorofila total medio de 234.19 μmolm^{-2} , mínimo de 190.95 μmolm^{-2} y máximo de 280.47 μmolm^{-2} . Mientras que las plantas de *P. greggii* del tratamiento presentaron un rango de clorofila total medio de 179.47 μmolm^{-2} , mínimo de 150.31 μmolm^{-2} y máximo de 219.78 μmolm^{-2} . Se registró una disminución del 21 % en la clorofila total del tratamiento respecto al control y posterior al primer periodo de exposición. Dicha disminución continuó hasta el término del experimento, con valores del 24 % en la primera semana, del 26 % durante la segunda semana y del 32 % en la última semana de experimentación.

Mediante un análisis de ANOVA de medidas repetidas, se puede concluir que el contenido de clorofila total del control presentó diferencias significativas ($p < 0.05$, $p = 0.005$) a través del tiempo de experimentación. De manera similar, el contenido de clorofila total del tratamiento presentó diferencias significativas ($p < 0.05$, $p = 0.0008$) durante el tiempo de experimentación. Por otra parte, mediante un análisis de t-Student para muestras independientes, se puede concluir que se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$, $p = 0.009$) en el contenido de clorofila total del tratamiento respecto al control y posterior al segundo periodo de exposición a ozono. La **figura 19** muestra los valores medios de clorofila total registrados y analizados para plantas de *P. greggii* del control y del tratamiento a lo largo de la experimentación con ozono.

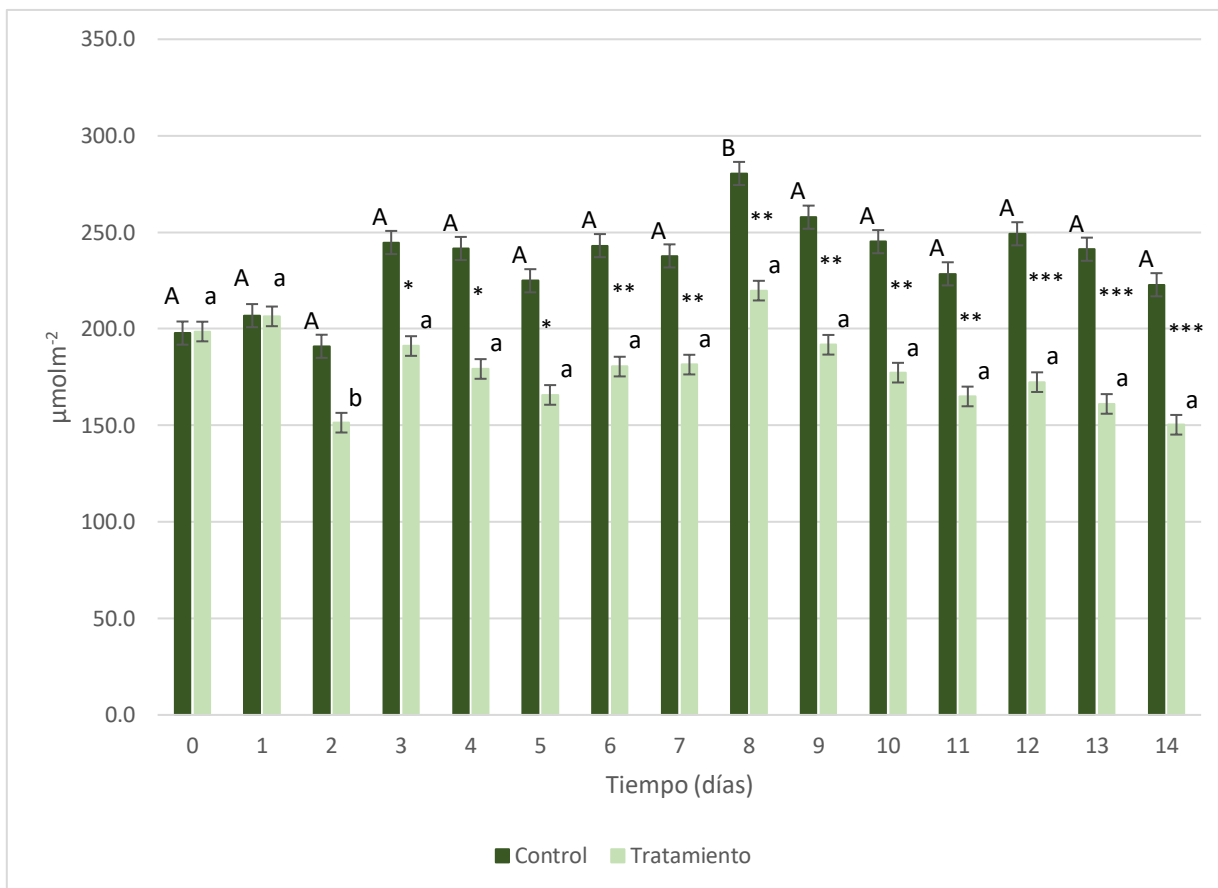


Figura 19. Registro diario del contenido de clorofila total de *Pinus greggii* durante la experimentación con ozono. Se muestra el promedio de tres réplicas \pm e.e., con $n = 8$ y IC = 95 %. Los asteriscos representan diferencias significativas entre el control y el tratamiento (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ y *** $p < 0.001$) derivadas de una prueba de t-student para muestras independientes. Letras diferentes representan diferencias significativas a través del tiempo de experimentaciones para el control (A y B) y el tratamiento (a y b), derivadas de una prueba de ANOVA de medidas repetidas.

El rango de clorofila total de *P. greggii* registrada en la presente investigación se encuentra dentro del intervalo de las referencias proporcionadas por otros autores para especies de pino como *P. halepensis* con un valor medio de $244 \mu\text{molm}^{-2}$ (Barrantes, 2000) y $277 \mu\text{molm}^{-2}$ (Baquedano & Castillo, 2006) y para *P. densiflora* con un valor medio de $299 \mu\text{molm}^{-2}$ (Oguntimehin et al., 2008).

Por otra parte, la disminución en el contenido de clorofila total del tratamiento registrado en la presente experimentación ha sido similar a lo reportado por otros autores

para *P. halepensis* expuesta a 40 ppb de O₃ durante 2 años con una disminución del 20 % (Alonso et al., 2001) y a 50 ppb de O₃ durante dos meses con una disminución del 17 % (Barrantes, 2000). Esto puede deberse a la alta sensibilidad de la clorofila *a* al contaminante, ya que la exposición a ozono puede inhibir la síntesis de dicho pigmento (Roshchina & Roshchina, 2003). Por otra parte, Gao et al. (2016), señalaron que la difusión del ozono y de sus productos (peróxido, hidróxido y radicales libres) a través de la célula, puede reaccionar en la grana y los tilacoides del cloroplasto. Afectando la clorofila, al disminuir su contenido, lo que promueve el moteado clorótico y la necrosis foliar. Esto concuerda Marzuoli et al. (2019), quienes señalaron que la absorción de ozono y el posterior incremento en la producción de especies reactivas de oxígeno como el radical superóxido en el cloroplasto, destruye la molécula de la clorofila *a*.

Finalmente, el presente trabajo muestra la evidencia científica para determinar los daños morfológicos en la superficie foliar y, alteraciones fisiológicas en la conductancia estomática y la concentración de clorofila total en *P. greggii*, por la exposición a ozono mediante el uso de cámaras experimentales acopladas a sensores Arduino.

Con la presente investigación se propone una alternativa de estudio del daño por ozono aplicado a ecosistemas forestales y/o parques urbanos, donde difícilmente se puede realizar una medición continua de las variables pero sobre todo evitar la sinergia de otros contaminantes.

Por otra parte, determinar el umbral de tolerancia de las especies hacia los contaminantes atmosféricos como el ozono permite apoyar la gestión ambiental en materia

de contaminación atmosférica, la cual, es de suma importancia para la planeación y el biomonitoreo de parques urbanos, así como la protección y preservación de los ecosistemas forestales.

CONCLUSIONES.

- Las condiciones generadas en las cámaras de exposición de la presente investigación son representativas a las condiciones de exposición a ozono en la CDMX.
- Las condiciones microambientales permitieron el ingreso del ozono a las plantas.
- *Pinus greggii* presenta síntomas foliares típicos de exposición a ozono, tales como moteado clorótico y necrosis foliar después de una exposición a 78.40 ppb de ozono.
- Luego de una exposición de seis días, el ozono genera una disminución de la conductancia estomática hasta un 64 % en *Pinus greggii*.
- Al término de una exposición de seis días con ozono, el contenido de clorofila total disminuye hasta un 32 % en *Pinus greggii*.
- Se muestran las evidencias para concluir que *Pinus greggii* Englem. es sensible a una exposición de 78.40 ppb de ozono durante seis días.

PERSPECTIVAS.

Pinus greggii es una especie sensible ante la exposición a ozono debido a la presencia de daño foliar, disminución de la tasa de transpiración y del contenido de clorofila total. Por lo que, para conocer con mayor exactitud el mecanismo de acción del contaminante en la especie se recomienda lo siguiente:

- Realizar un monitoreo del sistema antioxidante para conocer la capacidad de detoxificación de la planta, principalmente de antioxidantes como superóxido dismutasa, ácido ascórbico y glutatión.
- Aplicar un procesamiento histológico de acículas jóvenes y adultas para determinar el nivel de daño en el tejido foliar.
- Implementar un análisis del contenido de pigmentos fotosintéticos como clorofila *a*, clorofila *b* y carotenoides determinando las respuestas de la planta ante su exposición a ozono.
- Hacer un seguimiento fitohormonal para conocer alteraciones fisiológicas más puntuales en las acículas, principalmente de hormonas como etileno y ácido abscísico.
- Implementar otras especies de estudio para ampliar el conocimiento de los efectos del contaminante en especies de pino xerófitas plantadas en México.
- Realizar estudios similares en ecosistemas forestales para lograr un mayor conocimiento científico en el área ambiental respecto a la contaminación ambiental, además de la recuperación y preservación de los bosques Mexicanos.

REFERENCIAS.

Referencias bibliográficas.

Al Ahasan, M. A., Roy, S., Saim, A. H. M., Akter, R., & Hossain, M. Z. (2018). Arduino-Based Real Time Air Quality and Pollution Monitoring System. *International Journal of Innovative Research in Computer Science & Technology*, 6(4), 81–86. <https://doi.org/10.21276/ijrcst.2018.6.4.8>

Alonso, R., Elvira, S., Castillo, F. J., & Gimeno, B. S. (2001). Interactive effects of ozone and drought stress on pigments and activities of antioxidative enzymes in *Pinus halepensis*. *Plant, Cell and Environment*, 24(9), 905–916. <https://doi.org/10.1046/j.0016-8025.2001.00738.x>

Alvarado, D. J. (2015). *Desarrollar un método para determinar las excedencias de niveles críticos de ozono para estimar daño a cultivos*. (tesis de pregrado) Universidad Nacional Autónoma de México.

Anderson, P., Palmer, B., Houppis, J., Smith, M. & Pushnik, J. (2003). Chloroplastic responses of ponderosa pine (*Pinus ponderosa*) seedlings to ozone exposure. *Environment International*, 29, 407-413.

Anttonen, S., Sutinen, M. L., & Heagle, A. S. (1996). Ultrastructure and some plasma membrane characteristics of ozone-exposed loblolly pine needles. *Physiologia Plantarum*, 93, 309–319.

Arenas, L. N. (2015). *Diseño de cámara estática cerrada y medición de flujos de gases de efecto invernadero (GEI) en suelos*. Universidad Nacional de Colombia.

Ascención, J. C. (2018). *Contenido de clorofila y carotenoides en relación a las horas luz en Cedrela odorata linneo*. Universidad Nacional del Centro del Perú.

Azcón-Bieto, J., & Talón, M. (2013). Fundamentos de fisiología vegetal. In *McGrawHill* (2a Edición). <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>

Baquedano, F. J., & Castillo, F. J. (2006). Comparative ecophysiological effects of drought on seedlings of the Mediterranean water-saver *Pinus halepensis* and water-spenders *Quercus coccifera* and *Quercus ilex*. *Trees - Structure and Function*, 20(6), 689–700. <https://doi.org/10.1007/s00468-006-0084-0>

Barrantes, O. (2000). *Efectos del dióxido de azufre y del ozono en Pinus halepensis Mill. en cámaras abiertas (Open-top Chambers)*. (tesis de doctorado) Universitat Autònoma de Barcelona.

Bautista, G. I., Prieto, J. A., Hernández, J. C., Basave, E., Goche, J. R. & Montiel, E. (2018). Growth of *Pinus greggii* Engelm. under different routines of fertilization at the nursery. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 9 (49). <https://doi.org/10.29298/rmcf.v9i49.171>

Bičárová, S., Sitková, Z., Pavlendová, H., Fleischer, P., Bytnerowicz, A., & Fleischer, P. (2019). The role of environmental factors in ozone uptake of *Pinus mugo* Turra. *Atmospheric Pollution Research*, 10(1), 283–293. <https://doi.org/10.1016/j.apr.2018.08.003>

Calfapietra, C., Morani, A., Sgrigna, G., Di Giovanni, S., Muzzini, V., Pallozzi, E., Guidolotti, G., Nowak, D., & Fares, S. (2016). Removal of Ozone by Urban and Peri-Urban Forests: Evidence from Laboratory, Field, and Modeling Approaches. *Journal of Environmental Quality*, 45(1), 224–233. <https://doi.org/10.2134/jeq2015.01.0061>

Castro, S. L., Aldrete, A., López, J. & Ordáz, V. M. (2018). Effect of container, substrate and fertilization on *Pinus greggii* var. *australis* growth in the nursery. *Agrociencia*, 52: 115-127.

Ciriani, M. L., & Dalstein, L. (2018). Forest Health Monitoring Highlights Progress in Forest Deterioration in France. *Water, Air, and Soil Pollution*, 229(10). <https://doi.org/10.1007/s11270-018-3922-y>

CONAFOR. (2012). *Pinus greggii* Englem. *Comisión Nacional Forestal (CONAFOR)*. [http://www.conafor.gob.mx:8080/documentos/docs/13/961Pinus greggii.pdf](http://www.conafor.gob.mx:8080/documentos/docs/13/961Pinus%20greggii.pdf)

Dalsteins, L., & Vas, N. (2004). *Ozone concentrations and ozone-induced symptoms on Coastal and Alpine Mediterranean Pines*. 181–195.

de Bauer, L. I. (1972). Uso de plantas indicadoras de aeropolutos en la Ciudad de México. *Agrociencia*, 9, 139–141.

de Bauer, M. de L., & Hernández-Tejeda, T. (2007). A review of ozone-induced effects on the forests of central Mexico. *Environmental Pollution*, 147(3), 446–453. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2006.12.020>

Di Justo, P., & Gertz, E. (2013). Atmospheric Monitoring with Arduino. In *Journal of Chemical Information and Modeling* (First Edit, Vol. 53, Issue 9).

Diario Oficial de la Federación (DOF). 2014. *Norma Oficial Mexicana. "Salud ambiental. Valor permisible para la concentración de ozono (O₃) en el aire ambiente y criterios para su evaluación*. NOM-020-SSA1-2014. Secretaria de Salud- Diario Oficial de la Federación. México. <http://www.dof.gob.mx/normasOficiales/5451/SALUD/SALUD.html>

Díaz-de-Quijano, M., Kefauver, S., Ogaya, R., Vollenweider, P., Ribas, À., & Peñuelas, J. (2016). Visible ozone-like injury, defoliation, and mortality in two *Pinus uncinata* stands in the Catalan Pyrenees (NE Spain). *European Journal of Forest Research*, 135(4), 687–696. <https://doi.org/10.1007/s10342-016-0964-9>

Díaz-De-Quijano, M., Schaub, M., Bassin, S., Volk, M., & Peñuelas, J. (2012). Ozone visible symptoms and reduced root biomass in the subalpine species *Pinus uncinata* after two years of free-air ozone fumigation. *Environmental Pollution*, 169, 250–257.

<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2012.02.011>

Dige, A. S., & Tandle, S. R. (2020). A Review: Air Pollution Monitoring System Using IoT. *International Journal of Engineering Applied Sciences and Technology*, 04(10), 159–162. <https://doi.org/10.33564/ijeast.2020.v04i10.030>

DMA. (2016). ¿Qué es el ozono? *Dirección de Monitoreo Atmosférico*, X, 1. <http://www.aire.cdmx.gob.mx/descargas/noticias/que-es-ozono/que-es-ozono.pdf>

Domínguez, M. del C. (2018). *Distribución y variación genética de Pinus greggii Engelm.* (tesis de pregrado) Universidad Nacional Autónoma de México.

Elagöz, V., & Manning, W. J. (2005). Responses of sensitive and tolerant bush beans (*Phaseolus vulgaris* L.) to ozone in open-top chambers are influenced by phenotypic differences, morphological characteristics, and the chamber environment. *Environmental Pollution*, 136(3), 371–383. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2005.01.021>

Elvira, S., Alonso, R., & Gimeno, B. S. (2007). Simulation of stomatal conductance for Aleppo pine to estimate its ozone uptake. *Environmental Pollution*, 146(3), 617–623. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2006.08.008>

EPA. (2006). Air Quality Criteria for Ozone and Related Photochemical Oxidants. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 9(3), 131–133. <https://doi.org/EPA/600/R-05/004aF>

Escobedo, F., & Chacalo, A. (2008). Estimación preliminar de la descontaminación atmosférica por el arbolado urbano de la ciudad de México. *Interciencia*, 33 (1), 29–33.

Esquivia, J. (1992). *Tolerancia a la sequía en clones de Mandioca*. Instituto de Cooperación Iberoamericana.

Evans, L., & Fitzgerald, G. (1993). Histological effects of ozone on slash pine (*Pinus elliotti* var. *Desna*). *Environmental and Experimental Botany*, 33(4), 505–513.

Evans, L. S., & Miller, P. R. (1972). Ozone Damage To Ponderosa Pine: a Histological and Histochemical Appraisal. *American Journal of Botany*, 59(3), 297–304. <https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1972.tb10096.x>

Felzer, B. S., Cronin, T., Reilly, J. M., Melillo, J. M., & Wang, X. (2007). Impacts of ozone on trees and crops. *Comptes Rendus - Geoscience*, 339(11–12), 784–798. <https://doi.org/10.1016/j.crte.2007.08.008>

Feng, Z., Sun, J., Wan, W., Hu, E., & Calatayud, V. (2014). Evidence of widespread ozone-induced visible injury on plants in Beijing, China. *Environmental Pollution*, 193, 296–301. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2014.06.004>

Ferrer-Cid, P., Barcelo-Ordinas, J. M., Garcia-Vidal, J., Ripoll, A., & Viana, M. (2019). A Comparative Study of Calibration Methods for Low-Cost Ozone Sensors in IoT Platforms. *IEEE Internet of Things Journal*, 6(6), 9563–9571.

<https://doi.org/10.1109/JIOT.2019.2929594>

Fredericksen, T. S., Skelly, J. M., Steiner, K. C., Kolb, T. E., & Kouterick, K. B. (1996). Size-mediated foliar response to ozone in black cherry trees. *Environmental Pollution*, *91*(1), 53–63. [https://doi.org/10.1016/0269-7491\(95\)00032-M](https://doi.org/10.1016/0269-7491(95)00032-M)

Gao, F., Calatayud, V., García-Breijo, F., Reig-Armiñana, J., & Feng, Z. (2016). Effects of elevated ozone on physiological, anatomical and ultrastructural characteristics of four common urban tree species in China. *Ecological Indicators*, *67*, 367–379. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2016.03.012>

Grulke, N. E., & Heath, R. L. (2020). Ozone effects on plants in natural ecosystems. *Plant Biology*, *22*(S1), 12–37. <https://doi.org/10.1111/plb.12971>

Heath, R. L. (2008). Modification of the biochemical pathways of plants induced by ozone: What are the varied routes to change? *Environmental Pollution*, *155*(3), 453–463. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2008.03.010>

Hoagland, D. R., & Arnon, D. I. (1950). The water-culture method for growing plants without soil. *Agricultural Experiment Station*. <http://hdl.handle.net/2027/uc2.ark:/13960/t51g1sb8j>

Inclán, R., Gimeno, B. S., Dizengremel, P., & Sanchez, M. (2005). Compensation processes of Aleppo pine (*Pinus halepensis* Mill.) to ozone exposure and drought stress. *Environmental Pollution*, *137*(3), 517–524. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2005.01.037>

INEGI. (2019). Actualización de la población a través de la muestra maestra de viviendas y su validación por estimaciones a corto plazo. *Instituto Nacional de Geografía y Estadística*.

IPCC. (2013). IPCC CLIMATE CHANGE 2013 Climate Change 2013. In *Researchgate.Net*. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.Summary>

Jaspers, P., & Kangasjärvi, J. (2010). Reactive oxygen species in abiotic stress signaling. *Physiologia Plantarum*, *138*(4), 405–413. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2009.01321.x>

Jo, B. W., & Khan, R. M. A. (2018). An internet of things system for underground mine air quality pollutant prediction based on azure machine learning. *Sensors (Switzerland)*, *18*(4). <https://doi.org/10.3390/s18040930>

Karnosky, D. F., Skelly, J. M., Percy, K. E., & Chappelka, A. H. (2007). Perspectives regarding 50 years of research on effects of tropospheric ozone air pollution on US forests. *Environmental Pollution*, *147*(3), 489–506. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2006.08.043>

Kivimäenpää, M., Sutinen, S., Calatayud, V., & Sanz, M. J. (2010). Visible and microscopic needle alterations of mature Aleppo pine (*Pinus halepensis*) trees growing

on an ozone gradient in eastern Spain. *Tree Physiology*, 30(4), 541–554. <https://doi.org/10.1093/treephys/tpq012>

Krupa, S. V., & de Bauer, L. I. (1976). La ciudad daña los pinos del Ajusco. *Environmental Pollution*, 65(2), 109–118. [https://doi.org/10.1016/0269-7491\(90\)90178-F](https://doi.org/10.1016/0269-7491(90)90178-F)

Kumar, P., & Sharma, R. K. (2020). Quick Determination of Leaf Photosynthetic Pigments Using SPAD Readings. *Journal of Genetics and Cell Biology*, 3(1), 145–151.

Liu, M., Barkjohn, K. K., Norris, C., Schauer, J. J., Zhang, J., Zhang, Y., Hu, M., & Bergin, M. (2020). Using low-cost sensors to monitor indoor, outdoor, and personal ozone concentrations in Beijing, China. *Environmental Science: Processes and Impacts*, 22(1), 131–143. <https://doi.org/10.1039/c9em00377k>

Liu, Z., Chen, W., Fu, W., He, X., Fu, S., & Lu, T. (2015). Effects of elevated CO₂ and O₃ on leaf area, gas exchange and starch contents in Chinese Pine (*Pinus tabulaeformis* Carr.) in Northern China. *Bangladesh J. Bot*, 44(90211018), 1–6.

López, J. D., Méndez, J., Nájera, J. A., Cerano, J., Flores, J. D., & Nájera, J. A. (2013). Litterfall production in *Pinus halepensis* Mill. and *Pinus cembroides* Zucc. and its relationship with some climatic factors. *Agrociencia* 47: 497-510.

López, S.F. (2011). *Ensayo de especies arbóreas de las familias Pinaceae, Apocynaceae, Bursaraceae y Tiliaceae para la reforestación de la 2ª sección del Bosque de Chapultepec*. (tesis de pregrado) Universidad Nacional Autónoma de México.

Markwell, J., Osterman, J. C., & Mitchell, J. L. (1995). Calibration of the Minolta SPAD-502 leaf chlorophyll meter. *Photosynthesis Research*, 46(3), 467–472. <https://doi.org/10.1007/BF00032301>

Marzuoli, R., Gerosa, G., Bussotti, F., & Pollastrini, M. (2019). Assessing the impact of ozone on forest trees in an integrative perspective: Are foliar visible symptoms suitable predictors for growth reduction? A critical review. *Forests*, 10(12), 1–17. <https://doi.org/10.3390/f10121144>

McAdam, E. L., Brodribb, T. J., & McAdam, S. A. M. (2017). Does ozone increase ABA levels by non-enzymatic synthesis causing stomata to close? *Plant Cell and Environment*, 40(5), 741–747. <https://doi.org/10.1111/pce.12893>

McQuattie, A. J., & Shier, G. A. (1993). Effect of ozone and aluminium on pitch pine (*Pinus rigida*) seedlings: needle ultrastructure. *Can. J. For. Res.*, 23(1), 1375–1387. <https://doi.org/10.16309/j.cnki.issn.1007-1776.2003.03.004>

Miller, P. R., de Bauer, L. I., & Hernández-Tejeda, T. (2002). Oxidant Exposure and Effects on Pines in Forests in the Mexico City and Los Angeles, California, Air Basins. *Agrociencias*, 156, 139–141. https://doi.org/10.1007/978-0-387-22520-3_10

Morales, D., Rodríguez, P., Dell'Amico, J. A., Torrecillas, A., & Sánchez-Blanco, M. de

J. (2006). Efecto de altas temperaturas en algunas variables del crecimiento y el intercambio gaseoso en plantas de Tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill. CV. AMALIA). *Cultivos Tropicales*, 27(1), 45–48.

Moura, B. B., de Souza, S. R., & Alves, E. S. (2014). Response of Brazilian native trees to acute ozone dose. *Environmental Science and Pollution Research*, 21(6), 4220–4227. <https://doi.org/10.1007/s11356-013-2326-1>

Muñoz, H. J., Velarde, J. C., García, J. J., Sáenz, J. T., Olvera, E. H. & Hernández, J. (2012). Total stem volume prediction for plantations of *Pinus greggii* Engelm. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 3 (14).

Ni, J. Q., Heber, A. J., Diehl, C. A., & Lim, T. T. (2000). Ammonia, hydrogen sulphide and carbon dioxide release from pig manure in under-floor deep pits. *Journal of Agricultural and Engineering Research*, 77(1), 53–66. <https://doi.org/10.1006/jaer.2000.0561>

Núñez, J. (2014). *Diseño e Integración de un Sistema de Adquisición de Datos Mediante el Uso de Arduino y Raspberry-PI* [Universidad Nacional Autónoma de México]. <http://www.ptolomeo.unam.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/132.248.52.100/5750/Tesis.pdf?sequence=1>

Oguntimehin, I., Nakatani, N., & Sakugawa, H. (2008). Phytotoxicities of fluoranthene and phenanthrene deposited on needle surfaces of the evergreen conifer, Japanese red pine (*Pinus densiflora* Sieb. et Zucc.). *Environmental Pollution*, 154(2), 264–271. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2007.10.039>

Oguntimehin, I., & Sakugawa, H. (2009). Interactive effects of simultaneous ozone and fluoranthene fumigation on the eco-physiological status of the evergreen conifer, Japanese red pine (*Pinus densiflora* Sieb et. Zucc.). *Ecotoxicology*, 18(1), 100–109. <https://doi.org/10.1007/s10646-008-0263-4>

Ojeda, M. del C. (2007). *Regeneración in vitro del piñón azul Pinus maximartinezii (Rzed)*. (tesis de pregrado) Universidad Nacional Autónoma de México.

Ortiz, M. (2006). *Respuestas Fisiológicas Y Bioquímicas De Dos Especies De Pinos En Condiciones Limitantes De Humedad*. (tesis de pregrado) Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.

Pask, A., Pietragalla, J., Mullan, D., Chávez, P., & REynolds, M. (2013). *Fitomejoramiento Fisiológico II: Una guía de Campo para la Caracterización Fenotípica de Trigo*. (Vol. 52, Issue 1).

Parraguirre, C., Vargas, J. J., Ramírez, P., Azpíroz, H. S., & Jasso, J. (2002). Structure of genetic diversity in natural populations of *Pinus greggii* Engelm. *Diversity*, 25(3), 2002–2002.

Pérez, M., & Rodríguez, D. M. (2018). *Estructura de control: diseño de un sistema de*

tanques no interactuantes para controlar nivel por medio de sensores haciendo uso de un microcontrolador tipo Arduino. Universidad Nacional Autónoma de México.

Pliūra, A., Jankauskienė, J., Bajerkevičienė, G., Lygis, V., Suchockas, V., Labokas, J., & Verbylaitė, R. (2019). Response of juveniles of seven forest tree species and their populations to different combinations of simulated climate change-related stressors: spring-frost, heat, drought, increased UV radiation and ozone concentration under elevated CO₂ level. *Journal of Plant Research*, 132(6), 789–811. <https://doi.org/10.1007/s10265-019-01146-2>

Puértolas, J., Benito, F. L. & Peñuelas, J. L. (2008). Efecto del sombreado en el vivero sobre la calidad de planta y el comportamiento en Campo de *Quercus ilex* y *Pinus halepensis*. *Cuadernos de la Sociedad Española de Ciencias Forestales* 28: 189-194.

Pujadas, M., Terés, J., & Gimeno, B. S. (1997). La experiencia española en el diseño de sistemas experimentales para el estudio de efectos producidos por contaminantes gaseosos sobre especies vegetales. *Boletín de Sanidad Vegetal*, 23, 39–55.

Reyes, V. (2019). *Análisis transcriptómico de la tolerancia a ozono troposférico en Abies religiosa*. (tesis de maestría) Universidad Nacional Autónoma de México.

Rodriguez-Vasquez, K. A., Cole, A. M., Yordanova, D., Smith, R., & Kidwell, N. M. (2020). AIRduino: On-Demand Atmospheric Secondary Organic Aerosol Measurements with a Mobile Arduino Multisensor. *Journal of Chemical Education*, 97(3), 838–844. <https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.9b00744>

Rodríguez. (2011). *Relaciones hídricas en dos especies forestales simpátricas de un bosque semirárido: potencial hídrico, transpiración, conductancia estomática y eficiencia del uso del agua como indicadores del estado hídrico*. (tesis de maestría) Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A. C.

Roshchina, V. V., & Roshchina, V. D. (2003). Ozone and Plant Cell. In *Journal of Chemical Information and Modeling* (1era edici, Vol. 53, Issue 9). Springer-Science+Business Media, B. V. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>

Ruiz, E. (2015). *Aplicación de la escala Red-II, daño por ozono: para la evaluación del moteado clorótico en Pinus spp. en el Parque Nacional Izta-Popo, Estado de México, México*. (Vol. 16). (tesis de pregrado) Universidad Nacional Autónoma de México.

Sánchez, K. E. (2018). *Adecuación de la técnica SPAD-502 PLUS para la evaluación de clorofila como indicador de daño por ozono troposférico en Abies religiosa (Kunt) Schtdl. Echam. del Parque Nacional Desierto de los Leones*. (tesis de pregrado) Universidad Nacional Autónoma de México.

Sandoval, L. B. (2019). *Selección de las Especies Arbóreas apropiadas para los servicios ecosistémicos de los bosques urbanos de la Ciudad de México*. (tesis de pregrado) Universidad Nacional Autónoma de México.

Sanz, M. J., Calatayud, V., & Calvo, E. (2000). Spatial pattern of ozone injury in Aleppo

pine related to air pollution dynamics in a coastal-mountain region of eastern Spain. *Environmental Pollution*, 108(2), 239–247. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(99\)00182-7](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(99)00182-7)

Saquete, A., & Lledó, M. (2005). Seguimiento De Variables Ecofisiológicas En Plantones De *Pinus halepensis* Miller, En Un Ciclo De Secado ¿Puede encontrarse diferente comportamiento en plantones producidos con diferentes substratos? *Cuadernos de La Sociedad Española de Ciencias*, 20(2004), 135–140.

SEDEMA. (2006). La calidad del aire en la zona metropolitana del valle de México 20 años de monitoreo atmosférico. *Dirección General de Gestión de La Calidad Del Aire, Dirección de Monitoreo Atmosférico*, http://www.aire.cdmx.gob.mx/descargas/publicaciones/gestion-ambiental-aire-memoria-documental-2001-2006/descargas/informe_anual_calidad_aire_tendencias_2005.pdf

SEDEMA. (2017). Calidad del aire en la Ciudad de México Informe 2016. *Dirección General de Gestión de La Calidad Del Aire, Dirección de Monitoreo Atmosférico, Canal 5*, 1–48. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>

Sicard, P., De Marco, A., Dalstein-Richier, L., Tagliaferro, F., Renou, C., & Paoletti, E. (2016). An epidemiological assessment of stomatal ozone flux-based critical levels for visible ozone injury in Southern European forests. *Science of the Total Environment*, 541, 729–741. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.09.113>

Skelly, J. M., Davis, D. D., Merrill, W., Cameron, E. A., Brown, H. D., Drummond, D. B., & Dochinger, L. S. (1987). Diagnosing Injury Eastern to Eastern Forest Trees A manual for identifying damage caused by air pollution, pathogens, insects, and abiotic stresses. In *United States Department of Agriculture- Forest Service* (1a Edición). <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>

Soda, C., Bussotti, F., Grossoni, P., Barnes, J., Mori, B., & Tani, C. (2000). Impacts of urban levels of ozone on *Pinus halepensis* foliage. *Environmental and Experimental Botany*, 44(1), 69–82. [https://doi.org/10.1016/S0098-8472\(00\)00055-1](https://doi.org/10.1016/S0098-8472(00)00055-1)

Tausz, M., Grulke, N. E., & Wieser, G. (2007). Defense and avoidance of ozone under global change. *Environmental Pollution*, 147(3), 525–531. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2006.08.042>

Then, C., Herbinger, K., Luis, V. C., Heerdt, C., Matyssek, R., & Wieser, G. (2009). Photosynthesis, chloroplast pigments, and antioxidants in *Pinus canariensis* under free-air ozone fumigation. *Environmental Pollution*, 157(2), 392–395. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2008.09.044>

UNECE. (2017). Manual on methods and criteria for harmonized sampling, assessment, monitoring and analysis of the effects of air pollution on forest. *Manual on*

Methods and Criteria for Harmonized Sampling, Assessment, Monitoring and Analysis of the Effects of Air Pollution on Forests, 7, 1–22. https://www.icp-forests.org/pdf/manual/2016/Manual_Part_XIV.pdf

Vaultier, M. N., & Jolivet, Y. (2015). Ozone sensing and early signaling in plants: An outline from the cloud. *Environmental and Experimental Botany*, 114, 144–152. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2014.11.012>

Vollenweider, P., Fenn, M. E., Menard, T., Günthardt-Goerg, M., & Bytnerowicz, A. (2013). Structural injury underlying mottling in ponderosa pine needles exposed to ambient ozone concentrations in the San Bernardino Mountains near Los Angeles, California. *Trees - Structure and Function*, 27(4), 895–911. <https://doi.org/10.1007/s00468-013-0843-7>

WHO. (2013). Review of evidence on health aspects of air pollution – REVIHAAP Project. *Oecologia*, 388–392. <https://doi.org/10.1007/BF00379640>

Xu, S., Chen, W., Huang, Y., & He, X. (2012). Responses of growth, photosynthesis and VOC emissions of *Pinus tabulaeformis* carr. exposure to elevated CO₂ and/or elevated O₃ in an urban area. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 88(3), 443–448. <https://doi.org/10.1007/s00128-011-0462-1>

Referencias electrónicas.

Alpha Omega Electronics. (2018). *AP4 Porómetro de Hojas de Delta-T*. Noviembre 16, 2020, de Alpha Omega Electronics. Sitio web: <https://www.alphaomega-electronics.com/es/medio-ambiente/1261-ap4-porometro-de-hojas-de-delta-t-5-anos-de-garantia.html>

Facultad de Agricultura Departamento de Recursos Ambientales Investigación Científica Introducción del Laboratorio Izuda. (2020). *Convirtámonos en doctores de la tierra verde*. Noviembre 8, 2021, de Universidad de Agricultura y Tecnología de Tokio. Sitio web: <http://web.tuat.ac.jp/~negitoro/Research%20in%20Izuta%20Lab.html>

Freepik. (2018). *Capas de atmósfera infografía*. Agosto 16, 2021, de Freepik. Sitio web: https://www.freepik.es/vector-premium/capas-atmosfera-infografia_3048389.htm

Jean-Pierre, C. (2019). *What is the impact of air pollutants on vegetation?*. Marzo 07, 2021, de Encyclopedia of the environment. Sitio web: <https://www.encyclopedie-environnement.org/en/life/impact-air-pollutants-on-vegetation/>

López, J. C. (2019). *Fotos de Pino Prieto (Pinus greggii)*. Marzo 04, 2021, de Naturalista. Sitio web: https://www.naturalista.mx/taxa/135782-Pinus-greggii/browse_photos

Patagonia tools. (2017). *Minolta Spad 502 Plus*. Noviembre 04, 2020, de Patagonia tools. Sitio web: <https://patagoniatools.com.ar/productos/laboratorios/minolta-spad->

502-plus/

SEDEMA. (s/a). Consulta de datos. Noviembre 26, 2020 de Secretaría del Medio Ambiente de la Ciudad de México Sitio web: <http://www.aire.cdmx.gob.mx/estadisticas-consultas/concentraciones/index.php>

SEDEMA. (2016). *Catálogo de plantas vivero Nezahualcóyotl*. Octubre 15, 2021, de Secretaría del Medio Ambiente de la Ciudad de México Sitio web: <http://www.data.sedema.cdmx.gob.mx/flippingbook/catalogo-plantas/nezahualcoyotl/#p=4>

SEMARNAT. (2016). *Producción forestal*. Octubre 15, 2021, de Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Sitio web: <https://www.gob.mx/semarnat/acciones-y-programas/produccion-forestal>

Wikipedia. (2016). *Ciudad de México*. Agosto 22, 2021, de Wikipedia. Sitio web: <https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/f/f8/MX-DF-Relieve.png>

ANEXOS.

Anexo I. Solución nutritiva de Hoagland.

Se preparó a partir de la adición, por litro de solución nutritiva, de 0.01 mL nitrato de potasio (KNO_3), 0.1 mL nitrato de calcio tetrahidratado ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), 0.4 mL sulfato de magnesio heptahidratado ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), 0.2 mL fosfato de amonio ($(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$), 0.1 mL sulfato ferroso heptahidratado ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) y EDTA disódico ($\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{Na}_2\text{O}_8 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), 3.0 μL ácido bórico (H_3BO_3), 3.0 μL molibdato de amonio ($(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$), 0.5 μmL cloruro manganoso tetrahidratado ($\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), 0.8 μL sulfato de zinc heptahidratado ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) y 0.4 μL sulfato de cobre pentahidratado ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), a partir de las siguientes soluciones stocks:

SOLUCIONES STOCK DE SOLUCIÓN NUTRITIVA DE HOAGLAND			
Compuesto	Concentración inicial	Volumen	Concentración final
KNO_3	1 M	500 mL	0.1 M
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	1 M	500 mL	0.1 M
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1 M	250 mL	0.4 mM
$(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$	1 M	100 mL	0.2 mM
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} + \text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{Na}_2\text{O}_8 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	20 mM	100 mL	20 μM
H_3BO_3	100 mM	100 mL	3 μM
$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$	100 mM	100 mL	1 μM
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	100 mM	50 mL	0.5 μM
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	50 mM	50 mL	0.4 μM
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	50 mM	50 mL	0.2 μM

Anexo II. Programación del software Arduino.

```
#include <DHT.h>
#include <SPI.h>
#include <SD.h>
#include <LiquidCrystal.h>
#include <Wire.h>
#include <BH1750.h>

Int DHTPIN = 2;
const int chipselect =4;
unsigned long Secs = 0;
BH1750 lightMeter;

int V0 = 3;
int RS = 5;
int E = 6;
int D4 = 7;
int D5 = 8;
int D6 = 9;
int D7 = 10;
int VALOR;
#define DHTYPE DHT22

DHT dht (DHTPIN, DHTYPE);
LiquidCrystal lcd (RS, E, D4, D5, D6, D7);

void setup() {
  serial.begin(6900);
  while (!Serial) {
    ;
  }
  dht.begin();
  lcd.begin(16, 2);
  analogWrite(V0, 5);
  Wire.begin();
  lightMeter.begin();
  Serial.print("Iniciando SD card...");

  if(!SD.begin(chipSelect)) {
    Serial.println("SD Card inválida");
    return;
  }
  Serial.println("SD Card iniciada");
```

```
}

void loop() {
  float lux = lightMeter.readLightLevel();
  String dataString = "";

  int h = dht.readHumidity();
  int t = dht.readTemperature(false);
  unsigned long Secs=millis();
  VALOR = analogRead(A0);
  File dataFile = SD.open("datalog.txt", FILE_WRITE);

  lcd.clear();
  lcd.setCursor(0,0);
  lcd.print(t);
  lcd.print("-");
  lcd.print(h);
  lcd.print("-");
  lcd.print(VALOR);
  lcd.print("-");
  lcd.println(lux);

  if (dataFile) {
    dataFile.println(string(Secs)+"-"+string(h)+"-"+string(t)+"-"+string(VALOR)+"-"+string(lux));
    dataFile.close();
    Serial.println(string(Secs)+"-"+string(h)+"-"+string(t)+"-"+string(VALOR)+"-"+string(lux));
    delay(900000);
  }
  else {
    Serial.println("Error apertura datalog.txt");
  }
}
```