



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

**REGISTRO DE CLOROFILA TOTAL COMO REFLEJO DE LA
VITALIDAD DE *Fraxinus uhdei* CON EL MEDIDOR SPAD-502
PLUS, EN LOS BOSQUES URBANOS: CHAPULTEPEC,
TLALPAN Y SAN JUAN DE ARAGÓN.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

B I Ó L O G A

P R E S E N T A:

BRYNA GRACIELA JIMÉNEZ BARBA



DIRECTOR DE TESIS:

M. en C. GERMÁN CALVA VÁSQUEZ

CIUDAD DE MÉXICO, OCTUBRE DE 2021



Universidad Nacional
Autónoma de México



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

A la Secretaría de Ciencia Tecnología e Innovación de la CDMX, por el apoyo otorgado para realizar este proyecto de investigación (número SECITI/103/2017).

A la Universidad Nacional Autónoma de México y la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, por brindarme el espacio y recursos necesarios para formarme profesionalmente.

A mi director de tesis el M. en C. Germán Calva Vásquez, por brindarme la oportunidad de formar parte de su equipo de investigación, por sus consejos, dedicación, paciencia y empatía. Pero, sobre todo, por su valiosa amistad y calidad humana.

A mis sinodales: Dra. Patricia Rivera García, Dra. Alberta Lourdes Vásquez, M. en C. Rocío Espítia Licea y al Dr. Efraín Reyes Ángeles Cervantes, por sus contribuciones, consejos y apoyo profesional en este trabajo.

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

Si tuviera que mencionar a cada una de las personas que me han apoyado para llegar hasta este punto de mi vida, unas cuantas líneas no me serían suficientes. Me disculpo de antemano por si llego a omitir algún nombre importante.

A mi hermana Alejandra, ella es mi pilar, quien ha caminado toda una vida a mi lado y sin ella ningún logro tendría sentido.

A mi abuelita Alicia, por brindarme todo su apoyo y amor cuando más lo he necesitado. Compartir una plática contigo siempre será un enorme gusto.

A mis hermanos Camilo, Bruno, Nicole, Fernanda, Diego y José, por llenarme la vida de recuerdos y alegrías.

A mis padres, que sin importar las circunstancias los seguiré amando. Gracias mamá por protegerme y amarme tantos años.

A "C", por tanto amor, apoyo y paciencia. Eres la prueba de que las personas correctas llegan en los momentos menos esperados. Seguramente viviremos grandes cosas juntos.

A mi amigo Diego, que a pesar de las perspectivas ajenas y el tiempo que compartí con él, realmente marcó mi vida. Sé que en algún momento nos encontraremos y tendremos nuestro baile.

A Lazcano, por creer en mí, por motivarme y por 10 años de tanto cariño. Sin ti los partidos de GB serían aburridos.

A Brenda, por convertirse en una de mis mejores amigas y darme calma emocional en esta extraña etapa de la vida.

A las familias López, Rivera, Maldonado y Mercado, por brindarme ayuda y cariño.

Y finalmente a mis amigos Miguel, Diana Morales, Maricela, Dulce, Sandra, Diana Cruz, Josselin y Erick, quienes compartieron conmigo demasiadas experiencias y alegrías durante la carrera. Les agradezco todas las veces que me respaldaron y no me dejaron sola.

ÍNDICE

I. Introducción	1
II. Marco Teórico	4
2.1 Contaminación del aire y el daño en las hojas de los árboles	4
2.2 Vitalidad de los árboles urbanos	6
2.3 Definición de las áreas verdes y Bosques urbanos desde el marco legal	8
2.4 Fotosíntesis y pigmentos fotosintéticos	10
2.5 Factores que afectan la fotosíntesis	12
2.5.1 El dióxido de carbono (CO ₂)	13
2.5.2 La Luz	14
2.5.3 La temperatura	16
2.5.4 El oxígeno	17
2.5.6 Contaminación atmosférica urbana	17
2.6 Extracción de pigmentos fotosintéticos (Clorofila total)	19
2.7 Espectrofotometría como técnica para la determinación de la clorofila	20
2.8 Fundamentos de la técnica SPAD-502 Plus	21
2.9 La ley de Lambert-Beer	23
III. Antecedentes	25
IV. Problemática	27
V. Objetivos	29
VI. Justificación	30
VII. Hipótesis	30
VIII. Método y material	31
8.1 Áreas de estudio	31
8.1.1 Bosques de Chapultepec (CHA)	31
8.1.2. Bosque de San Juan de Aragón (SJA)	33
8.1.3 Parque Nacional Bosque de Tlalpan (TLA)	35
8.2 Trabajo en Campo	37
8.3 Actividades de laboratorio	40
8.4 Actividades de gabinete	42
IX. Análisis y discusión de resultados	43

9.1 Absorbancia SPAD de la concentración de clorofila total en foliolos SD y CD	43
9.2 Absorbancia SPAD de la concentración de clorofila total en foliolos SD y CD considerando la ubicación como variable	44
9.3 Relación de la estacionalidad con la absorbancia SPAD en foliolos SD y CD	46
9.4 Absorbancia SPAD y su equivalencia en unidades internacionales	51
9.5 Clorofila total en $\mu\text{mol m}^2$ mediante los modelos de Markwell y Parry	52
9.6 Concentración de clorofila total en $\mu\text{mol m}^2$ por zona de estudio	55
9.7 Patrón de vitalidad procedente de la coloración y concentración de clorofila total en $\mu\text{mol m}^2$ y unidades SPAD	60
X. Conclusiones	66
XI. sugerencias de estudio	68
XII. Referencias	69
XIII. Anexos	77

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Efectos de la contaminación por dióxido de azufre (SO_2), dióxido de nitrógeno (NO_2) y ozono (O_3) sobre el aparato fotosintético.	6
Figura 2. Áreas verdes de la Ciudad de México.	9
Figura 3. Fase dependiente de la luz o fase luminosa.	10
Figura 4. Estructura y función del cloroplasto.	11
Figura 5. Absorbancia SPAD.	22
Figura 6. Componentes del medidor SPAD- 502 Plus.	23
Figura 7. Energía transmitida a través de la muestra.	24
Figura 8. Bosque de Chapultepec.	32
Figura 9. Bosque de San Juan de Aragón.	34

Figura 10. Bosque de Tlalpan.	36
Figura 11. Elección de los fresnos y folíolos con daño y sin daño.	37
Figura 12. <i>F. uhdei</i> sin daño aparente y con daño aparente.	38
Figura 13. Limpieza de folíolos <i>in situ</i> .	38
Figura 14. Obtención de lecturas y promedios con el medidor SPAD-502 Plus.	39
Figura 15. Alícuotas de 3ml con solución etanol al 96% - clorofila.	41
Figura 16. Calibración de longitudes de onda 649 nm (clorofila b) y 665 nm (clorofila a).	41
Figura 17. Mediana e intervalo de confianza del 99% de los registros de unidades SPAD para folíolos sin daño (SD) y con daño (CD).	44
Figura 18. Mediana e intervalos de confianza del 99% de los registros de unidades SPAD para folíolos obtenidos en los bosques de Chapultepec (CHA), San Juan de Aragón (SJA) y Tlalpan (TLA).	45
Figura 19. Mediana e intervalo de confianza del 99% de los registros de unidades SPAD para folíolos sin daño (SD) o con daño (CD) obtenidos en el mes de abril (Abr) y septiembre (Sep) sin considerar el Bosque de procedencia.	47
Figura 20. Conversión de unidades SPAD a $\mu\text{mol m}^2$ a partir de la ecuación de Markwell (1995), basada en el modelo óptico.	53
Figura 21. Conversión de unidades SPAD a $\mu\text{mol m}^2$ a partir de la ecuación de Parry (2004).	53
Figura 22. Representación gráfica de la concentración de clorofila total obtenida con los modelos de Markwell (1995), Parry (2004) y unidades SPAD. Clorofila total en $\mu\text{mol m}^2$ por zona de estudio.	54
Figura 23. Registros de unidades en $\mu\text{mol m}^2$ para folíolos sin daño (SD) obtenidos en el mes de abril en los Bosques de Chapultepec (CHA), San Juan de Aragón (SJA) y Tlalpan (TLA). Registros de unidades en $\mu\text{mol m}^2$ folíolos sin daño (SD) obtenidos en el mes de septiembre en CHA, SJA y TLA.	56
Figura 24. Registros de unidades en $\mu\text{mol m}^2$ para folíolos con daño (CD) obtenidos en el mes de abril en los Bosques de Chapultepec (CHA), San Juan de Aragón (SJA) y Tlalpan (TLA). Registros de unidades en $\mu\text{mol m}^2$ folíolos con daño (CD) obtenidos en el mes de septiembre en CHA, SJA y TLA.	57
Figura 25. Distribución de los principales tipos de industria en la CDMX.	59
Figura 26. Empalme de las distribuciones de totalidad y frecuencia relativa de unidades SPAD (Absorbancia de clorofila total) y frecuencia absoluta de la clorofila total (tonalidad).	61

Figura 27. Intervalos en unidades SPAD para foliolos SD, para la relación de coloración registrada en las zonas de estudio. 62

Figura 28. Intervalos en unidades SPAD para foliolos CD, para la relación de coloración registrada en las zonas de estudio. 62

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Tipos de contaminantes en función de su origen. 18

Cuadro 2. Extracción de clorofila total a partir de etanol y aplicación de la técnica SPAD. 26

Cuadro 3. Matriz de datos SPAD por sitio. 39

Cuadro 4. Diferencias entre valores SPAD máximos y mínimos bajo el criterio de tipo de daño y sitio. 50

Cuadro 5. Ecuaciones de correlación para unidades SPAD. Caducifolio (CF), Perennifolio (PF). 51

Cuadro 6. Escala de vitalidad respecto a la concentración de clorofila en unidades SPAD y coloración en foliolos de *Fraxinus uhdei*. 65

Cuadro 7. Características de las hojas en las especies con registro de clorofila a partir del medidor SPAD-502 plus. 77

RESUMEN

Evaluar la vitalidad de los árboles urbanos es fundamental para mejorar los servicios ecosistémicos que proporcionan a la población. El fresno *Fraxinus uhdei* se encuentra entre los árboles más plantados en la Ciudad de México y alrededor del 32% de los ejemplares se encuentran parasitados por patógenos, por lo que la cuantificación de su vitalidad, a pesar de representar un reto técnico, sería útil para conservar su salud, planear un mejor manejo forestal y evitar su declive. La concentración de clorofila se relaciona con el contenido de nitrógeno y por lo tanto con la vitalidad de las plantas. En especies de importancia agrícola se ha mostrado que la cuantificación de clorofila mediante el medidor portátil SPAD-502 Plus es eficiente y práctica, ya que conserva la integridad de las hojas, reduce los costos analíticos y los resultados son inmediatos. Considerando esto, en el presente estudio analizamos esta técnica en la determinación de la vitalidad de *F. uhdei* en los Bosques urbanos de Chapultepec, San Juan de Aragón y Tlalpan a partir de la concentración de clorofila total de sus hojas.

Se seleccionaron ejemplares de *F. uhdei* y sus hojas de manera dirigida en las zonas de muestreo durante los meses de abril y septiembre. Se registró la clorofila en folíolos con y sin daño visual (clorosis) con el medidor SPAD-502 Plus. También se registró la concentración de clorofila en folíolos de los fresnos del vivero de Coyoacán para utilizarla como referencia. Posteriormente, se procedió a determinar la relación entre los registros de clorofila obtenidos en unidades SPAD y las unidades internacionales de concentración aplicando los modelos de Lambert-Beer y de Markwell y colaboradores (1995).

De los resultados, destacamos que las unidades SPAD tienen una escala de paridad con las unidades internacionales ($\mu\text{mol m}^{-2}$ pese a la diferencia de magnitudes (26.2-75.2 vs. 99-198, respectivamente). En este sentido, nuestros registros concuerdan con los reportados por otros autores, que encontraron un rango de 20 a 80 unidades SPAD en árboles de *Ceiba pentandra* y *Carapa guianensis*. Determinamos diferencias en la vitalidad de los folíolos con y sin daño. De igual forma, entre las muestras de los Bosques de Chapultepec, San Juan de Aragón y Tlalpan. Con base en los resultados obtenidos se elaboró un patrón visual de cuatro estadios de coloración para las hojas, con lo que generamos una escala de vitalidad que asocia las unidades SPAD, la concentración de clorofila total y la pigmentación. Concluimos que los datos obtenidos con SPAD-502 Plus pueden ser utilizados para determinar la vitalidad de los árboles urbanos, lo que permite proponer programas de fertilización y administración de nitrógeno de manera oportuna.

I. INTRODUCCIÓN

Los bosques urbanos de Chapultepec (CHA), San Juan de Aragón (SJA) y Tlalpan (TLA) son necesarios para los habitantes de la Ciudad de México, ya que disminuyen el efecto de la isla de calor, atenúan el ruido, disminuyen la radiación solar, capturan contaminantes (NO_x, SO_x, O₃ y PMs), albergan a la biodiversidad y fomentan la salud psicosocial y el deporte recreativo (Breuste y Feldmann, 1998; Alberti, 2008; Forman, 2008; PAOT, 2010; Douglas, 2011). También, detienen la erosión del suelo causada por lluvia, producen oxígeno, captan agua, dan humedad al aire y aumentan la plusvalía de los inmuebles (Nowak, 1994; McPherson y Simpson, 1999; PAOT, 2010).

Desde la década de los ochenta, la Ciudad de México es catalogada como una de las más pobladas (8,918 653 habitantes) y grandes (1499 km²) del mundo (COCODER, 1986; GDF, 2015). Esto, a su vez, la posiciona dentro de las más contaminadas y con un alto nivel de pérdida del suelo de conservación y de áreas verdes públicas como los Bosques urbanos (PAOT, 2016). Según reportes del inventario de la CDMX, dentro de los Bosques urbanos antes mencionados habitan alrededor de 3, 387, 674 árboles, distribuidos en 69 especies, entre ellas, el fresno *Fraxinus uhdei* es una de las más abundantes, con marcada presencia en los tres sitios.

De acuerdo con la CONABIO (2014), *F. uhdei* se distribuye en 17 estados de la República Mexicana, incluyendo a la Ciudad de México. Este fresno es una especie endémica y, salvo en sus primeros años de vida, es resistente a heladas y sequías. Se desarrolla bien en suelos con buen drenaje y es utilizada para la

reforestación urbana. Los bosques de fresno ocupan el 4% del total de las áreas verdes en EE. UU. y Europa (Smith, 1981).

A pesar de que se ha mostrado que estos árboles emiten grandes cantidades de polen y algunos contaminantes aromáticos como monoterpenos, hemiterpenos e isoprenos (Smith, 1981), Herrejón (2018) determinó que participan en la remoción de contaminantes. Aplicando los modelos de remoción propuestos por Jenkins (2003) y Nowak (2002), se mostró que los fresnos de CHA remueven un 37.2% (249.65 kg/año) de los contaminantes atmosféricos, principalmente carbono. Por otro lado, los ejemplares de SJA remueven el 5% (42.15 kg/año) y los de TLA un 22% (168.61 kg/año). Cada año, los tres bosques remueven un total de 460.41 toneladas de contaminantes como las partículas suspendidas (PMs), el dióxido de azufre (SO₂), el dióxido de nitrógeno (NO₂), el monóxido de carbono (CO) y el Ozono (O₃). Por su parte, Sandoval (2019) utilizó la suite I-Tree Eco (Nowak, 2002) para estimar que *F. udhei* secuestra 1, 446.4 kg de carbono cada año en CHA, 12.3 kg en SJA y 983.28 Kg en TLA.

Pese a su capacidad para remover contaminantes, hay controversia en relación a la resistencia del fresno a los mismos debido a que algunos autores lo refieren como a una especie resistente (Hewitt, 2010), mientras que otros como una especie sensible. Por ejemplo, Sharma (1980) y Mudd (1996), describen que la contaminación del aire provoca estrés, cambios morfológicos, estructurales y bioquímicos en *F. uhdei*. Otros estudios han mostrado también la pérdida de pigmentos fotosintéticos, la disminución en la concentración de algunas proteínas, cambios en la conducta estomática, laceración de la epidermis foliar, defoliación,

pérdida de la viabilidad de las semillas y de la vitalidad¹ (Lilly, 2001; Martínez *et al.*, 2013).

Considerando esto, el objetivo de nuestra investigación es proponer un método para determinar la vitalidad del fresno a partir de la concentración de clorofila obtenida con un medidor portátil como SPAD-502 Plus, que preserva la integridad de los ejemplares analizados, presenta un costo menor a otros equipos y no requiere un procesamiento complejo de las muestras. Esto facilitará el estudio de los árboles en los bosques urbanos de la Ciudad de México, permitiendo la detección de deficiencias en el entorno de desarrollo y la implementación oportuna de estrategias de mantenimiento. Con ello, los beneficios que proporciona el fresno seguirán favoreciendo la ecología de la Ciudad.

¹ La Sociedad Internacional de Arboricultura define la vitalidad como la habilidad de los árboles para tolerar las condiciones de estrés de manera efectiva (Lilly, 2001; Martínez *et al.*, 2013).

II. MARCO TEÓRICO

2.1 Contaminación del aire y el daño en las hojas de los árboles

La absorción de gases contaminantes en grandes concentraciones induce la muerte de los tejidos vegetales. Solberg y Adams (1956) mencionan que las lesiones que sufren las plantas por la contaminación se clasifican de varias maneras; la más común las divide en daño agudo y crónico (clorótico). En el daño agudo hay un colapso intercostal de la hoja. Se observan áreas foliares que llegan a tener una apariencia “salpicada” de agua, que más tarde se secan y se blanquean llegando a presentar colores cercanos al marrón, dependiendo la especie en cuestión.

La lesión con daño crónico implica el amarillamiento de las hojas. Este puede progresar lentamente a través de las etapas de blanqueamiento, hasta que la mayor parte de la clorofila y los carotenoides se destruyen y las porciones intervenosas de las hojas quedan casi blancas. Dichas lesiones pueden ser causadas por la absorción de gas en cantidad insuficiente para causar lesiones agudas, o bien, pueden ser causadas por la absorción de cantidades pequeñas de gas durante un largo período de tiempo (Sánchez, 2018; Thomas, 1951; Mudd y Kowzloski, 1975).

No todos los tipos de contaminantes dejan daños visibles, tal es el caso del fluoruro, hidrógeno y SO₂ en las plantas angiospermas dicotiledóneas (Solberg y Adams, 1956; Mudd y Kowzloski, 1975). De manera semejante, Costonis y colaboradores (1970) no encontraron diferencias histológicas de importancia diagnóstica en gimnospermas que sufrieron daño por SO₂ u O₃. Los cambios histológicos causados por la contaminación que se observan en las hojas son la

plasmólisis, granulación o desorganización del contenido celular, colapso o desintegración celular y pigmentación del tejido afectado (Darley y Middleton, 1966).

Algunas veces la actividad fisiológica de las plantas es afectada antes de que se vean síntomas externos, por esta razón, muchos investigadores optan por referirse a daño "oculto", "invisible" o "fisiológico". Debido a ello, se propusieron los criterios "tempranos" para definir a las lesiones invisibles provocadas por los contaminantes: (1) implica una alteración de la vida de la planta que finalmente se expresa como un efecto sobre el crecimiento, (2) la perturbación no es evidente a simple vista y (3) el daño no está presente (Dhir, 2016).

Dhir (2016) describe que la absorción e integración de altas concentraciones de SO₂, NO₂ y O₃ induce el cierre de los estomas, limitando la disponibilidad de dióxido de carbono (CO₂) para realizar la fotosíntesis. También produce especies reactivas de oxígeno (ROS), generadas durante la oxidación, causando estrés y daño al aparato fotosintético de forma morfológica y fisiológica (**Figura 1**). El transporte de electrones fotosintéticos, la carboxilación, la eficiencia de RuBisco y la biosíntesis de clorofila son los principales procesos que son afectados, decreciendo la eficiencia fotosintética de las plantas.

En el caso de *Fraxinus americana*, Wood y Coppolino (1972) mostraron su susceptibilidad al O₃, junto con otras 21 especies caducas de hoja ancha en una cámara de ambiente controlado. De entre ellas, la acacia de tres espinas, el sicómoro, el álamo cenizo, el álamo híbrido y el álamo tulipán fueron las más sensibles a una exposición a 10 ppm durante 8 horas.

Los resultados descritos anteriormente, en conjunto con los obtenidos por Hibben y Stotzky (1969) y Wilhour (1971), sugieren que las especies de hoja caduca son sensibles a dosis de 20 a 30 ppm durante un periodo de 2 a 4 horas. Jensen (1973) fumigó nueve especies de madera dura durante 5 meses (0,30 ppm, 8 horas diarias, 5 días/semana) y determinó una reducción significativa en el crecimiento del sicómoro, arce de azúcar y álamo plateado.

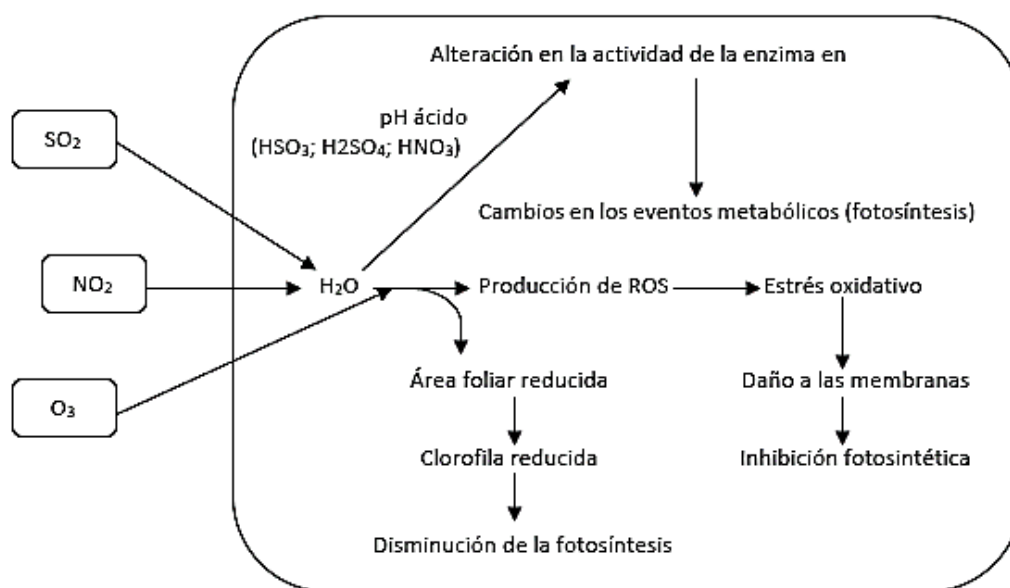


Figura 1. Efecto de la contaminación por dióxido de azufre (SO₂), dióxido de nitrógeno (NO₂) y ozono (O₃) sobre el aparato fotosintético. (Tomado y modificado de Dhir, 2016).

2.2 Vitalidad de los árboles urbanos

Callow y colaboradores (2018) definen a la vitalidad de los árboles como un atributo compuesto, por lo cual, no lo miden de forma directa y en cambio evalúan diversos indicadores de salud tales como: i) la concentración de almidón y glucosa, ii) la resistencia eléctrica cambial a la altura del pecho, iii) el contenido de clorofila en hojas y iv) el intercambio de gases en la hoja. Martínez y colaboradores (2009a) describen que “la vitalidad de los árboles se determina con base en variables de

crecimiento, la concentración de carbohidratos y la fluorescencia de clorofila en los árboles”. Los autores concuerdan en que el contenido de clorofila es un indicador de la vitalidad.

La fotosíntesis en las hojas y otros tejidos que albergan clorofila permite los procesos de respiración celular, mediante los cuales se producen carbohidratos que finalmente sirven como fuente de energía (Pallardy, 2008). Los árboles asignan carbohidratos para el mantenimiento, la reproducción, el crecimiento, la defensa contra plagas y la etapa de cambio en la foliación. Wargo y colaboradores (1972), mencionan que el crecimiento y la vitalidad de los árboles depende del contenido de carbohidratos, por lo tanto, también de la fotosíntesis. Gregory y Wargo (1985) y Lilly (2001) indican que los árboles se ven afectados por los factores que inducen estrés, lo que genera que la concentración de carbohidratos disminuya debido a la interrupción de los procesos fotosintéticos, lo que afecta el crecimiento y la vitalidad.

Los árboles urbanos están expuestos a condiciones estresantes debido a factores como el crecimiento poblacional, la competencia por los recursos entre árboles de la misma o de diferente especie y la contaminación, mismos que pueden afectar negativamente su vitalidad (Johnstone *et al.*, 2013). Los métodos más utilizados para evaluar la vitalidad arbórea están mayormente ligados al crecimiento (Buhler *et al.*, 2007; Martínez y Trinidad, 2010; Johnstone *et al.*, 2013), sin embargo, al no contar con el historial completo de cada uno de los ejemplares, las mediciones son variables e imprecisas. El mismo caso se presenta cuando se realiza la evaluación a partir de la resistencia eléctrica cambial, la cual, según lo mencionado por Johnstone y colaboradores (2013), “fue un método popular en las décadas de

1980 y 1990”. Actualmente, evaluar la vitalidad a partir de la concentración de clorofila en las hojas de árboles urbanos, tiene un amplio potencial (Johnstone *et al.*, 2013).

2.3 Definición de las áreas verdes y bosques urbanos desde el marco legal

La normatividad de las áreas verdes, que está en la Ley Ambiental del Distrito Federal (LADF) del año 2000, fue el instrumento que dio figura jurídica para su establecimiento, protección y conservación. Se publicó bajo el gobierno de Rosario Robles y se derogó la del año 1996. El reglamento paso a ser Ley en 1997 bajo el gobierno de López Obrador y después de una reforma, se publicó el 31 de enero de 2002 (GDF, 2001). A partir de este momento, los conceptos de área verde, área verde urbana y área verde pública se integraron a la Ley Federal del Distrito Federal y a la Norma Ambiental para el Distrito Federal NADF-006-RNAT-2004.

Antes del 2002, la competencia de la LADF tenía que ver con las áreas verdes y las áreas naturales protegidas (ANP) de jurisdicción local y en territorio del suelo de conservación. El decreto de reforma del 2002 promueve la sustentabilidad, definiendo los tipos de áreas verdes, indicando las directrices para su manejo y adicionando las áreas de valor ambiental (AVA). Antes de la reforma, los grandes parques urbanos como CHA y SJA eran un tipo de ANP, posterior a ella, se convierten en AVA (GDF, 2001). Así, se contribuyó a establecer un marco general sobre los tipos de espacios verdes en el Distrito Federal, que proponía una categoría de mayor protección y conservación para las áreas verdes de la zona urbana que se consideraban AVA.

Con base en el artículo 90 bis, las “AVA” se conforman por los bosques urbanos y barrancas (PAOT, 2010; 2016). El artículo 87 de esta misma ley ambiental, en las primeras 9 fracciones, menciona que las áreas verdes son parques y jardines, plazas ajardinadas o arboladas, zonas con cualquier cubierta vegetal en la vía pública, alamedas y arboledas, promontorios, cerros, colinas, elevaciones y depresiones orográficas, pastizales naturales y áreas rurales de producción forestal, agroindustrial o que presenten servicios ecoturísticos, zonas de recarga de mantos acuíferos y las demás áreas análogas.

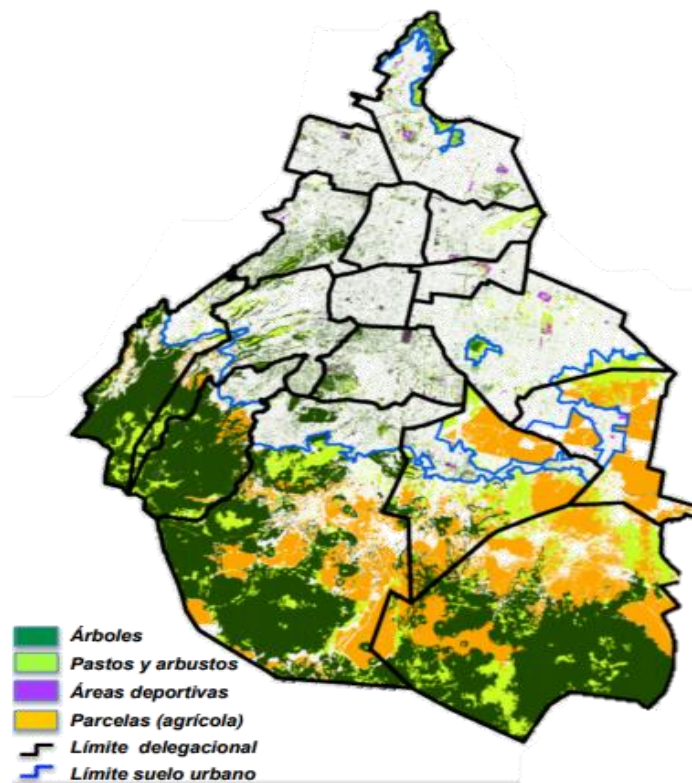


Figura 2. Áreas Verdes de la Ciudad de México. Tomada de PAOT (2016).

En el 2003 se realizó el primer inventario de áreas verdes de la entidad, dando cumplimiento al artículo 88 bis de la ley ambiental del Distrito Federal. “Esto

para servir como instrumento de gestión para el diseño y ejecución de la política pública de mejoramiento, mantenimiento e incremento de las áreas verdes” (Meza y Moncada, 2010). Para el inventario de actualización del 2016, se determinó que la mayor cantidad de AVA se distribuyen al sur de la Ciudad de México, principalmente en las alcaldías Cuajimalpa de Morelos, Álvaro Obregón, Magdalena Contreras, Tlalpan, Xochimilco y Milpa Alta (**Figura 2**).

2.4 Fotosíntesis y pigmentos fotosintéticos

Bidwell (1979), definió que “la fotosíntesis es la absorción de energía lumínica y su conversión en potencial químico estable por la síntesis de compuestos orgánicos”. Este proceso se realiza en los cloroplastos (Ocampo, 2014), sitio donde están los pigmentos fotosintéticos (clorofila, xantofilas y carotenoides), moléculas capaces de captar y absorber la energía luminosa procedente del sol y de convertirla en energía química (ATP) y en compuestos reductores (NADPH) (**Figura 3**).

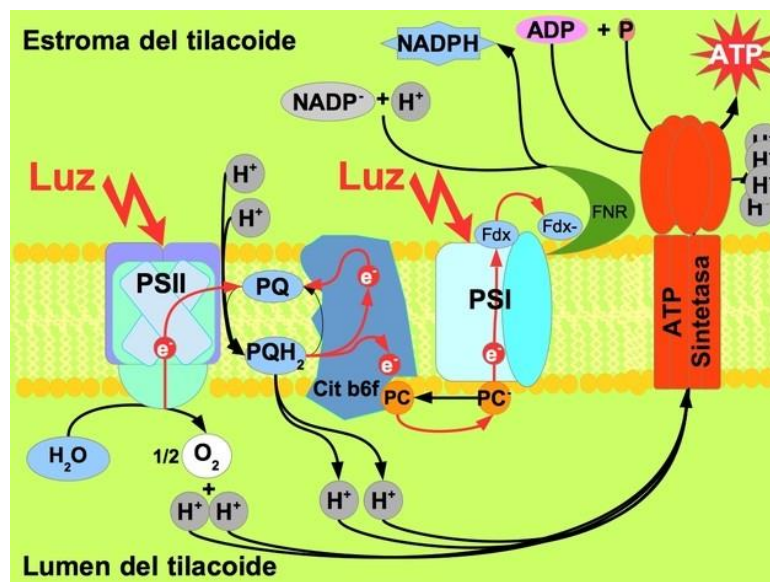


Figura 3. Fase dependiente de la luz o fase luminosa. La luz llega al PSII y se inicia el proceso de fotosíntesis dependiente de la luz que culmina con la formación de ATP y NADPH. PQ: plastoquinona; PC: plastocianina; Fdx: ferredoxina; FNR: ferredoxin-NADP+ Red. Recuperado de: www.asturnatura.com

En la fotosíntesis se pueden distinguir dos fases, una de conversión y otra de fijación. En la primera se lleva a cabo la conversión de energía luminosa en energía electroquímica, en la cual están implicados los complejos pigmento-proteína denominados antenas. Estos canalizan la energía hacia los centros de reacción de los fotosistemas, donde es convertida en una corriente de electrones entre moléculas óxido-reductoras. Estas reacciones de oxido-reducción producen en el último término, dos biomoléculas estables, NADPH y ATP, que serán utilizadas en la absorción de los elementos constitutivos de la materia orgánica. Los procesos antes mencionados ocurren en los tilacoides, estructuras formadas por las dobles membranas internas de los cloroplastos (Ortuño *et al.*,2015, **Figura 4**).

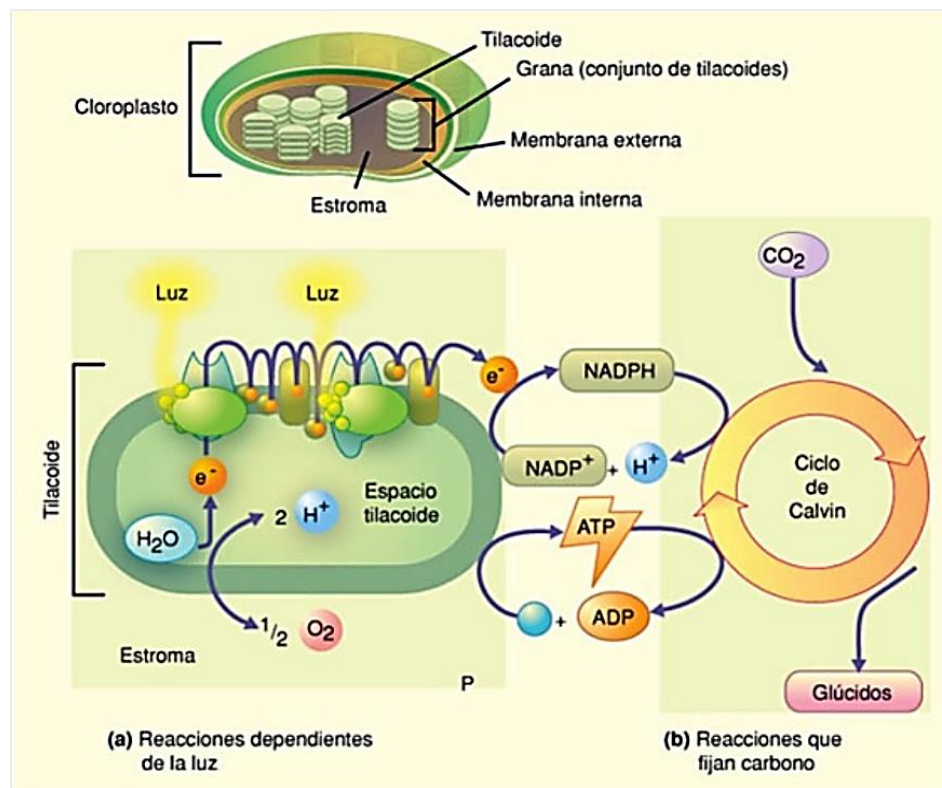
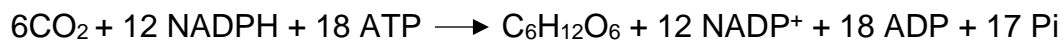


Figura 4. Estructura y función del cloroplasto: (a) reacciones dependientes de la luz, (b) Reacciones que fijan carbono, denominadas “Ciclo de Calvin”. Recuperado el 16 de febrero de 2020, de: <https://www.asturnatura.com/articulos/organulos-energeticos/cloroplasto-funciones.php>

La fase oscura, o de fijación de carbono, es la segunda fase de la fotosíntesis. Esta comprende a un conjunto de reacciones independientes de la luz y engloba a un proceso denominado “Ciclo de Calvin”, donde los productos generados durante la fase luminosa son empleados para sintetizar carbohidratos a partir de la fijación del CO₂ (Márquez, 2016). El carbohidrato más importante producido durante el Ciclo de Calvin es una molécula de glucosa. Prince y Khesghi (2005) mencionan que la glucosa cubre los requerimientos metabólicos de las células al ser movilizada dentro del organismo. La síntesis de la glucosa, es representada de la siguiente manera:



Ortuño y colaboradores (2015) calcularon que, a través de la fotosíntesis, cada año se convierten aproximadamente 200 mil millones de toneladas de CO₂ en compuestos orgánicos complejos y se producen cerca de 140 mil millones de toneladas de oxígeno que se adicionan a la atmósfera. Sin embargo, en un estudio realizado en 2016 por Fischer y colaboradores, se menciona que en la actualidad la fotosíntesis se encuentra desequilibrada debido principalmente a la quema de combustibles fósiles, lo que incrementa la proporción de CO₂ que ingresa a la atmósfera e induce el “efecto invernadero” y el cambio climático antropogénico.

2.5 Factores que afectan la fotosíntesis

La fotosíntesis, al ser un proceso metabólico, está influenciada por factores internos y externos. Los principales factores internos son la edad, el genotipo de la planta, la estructura de la hoja, el contenido de clorofila, la acumulación de los productos de la fotosíntesis en los cloroplastos y la influencia de las enzimas del protoplasma

(Azcón *et al.* 2013). De acuerdo con Lallana y Lallana (2001), la calidad y cantidad de luz incidente en las hojas, la temperatura, la concentración de CO₂, y la disponibilidad de agua y de nutrientes, son los factores externos más frecuentes. Así, en atmósferas urbanas donde el depósito de partículas como el hollín (subproducto de la combustión incompleta de materiales orgánicos, madera, aceite de vehículos, etc.), obstruyen las estomas de los árboles y plantas como el fresno, afectando la captura del CO₂ y el agua.

2.5.1 El dióxido de carbono (CO₂)

Actualmente, el CO₂ se encuentra en la atmósfera en una concentración de 412 ppm (NASA, 2019). Esta molécula es el sustrato principal de la fotosíntesis, ya que es la fuente de carbono para la síntesis de los distintos compuestos orgánicos de las plantas. La concentración de CO₂ en el aire influye marcadamente en el crecimiento de las plantas (Bidwell, 1979; Azcón *et al.*, 2013). La mayor parte de éstas depende de la difusión del CO₂ desde la atmósfera a los estomas y posteriormente hasta los cloroplastos, donde tiene lugar la fijación del CO₂ gracias a la actividad carboxilasa de la enzima RuBisCO.

El CO₂ es un factor clave que determina la función clorofílica. Si las plantas no presentan limitaciones por otros factores, responden con un incremento en la tasa de fotosíntesis a medida que la concentración de CO₂ aumenta. Estos incrementos no son idénticos en todas las plantas, sino que varían según la fisiología de cada una de ellas (Azcón *et al.* 2013). La apertura de los estomas durante la absorción de CO₂ compromete un costo de agua para la planta. Para que

el CO₂ se difunda a través de la fase gaseosa, los estomas deben de estar abiertos, como consecuencia, se exponen las superficies húmedas del interior de la hoja a la atmósfera, lo que provoca una pérdida de agua por evaporación. Ello supone una pérdida de aproximadamente 240 moléculas de agua por cada molécula de CO₂ incorporada en la fotosíntesis (Azcón *et al.* 2013).

2.5.2 La luz

La biósfera recibe radiación solar comprendida entre los 290 nm y los 3000 nm de longitud de onda, sin embargo, la mayor proporción de la energía está concentrada entre los 380 nm y los 710 nm. Éste constituye el rango de absorción de las clorofilas y los pigmentos fotosintéticos (Manrique, 2003).

La radiación luminosa, o luz, es la fuente primaria de energía en el proceso de la fotosíntesis y ésta puede ser insuficiente para los árboles en áreas urbanas cuando es interceptada por los edificios circundantes (O'Rourke y Terjung, 1981). Cuando se da una disminución de la luz, ocurren cambios considerables en la morfología y estructura de las hojas (Smith, 2000; Wu *et al.*, 2017). Esto se debe a que la luz actúa como un factor regulador del crecimiento en diversas etapas del desarrollo de las plantas, principalmente durante la germinación, la proliferación y la expansión de las hojas; también en procesos fisiológicos como la fotosíntesis, la síntesis de clorofila y la iniciación floral (Lingyang *et al.*, 2019; Kong *et al.*, 2016). Considerando esto, únicamente sobreviven las plantas cuya fotosíntesis está adaptada a dichas condiciones de luz (Azcón *et al.*, 2013).

Existen dos tipos de adaptaciones a la luz: la de las plantas de sol (o heliófilas) y la de las plantas de sombra (o esciófilas). En los árboles se pueden presentar ambos tipos de adaptaciones, debido a que un mismo individuo puede llegar a tener hojas de sol y de sombra (Page *et al.*, 2010; Azcón *et al.*, 2013). Las características morfológicas y fisiológicas de las hojas también se ven influenciadas por las condiciones de luz en las que se desarrollan, así en las hojas de sombra (desarrolladas bajo luz débil), podemos distinguir menor engrosamiento, células más cortas y menor peso por unidad de área foliar, y en cambio, para las hojas de sol, la epidermis, el mesófilo esponjoso y los sistemas vasculares están más desarrollados (Azcón *et al.*, 2013).

De acuerdo con la información anterior, la luz en la que se desarrollan las plantas también va a generar diferencias en el aparato fotosintético; y de igual manera implica una adaptación en los pigmentos fotosintéticos (Lichtenthaler *et al.*, 2007a; Lichtenthaler *et al.*; 2013b; Azcón *et al.*, 2013).

Azcón y colaboradores (2013), mencionan que *“Las hojas de sombra poseen más grana por cloroplasto y un mayor número de tilacoides apilados por grana que las hojas de sol, además de tener un mayor número de pigmentos en las antenas de los fotosistemas (especialmente clorofila b), para lograr aprovechar la escasa radiación luminosa”*. Dicho en otras palabras, por Lichtenthaler y colaboradores (2007), las hojas de las plantas de sol tienen un mayor contenido de clorofila total y de carotenos por unidad de área que las de sombra, ya que estas últimas, se componen principalmente de clorofila b.

La concentración de clorofila y procesos fotosintéticos, no es lo único diferente entre las hojas de sol y sombra. El uso y cantidad de nitrógeno también es distinto. En el caso de las hojas de sombra, el nitrógeno es utilizado principalmente en la producción de pigmentos fotosintéticos, debido a que la luz bajo la que crecen es escasa y necesitan captar la mayor cantidad posible (Azcón *et al.* 2013).

. Las hojas de sol, invierten mayor concentración de nitrógeno en las proteínas del estroma cloroplástico, principalmente RuBisCO (Azcón *et al.* 2013).

2.5.3 La temperatura

Las plantas son altamente adaptables. La fotosíntesis en plantas, se llega a realizar en una gran variedad de regímenes térmicos y fluctuaciones (Azcón *et al.* 2013). Según lo mencionado por Azcón y colaboradores, se ha encontrado actividad fotosintética próxima a los 0°C en plantas alpinas, también cerca de los 50°C en algunas especies presentes en desiertos cálidos. Sin embargo, en la mayoría de las plantas, los cambios en la tasa fotosintética que llagan a surgir fuera del rango de temperaturas que va de los 10°C a los 35°C son irreversibles (Berry *et al.*, 1980; Ribeiro *et al.*, 2004). Generalmente, los efectos causados por la variación de la temperatura en las hojas están acompañados de otros factores ambientales como la intensidad de la luz y la concentración de CO₂ (Berry *et al.*, 1980).

La variación de este factor afecta de forma directa las reacciones enzimáticas y oscuras. Ciertos organismos pueden continuar fijando CO₂ en temperaturas muy extremas, pero en la mayoría de las plantas la fotosíntesis cesa o declina rápidamente. Sin embargo, bajo condiciones de campo (de 16°C a 29°C) la

temperatura no influye mucho en la tasa fotosintética, a menos que la intensidad lumínica sea suficientemente alta como para que las reacciones oscuras sean limitantes (Bidwell, 1979).

2.5.4 El oxígeno

La concentración de oxígeno inhibe la fotosíntesis de las plantas C3 de manera competitiva y reversible cuando está por debajo del 80%, de lo contrario, se genera una inhibición de CO₂ irreversible (Bidwell, 1979). Esta causa un daño irreparable a nivel del sistema fotosintético, probablemente por la oxidación de los fotopigmentos como los carotenos y las clorofilas. El grado de inhibición disminuye al reducir el oxígeno disponible (Bjorkman, 1987).

2.5.5 Contaminación atmosférica urbana

En la atmósfera urbana se encuentran compuestos conocidos como contaminantes atmosféricos que contribuyen a la contaminación del aire, perjudicando el desarrollo y las actividades fisiológicas y bioquímicas de las plantas que se encuentran inmersas en el área (Carreras y Pignata, 2001; Spedding, 2002). En zonas urbanas, los principales contaminantes atmosféricos son el ozono (O₃), los óxidos de nitrógeno (NO_x) y los óxidos de azufre (SO_x) (Carreras y Pignata, 1996; Takagi y Gyokusen, 2004). Se puede diferenciar a los contaminantes en primarios y secundarios (**Cuadro 1**), los primeros son vertidos directamente a la atmósfera por alguna fuente de emisión, mientras que los secundarios son generados a partir de la transformación de los contaminantes primarios (SEMARNAT, 2013).

Cuadro 1. Tipos de contaminantes en función de su origen (SEMARNAT, 2013)

Clasificación	Contaminantes	Fuentes	Características
Primarios	Óxidos de azufre (SO _x)	Combustión del azufre presente en el petróleo y carbón.	Forma aerosoles, incrementa el poder corrosivo de la atmósfera, disminuye la visibilidad y provoca lluvia ácida.
	Monóxidos de Carbono (CO)	Combustión incompleta de compuestos orgánicos (70% proviene de vehículos).	Genera dióxido de carbono (CO ₂), absorbe la radiación infrarroja provocando el efecto invernadero.
	Óxidos de nitrógeno (NO _x)	Combustión de productos fósiles.	El NO se oxida formando NO ₂ , mientras que el NO ₂ es precursor del esmog fotoquímico.
	Partículas (PM ₁₀ y PM _{2.5})	Proviene de polvo, cenizas, hollín, partículas metálicas, cemento y polen, entre otras.	Material respirable presente de forma sólida o líquida.
	Hidrocarburos (HC)	Combustión de derivados del petróleo.	Se derivan de ellos compuestos orgánicos volátiles (COV), dioxinas, furanos, bifenilos policlorados (PCB) y los hidrocarburos policíclicos aromáticos (PAH).
Secundarios	Ozono (O ₃) (ozono troposférico)	Se forma a partir del Dióxido de nitrógeno (NO ₂).	Es altamente oxidante, reactivo, corrosivo y tóxico por lo que reacciona con rapidez formando otros compuestos secundarios.
	Lluvia ácida	El SO ₂ (dióxido de azufre) y los NO _x , causan la lluvia ácida.	En presencia de agua, O ₂ y otros compuestos químicos forman ácido sulfúrico (H ₂ SO ₄) y ácido nítrico (HNO ₃) respectivamente, que se precipitan a la tierra en forma líquida
	Contaminación fotoquímica	La constituyen la luz solar y sustancias susceptibles de ser oxidadas	El esmog fotoquímico es una mezcla de contaminantes que se forman por reacciones producidas por la luz solar al incidir sobre los contaminantes primarios.

2.6. Extracción de pigmentos fotosintéticos (Clorofila total)

Para la extracción de clorofila, y su lectura a partir de la técnica espectrofotométrica, se emplean diversos disolventes orgánicos, sin embargo, no todos cumplen con las características necesarias para realizar la práctica de forma adecuada (Lallana y Lallana, 2003; Sumanta *et al.*, 2014). La clorofila se puede extraer de los tejidos gracias a su solubilidad en compuestos orgánicos como el éter y el benceno. Sin embargo, para que la extracción sea completa, los tejidos primero se deben triturar en presencia de sustancias que además de disolver los pigmentos, sean solubles en agua como la acetona o el alcohol etílico. Esto se debe a que gran parte del peso fresco de los tejidos vegetales corresponde al agua (Lallana y Lallana, 2003).

Sumanta y colaboradores (2014) mencionan que “la acetona es el disolvente más utilizado para la extracción de clorofila ya que propicia picos de absorbancia muy agudos”, sin embargo, es un compuesto muy volátil, inflamable y dañino para las cubetas de acrílico empleadas en el espectrofotómetro. Por otro lado, la exposición prolongada a la acetona puede causar daños en piel y vías respiratorias de los usuarios.

En el caso de los alcoholes, el metanol es considerado un buen extractor de clorofila en las plantas vasculares. Es menos volátil e inflamable que la acetona, pero sigue siendo tóxico, ya que se absorbe fácilmente por inhalación y por vía cutánea. Sumanta y colaboradores (2014), refieren al metanol como un disolvente que empaña las cubetas del espectrofotómetro, “lo que generaría lecturas falsas y daños en las cubetas de poliestireno y polimetacrilato de metilo”. A pesar de que no se utiliza con frecuencia, el etanol es un disolvente más seguro para su

manipulación, no es altamente tóxico y es de fácil manipulación en los laboratorios de enseñanza. Adicionalmente, su costo es menor con respecto a los disolventes descritos con anterioridad. Finalmente, no ataca al poliestireno de las cubetas ni afecta su lectura en el espectrofotómetro (Sumanta *et al.*, 2014).

Existen otros tipos de disolventes como el éter etílico, utilizado para la extracción de pigmentos puros, sin embargo, no puede ser utilizado de forma directa como extractor de clorofila debido a que no es miscible en agua (Sumanta *et al.*, 2014; Porra, 2002). Además, es extremadamente volátil e inflamable. Otro disolvente utilizado frecuentemente por su precisión en los resultados de la extracción de clorofila es el dimetilsulfóxido (DMSO), pero es más tóxico que la acetona y su costo es considerablemente más elevado (Porra, 2002).

2.7 Espectrofotetría como técnica para la determinación de la clorofila

Según Millán (2016), la espectrofotetría UV-VIS es la “técnica analítica recomendada para determinar la concentración de la clorofila a y b en las muestras orgánicas de las plantas”. Tiene como principio la medición de propiedades ópticas de la radiación electromagnética con la materia, como la absorción y la emisión de luz (así como luminiscencia) del espectro electromagnético de las regiones ultravioleta y visible. Su principal característica para el análisis químico es que permite la comparación con patrones previamente determinados, proceso conocido como calibración (Miller y Miller, 2000).

Los diversos métodos espectrofotométricos que se han desarrollado pueden ser divididos en dos grupos según lo propuesto por Vernon (1960). El primer grupo incluye métodos que permiten la determinación de clorofilas, midiendo absorbancias en la absorción máxima de las dos clorofilas y, por lo tanto, no son aplicables a un sistema con feofitinas presentes. El segundo grupo se refiere principalmente a la determinación del grado de conversión de las feofitinas e incluye varios cambios de absorbancia en relación con la concentración de clorofila.

2.8 Fundamentos de la técnica SPAD-502 Plus

El principio físico bajo el cual fue desarrollado el medidor SPAD- 502 Plus es la ley de Lambert-Beer. El medidor opera determinando la concentración de clorofila en las hojas midiendo la absorbancia en dos longitudes de onda (Minolta, 2009) (**Figura 5**). La ley de Lambert-Beer enuncia que *“la intensidad de la luz de un solo color o bien la luz monocromática (I_0) que incidente de forma perpendicular sobre una muestra o analito, decrece exponencialmente con la concentración de la muestra, que se refleja en la intensidad de la luz transmitida (I)”* (Uddling et al., 2007; Sánchez, 2018). Esta relación se puede interpretar con la siguiente ecuación:

$$A = \log_{10} \frac{I_0}{I}$$

Minolta (2009), señala que el medidor SPAD se vale de la característica óptica de la clorofila, la cual presenta picos de absorbancia en la zona azul (400-500 nm) y roja (600-700 nm) del espectro, para medir la absorbancia de la hoja en las zonas roja e infrarroja. El medidor proporciona un valor numérico denominado “Unidad SPAD”, que es equivalente a la cantidad de clorofila presente en la hoja

(Minolta, 2009). Según lo mencionado por autores como Markwell (1995), Uddling y colaboradores (2007) y Sánchez (2018), la unidad SPAD (M), surge de una proporcionalidad confidencial de Minolta, misma que se puede representar como “k” en la siguiente ecuación:

$$M = k \log_{10} \frac{I_{0(650)} I_{(940)}}{I(650) I_{0(940)}}$$

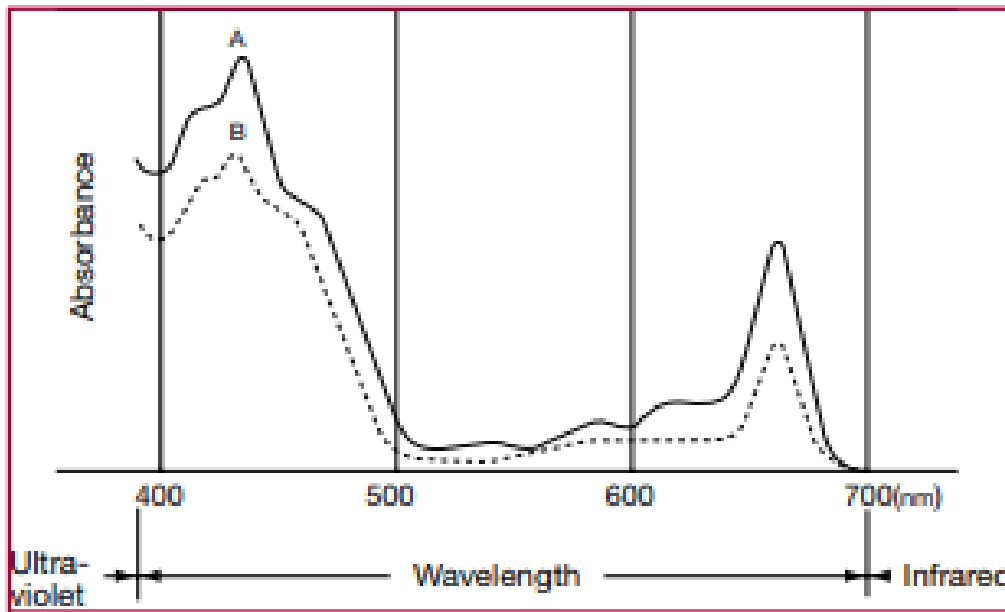


Figura 5. Absorbancias SPAD. Tomado de Minolta, (2009).

La cámara del SPAD-502 Plus sirve para vincular la fuente de Luz (LED) emisora y la receptora, que es un fotodiodo de silicio. Bajo una temperatura y humedad estándar, el aparato tiene una gran precisión en mediciones con valores comprendidos entre 0.0 y 50.0 unidades SPAD, con una variación de ± 1.0 unidad y un rango que, en condiciones extremas, puede llegar hasta las 199.9 unidades SPAD. Su repetitividad es de ± 0.3 unidades, mientras que la reproducibilidad es de

± 0.5 unidades. En la **Figura 6** se muestran de forma más detallada los componentes básicos del medidor de clorofila portátil.



Figura 6. Componentes del medidor SPAD-502 Plus. (Tomado y modificado de Minolta, 2009).

2.9. La ley de Lambert-Beer

El principio bajo el cual se rige el espectrofotómetro y el medidor portátil SPAD-502 Plus, es la Ley de Lambert-Beer. Esta ley establece que la cantidad de radiación electromagnética absorbida por un analito se puede relacionar cuantitativamente con la concentración de dicho analito en la disolución. La transmitancia (T) se define como la fracción de radiación incidente transmitida por la disolución. Si la potencia radiante que incide sobre la disolución es P_0 y P la potencia radiante que sale, entonces se cumple la expresión de la **Figura 7**.

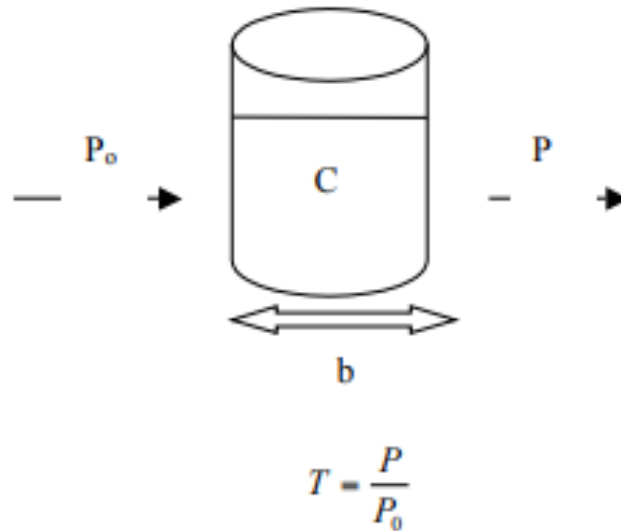


Figura 7. Energía transmitida a través de la muestra (Tomado de Arenas & López, 2004).

Arenas y López (2004), mencionan que, además, la potencia de la energía transmitida disminuye exponencialmente con la concentración (C) y con la distancia “b” recorrida a través de la disolución. Aplicando logaritmos se obtiene la siguiente ecuación: $T = 10^{-a \cdot b \cdot c}$

$$-\log T = a \cdot b \cdot c = A$$

que es la expresión matemática de la ley de Lambert–Beer, que indica la relación directa entre la absorbancia de un analito y su concentración en disolución. Cuando se usan unidades molares se llama absorptividad molar (ϵ) y se expresa en L/mol*cm (Arenas y López, 2004). Finalmente, la probabilidad de absorción de una longitud de onda está caracterizada por el coeficiente de absorción molar a esa longitud de onda (García, 2016). Si la luz de intensidad I_0 pasa a través de una sustancia de espesor d (en cm) y con una concentración molar c , la intensidad de la luz transmitida obedece la ley de Lambert-Beer: $I = I_0 10^{-\epsilon dc}$ o $\log \left(\frac{I}{I_0}\right) = -\epsilon dc$

III. ANTECEDENTES

Las primeras investigaciones realizadas para medir directamente la clorofila *in situ* se comenzaron a desarrollar durante la década de los 80's, cuando se integraron en las investigaciones de tipo agrícola los medidores portátiles. Éstos buscaban facilitar la forma de conocer el estado nutricional de las especies de interés económico a partir de la concentración de clorofila total en las hojas y así evitar su merma por la aplicación de nitrógeno en exceso. Asimismo, establecer una relación de la clorofila y el contenido de nitrógeno suministrado.

La mayoría de las investigaciones están relacionadas con la implementación de medidores portátiles, que destinan una parte de sus trabajos a la búsqueda de los disolventes orgánicos más aptos para la extracción de los pigmentos fotosintéticos. Las técnicas de extracción en la segunda mitad del siglo XIX y la primera del siglo XX presentaron imprecisiones. En el **Cuadro 2** se hace referencia a los principales estudios en los que se ha aplicado el medidor de clorofila SPAD-502 con resultados sobresalientes, las aportaciones de las investigaciones relacionadas al tipo de disolvente y a las técnicas de extracción para la clorofila. Destaca el hecho de que la técnica se ha aplicado poco en especies arbóreas y con fines de preservación ambiental, como es la comparación de la clorofila en hojas con clorosis y sin ella.

Cuadro 2. Extracción de clorofila a partir de etanol y aplicación de la técnica SPAD

Autor	Año	
Sepúlveda y Johnstone	2018	La vitalidad es un atributo compuesto, por lo cual se puede medir a partir de diversos indicadores, entre ellos: el contenido de clorofila, la concentración de almidón y de glucosa, la resistencia eléctrica cambial a la altura del pecho y el intercambio de gases en la hoja.
Sumanta et al.,	2014	El etanol como disolvente orgánico para la extracción de clorofila se considera más seguro que otros disolventes debido a su baja toxicidad y fácil manejo.
Ling et al.,	2010	El uso del medidor SPAD-502 plus es un proceso rápido y sencillo, que no requiere disolventes inflamables o tóxicos. Presenta ventajas significativas en relación con los métodos que requieren la recuperación del material biológico.
Samsone et al.,	2007	El contenido de clorofila en hojas es un indicador útil de la productividad fotosintética. El uso de métodos no destructivos para la medición de clorofila proporciona confiabilidad y eficacia.
Uddling et al.	2007	Los efectos simulados de la distribución de clorofila en la superficie de la hoja y dispersión múltiple, determinó el estado de salud de las plantas y la relación entre unidades SPAD y clorofila total.
Torres et al.	2007	El medidor portátil SPAD-502, aplicado en <i>Coffea canephora</i> arrojó lecturas inferiores a 40 unidades SPAD, marcando indicios de deterioro en el proceso fotosintético, relacionado con perturbaciones causadas por factores ambientales.
Markwell et al.,	1995	La relación entre las unidades SPAD y la clorofila total en <i>Zea mays</i> y <i>Glycine max</i> , fue obtenida a partir de la calibración con concentraciones de clorofila conocidas.
Wintermans y Mots	1965	La extracción con etanol al 96% fue eficiente para identificar clorofila a y clorofila b, además de mejorar la solubilidad de los fosfolípidos.

IV. PROBLEMÁTICA

Recientemente se probó la efectividad de medir clorofila en campos agrícolas con medidores portátiles como el SPAD-502 plus en especies de importancia económica (tomate, pepino, espinaca, coliflor y maíz) (Van den Berg & Perkins, 2004; Uddling *et al.*, 2007), sin embargo, se han realizado pocos estudios en árboles urbanos (Marenco *et al.*, 2009).

Durante los periodos de reforestación en los Bosques urbanos (1986, 1999, 2006 y 2019), no se ha implementado un método que permita conocer la vitalidad del arbolado, misma que está en relación directa con la calidad de los servicios ambientales que proporcionan. La morbilidad del arbolado censado en la ciudad de México es del 37% (principalmente parasitado por muérdago), reduciendo sus defensas, aumentando la mortalidad e incrementando el costo del tratamiento. Para conservar los árboles y los Bosques urbanos de la Ciudad de México en óptimas condiciones es necesario mantener la vitalidad de las especies que los habitan. En particular, de *F. uhdei*, que está presente en la mayoría de estos Bosques y es una de las especies nativas más abundantes identificadas entre los 3.38 millones de árboles plantados en la ciudad.

Conocer la vitalidad del fresno registrando su clorofila total en campo es una prioridad porque permitiría la dosificación de nitrógeno y otros nutrientes, mejorando su estado de salud, su relevancia ecológica y ecosistémica. Esto es importante debido a que CHA remueve 3,489.5 kg de PM_{2.5}, mientras que en SJA son removidos 27, 748 kg y en TLA 3,281 kg (Calva, 2020), mejorando la calidad del aire a la que está expuesta la ciudadanía.

A pesar de lo antes mencionado, no existe un registro de la cuantificación de la clorofila con métodos inmediatos, como el medidor de clorofila portátil SPAD-502 Plus, para la determinación de la vitalidad de los Bosques urbanos, por lo que surgen las siguientes preguntas de investigación: 1. *¿es posible determinar la vitalidad de *F. uhdei* a partir de la concentración de clorofila obtenida con el medidor portátil?* Y para ello, 2. *¿se podría establecer una relación de las unidades SPAD con unidades internacionales como $\mu\text{mol m}^2$?* De esta forma, los métodos cualitativos para determinar el estado de salud del árbol, como la escala de clorosis por ozono (RED-II), podrían ser reforzados con métodos cuantitativos.

V. OBJETIVOS

General:

Determinar la vitalidad respecto a la concentración de clorofila total registrada en los folíolos de *F. uhdei*, en los Bosques urbanos: CHA, SJA y TLA, como un parámetro de mejoramiento y conservación de los servicios ecosistémicos que brinda la especie.

Particulares:

- Implementar la técnica de medición de vitalidad (clorofila total) agrícola a especies de importancia ambiental.
- Registrar la clorofila total en los folíolos dañados y no dañados de *F. uhdei* en cada bosque urbano con el medidor SPAD-502 Plus.
- Determinar la concentración de clorofila entre los folíolos con daño y sin daño de *F. uhdei* bajo el criterio de estación y sitio.
- Definir la ecuación para convertir las unidades SPAD de clorofila total a $\mu\text{mol m}^2$ de biomas total en *F. uhdei*.
- Elaborar una escala visual en el que se pueda distinguir la coloración de las hojas (índice de vitalidad) y su relación con las unidades SPAD y su concentración de clorofila total.

VI. JUSTIFICACIÓN

El SPAD-502 Plus estima de forma rápida la concentración de clorofila en las hojas. Esto permite incrementar el número de individuos muestreados en campo sin destruir sus tejidos y sin alterar la concentración de clorofila durante el traslado de las muestras a un laboratorio. Las muestras pueden ser leídas *in situ*, lo que favorecerá la obtención de la concentración de clorofila total en los fresnos de los bosques urbanos (CHA, SJA y TLA), ya que al ser considerados áreas de valor ambiental (AVA), está restringida la toma de muestras. Adicionalmente, el medidor SPAD-502 Plus ayudará a cuantificar los cambios tendenciales en la salud de las plantas mucho antes de que sean perceptibles al ojo humano, lo que hará posible establecer una relación entre la concentración de clorofila y la vitalidad de la planta.

VII. HIPÓTESIS

La concentración de clorofila total, es consecuencia de la vitalidad de los árboles. Al cuantificarla en folíolos visiblemente dañados y no dañados de *F. uhdei*, provenientes de los Bosques urbanos CHA, SJA y TLA, se podrá determinar el estado de vitalidad entre las zonas de estudio y establecer las clases del contenido de clorofila total, asociándolas en un patrón visual que permita la identificación de la vitalidad *in situ*.

VIII. MÉTODO Y MATERIAL

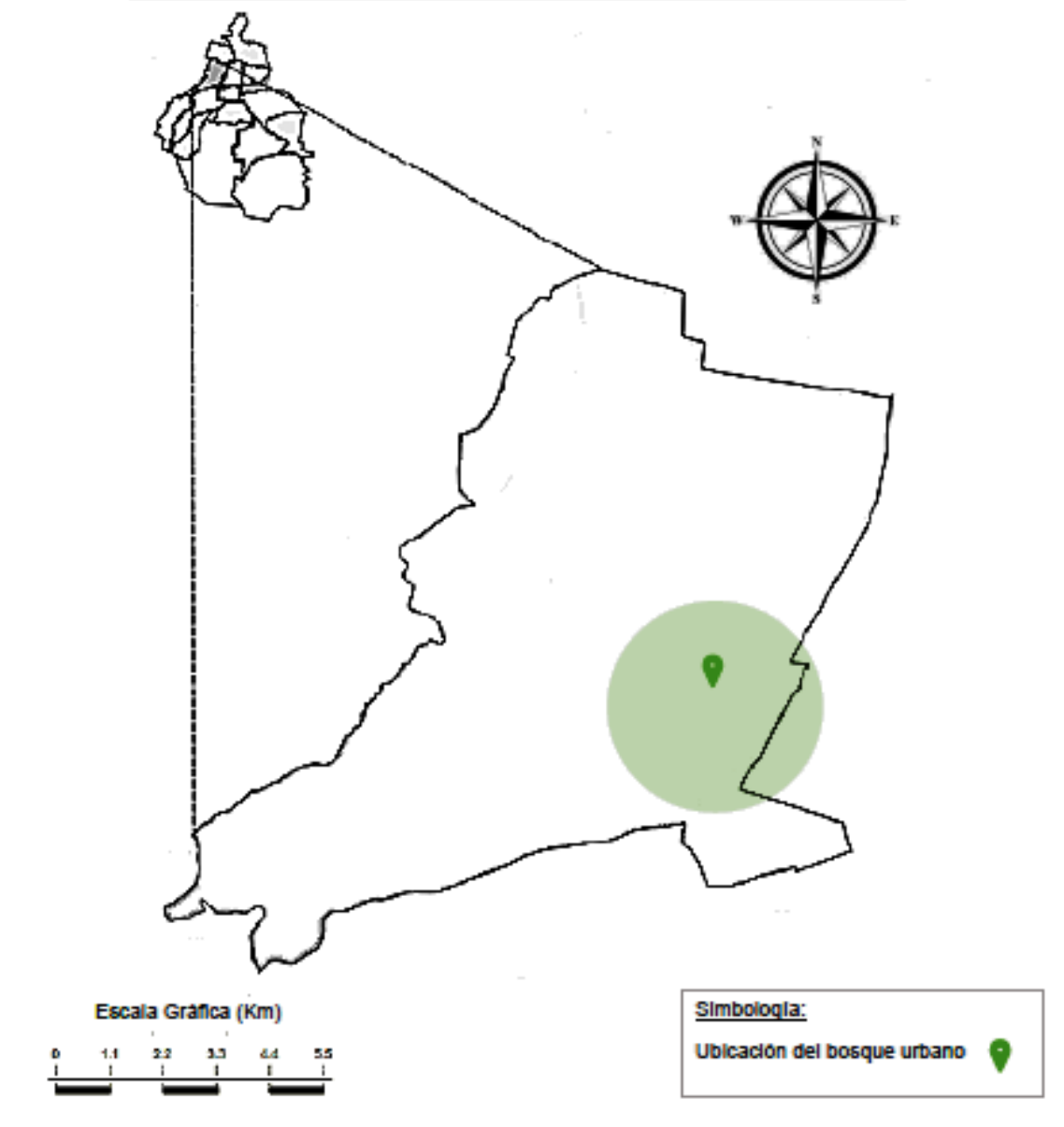
8.1 Áreas de estudio

8.1.1 Bosque de Chapultepec (CHA)

CHA se ubica en la porción occidental de la Ciudad de México, dentro del pie del monte volcánico de la Sierra de Las Cruces (alcaldía Miguel Hidalgo). Sus coordenadas geográficas son 19° 24' 47"N y 99° 11' 52" O (GFD, 2006). Este Bosque Urbano es considerado el más antiguo de Latinoamérica, con una extensión de 686 hectáreas divididas en tres secciones, representando el 52% de las áreas verdes de la Ciudad de México (CONAFOR, y SEDEMA, 2013).

La Primera Sección es considerada la parte histórica, ocupa 274.08 hectáreas, de las cuales 182 corresponden a las áreas verdes. Posee un jardín botánico y un aproximado de 55 mil árboles entre los que predominan el *Callitropsis lusitánica* (Cedro), *Ligustrum lucidum* (Trueno) y *Taxodium mucronatum* (Ahuehuete). La Segunda Sección se inauguró en 1964 para fines recreativos, cuenta con una superficie de 168.03 hectáreas. Es un espacio abierto que cuenta con 6 accesos y un aproximado de 17 mil 500 árboles, entre los que predominan también el *Eucalyptus camaldulensis* (Eucalipto), Trueno, Cedro, con la adición del fresno *F. uhdei*. La tercera sección fue inaugurada en 1974, su vocación es ambiental y en 1992 fue decretada Área Nacional Protegida. Cuenta con una superficie de 243.90 hectáreas de las cuales 137.71 son barrancas. Tiene un estimado de 85 mil 550 árboles, donde predominan el Eucalipto y *Pinus radiata* (Pino de Monterrey) (CONAFOR y SEDEMA, 2013).

Bosque de Chapultepec en la Alcaldía Miguel Hidalgo, CDMX.



Fragmentos de Imágenes vectoriales, INEGI (2020)

Elaborado por: Bryna Graciele Jiménez Barba

Laboratorio de Contaminación Atmosférica de la FES Zaragoza, UNAM

17 de mayo del 2021

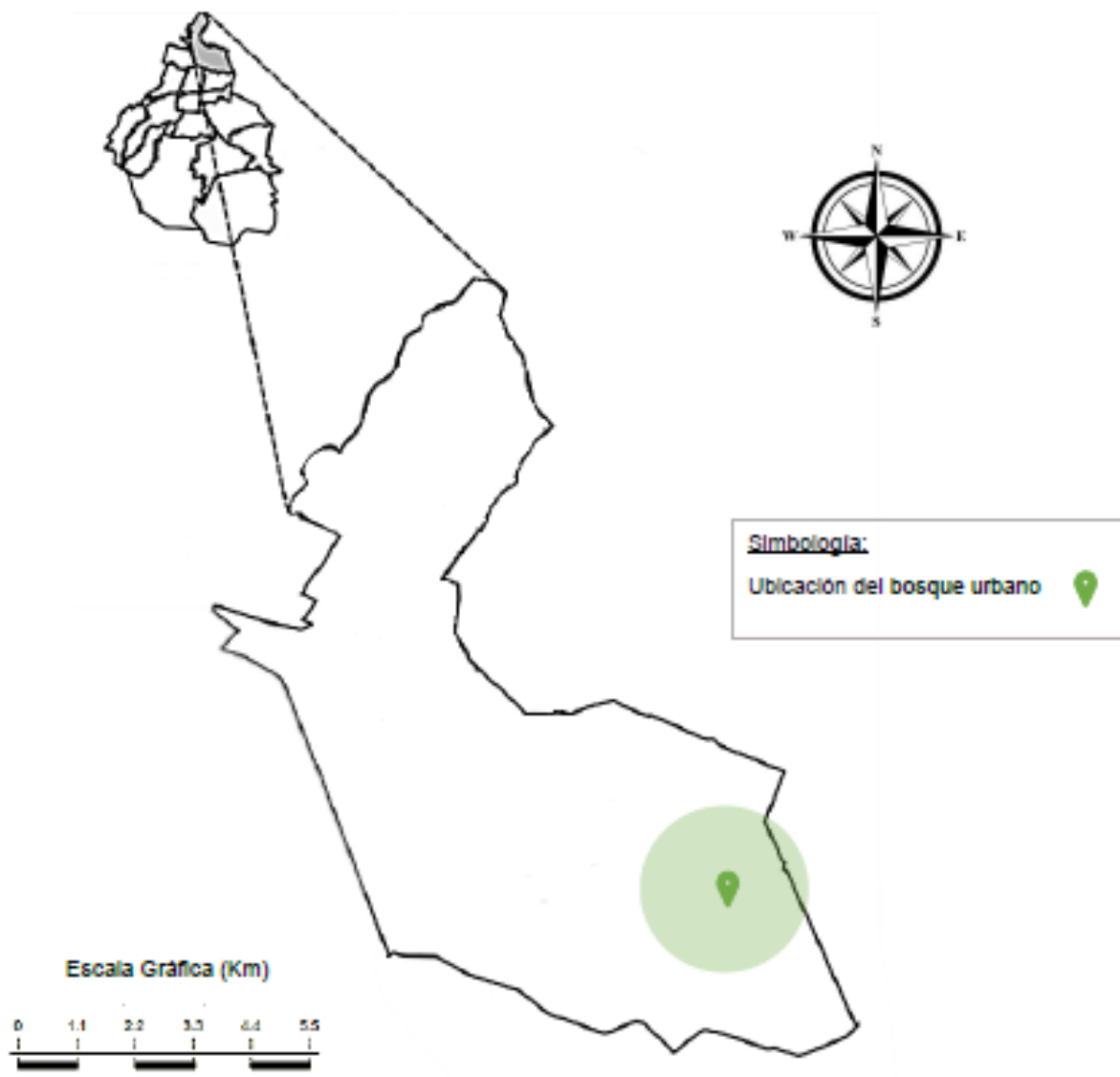
Figura 8. Bosque de Chapultepec.

8.1.2 Bosque de San Juan de Aragón (SJA)

El Bosque de San Juan de Aragón se encuentra al norte de la Ciudad de México en la alcaldía Gustavo A. Madero. Sus coordenadas son 19° 28' 00" N y 99° 28' 00" O (Bautista, 2013; GDF, 2001; SMA, 2003). Es el área verde pública más importante en el norte de la ciudad de México. Tiene una extensión de 162, 028 hectáreas, de las cuales, 114 (70.94 %) son áreas arboladas o con vegetación (Velasco *et al.* 2013).

El bosque exhibe especies arbóreas como *Cupressus lusitanica* (Cedro blanco), *Schinus molle* (Pirul), *Ulmus parvifolia* (Olmo chino), *Callitropsis macrocarpa* (Cedro limón), *Jacaranda mimosifolia* (Jacaranda), *Yucca filifera* (Palma pita), *Luma apiculata* (Arrayán), *Ficus benjaminica* (Laurel de la india), *Fraxinus uhdei* (Fresno), *Populus alba* (Álamo palteado), *Prunus doméstica* (Ciruelo rojo), *Pinus cembroides* (Pino piñonero), *Grevillea robusta* (Roble sedoso), entre otras (SEDEMA, 2018).

Bosque de San Juan de Aragón en la Alcaldía Gustavo A. Madero, CDMX.



Fragmentos de Imágenes vectoriales, INEGI (2020)

Elaborado por: Bryna Graciela Jiménez Barba

Laboratorio de Contaminación Atmosférica de la FES Zaragoza, UNAM

17 de mayo del 2021

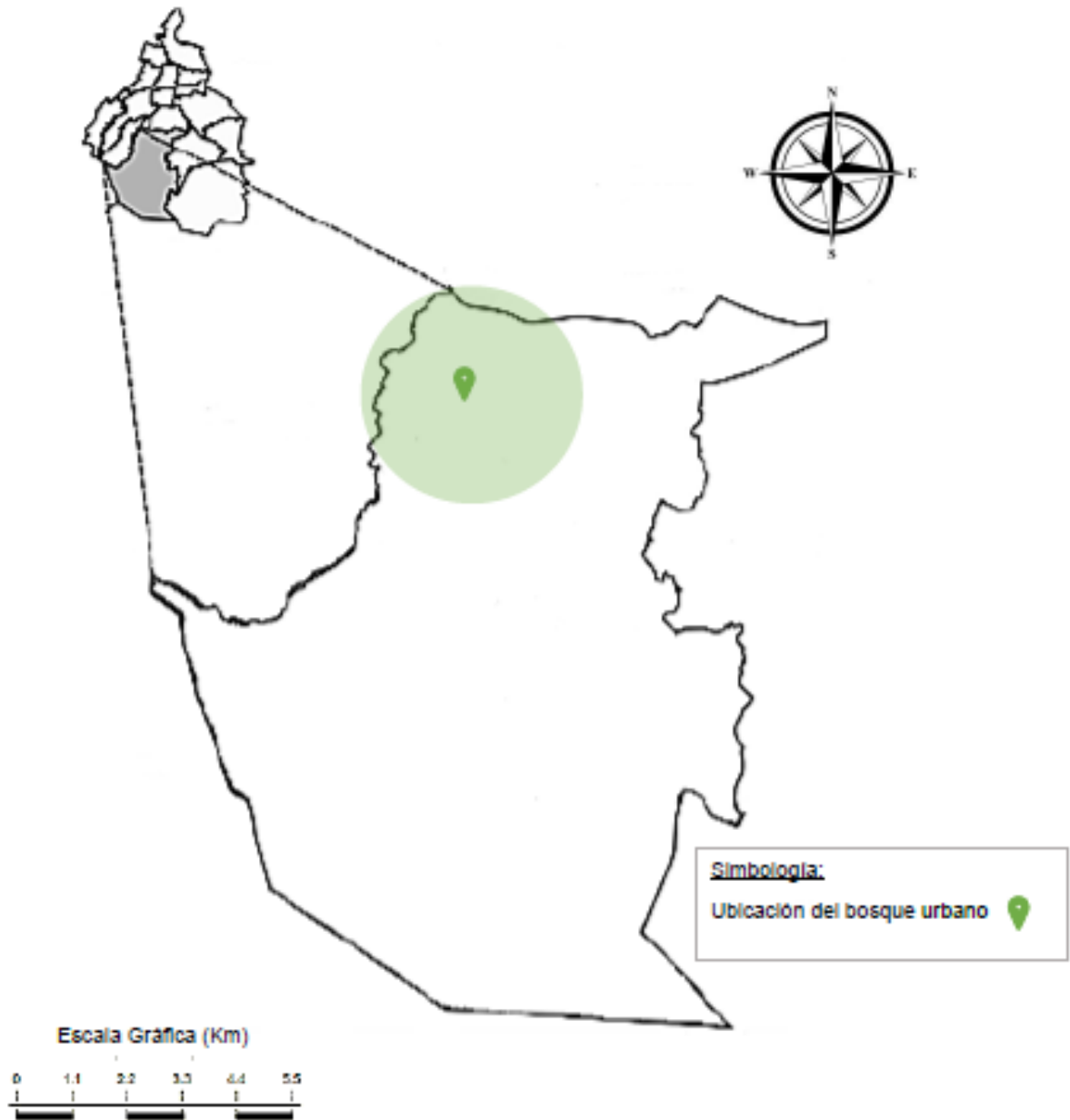
Figura 9. Bosque de San Juan de Aragón.

8.1.3 Parque Nacional Bosque de Tlalpan (TLA)

El Bosque de Tlalpan se ubica en las faldas de la Sierra del Ajusco en la zona meridional de la Cuenca de México, dentro de la alcaldía Tlalpan. En 1983, Rzedowski describe que el “Bosque de Tlalpan” pertenece a la provincia fisiográfica del Eje Neovolcánico Transversal y a la subprovincia Lagos y Volcanes de Anáhuac. Sus coordenadas son 19° 17' 36" N y 99° 11' 46" O (GDF, 2011).

En el diario Oficial de la federación (1997) se establece como área natural protegida, bajo la categoría de parque urbano. Tiene una superficie de 252.8 hectáreas (PAOT, 2009). La vegetación predominante es el matorral xerófilo, con la existencia de bosque de encinos y pinos. En el matorral predomina *Bluddleia cordata* (Tepozán), *Bluddleia parviflora* (Tepozancillo), *Dodoneae viscosa* (Chapulixtle), *Pittocaulon praecox*. El bosque está constituido por la mezcla de *Quercus crassipes*, *Quercus rugosa*, *Quercus laurina* y *Pinus teocote* (PAOT, 2009). Además, se pueden encontrar otras especies arbóreas seccionales como *Fraxinus uhdei*.

Bosque de Tlalpan en la Alcaldía Tlalpan, CDMX.



Fragmentos de imágenes vectoriales, INEGI (2020)

Elaborado por: Bryna Graciela Jiménez Barba

Laboratorio de Contaminación Atmosférica de la FES Zaragoza, UNAM

17 de mayo del 2021

Figura 10. Bosque de Tlalpan.

8.2 Trabajo en Campo

Los Bosques urbanos estudiados se escogieron porque representan la zona norte, centro y sur de la Ciudad de México. En cada uno de los Bosques se realizaron dos visitas para la colecta de datos (**Figura 11**). Durante el mes de abril y septiembre, se realizó un muestreo dirigido no probabilístico (Gómez, 2006), donde se eligieron diez ejemplares de *Fraxinus uhdei* con un rango de altura de entre 2 y 4 metros de altura.



Figura 11. Elección de los fresnos y foliolos con dañado y sin daño.

Previo a tomar la primera lectura con el medidor portátil SPAD-502 Plus, se calibró con una lente, registrando una absorbancia específica para ± 73.1 unidades SPAD, este procedimiento se repitió en cada zona de estudio. De cada árbol fueron seleccionados diez foliolos en total, de los cuales cinco se eligieron por ser

visiblemente sanos con respecto a su coloración (SD), es decir, con ausencia de daño y cinco por presentar daño aparente (CD), causado por clorosis o necrosis, (Figura 12). Antes de realizar las lecturas, cada foliolo fue limpiado de forma superficial con una brocha para retirar el exceso de partículas que pudieran llegar a interferir en la lectura (Figura 13).



Figura 12. *F. uhdei* sin daño aparente (izquierda), con daño aparente (derecha) del Bosque de San Juan de Aragón, 2019.

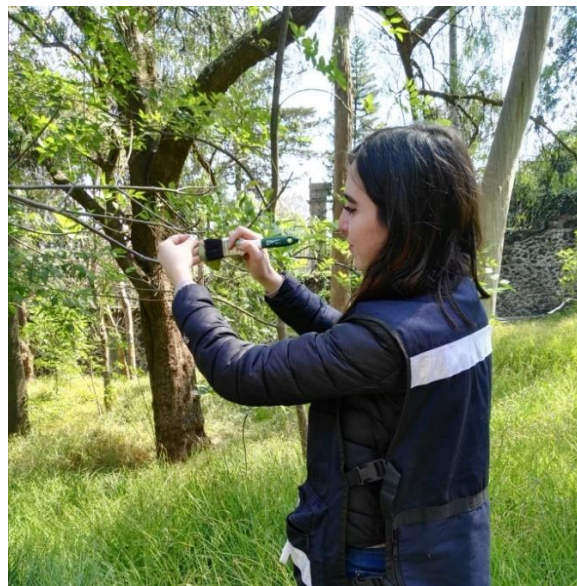


Figura 13. Limpieza de foliolos in situ (Bosque de Tlalpan, 2019).

En el **Cuadro 3**, se presenta la matriz de los datos obtenidos para los folíolos con daño y sin daño respecto a los Bosques urbanos y el mes del año en que se realizó el muestreo (abril y septiembre, representando las estaciones de primavera y otoño, respectivamente). Se registraron 5 lecturas con el medidor Minolta SPAD-502 Plus para cada folíolo, así como su valor promedio (**Figura 14**). En conjunto, de los tres bosques urbanos se obtuvieron un total de 2852 datos, de los cuales 1426 pertenecen a folíolos con daño y 1426 a folíolos sin daño.

Cuadro 3. Matriz de datos SPAD por sitio

Mes muestreado	CHA		TLA		SJA		Control	
	Abr	Sep	Abr	Sep	Abr	Sep	Abr	Sep
No. Muestras con daño	250	176	250	250	250	250		
No. Muestras sin daño	250	176	250	250	250	250		120



Figura 14. Obtención de lecturas y promedios con el medidor SPAD-502 Plus (Bosque de Tlalpan, 2019).

Con la intención de no dañar a los fresnos que se encontraban dentro de los Bosques urbanos y obtener datos de referencia para la concentración de clorofila particular de la especie, se utilizaron veinte ejemplares del vivero de Coyoacán (septiembre, 2019), que son propagados para fines de reforestación de la Ciudad de México. Para estas muestras referencia, se realizaron mediciones siguiendo el protocolo antes reportado para los folíolos en las zonas de estudio. A diferencia de los folíolos registrados en los Bosques urbanos, los de referencia se cortaron del dosel y se colocaron en bolsas herméticas previamente etiquetadas. Las muestras se almacenaron a una temperatura de entre 4°C y 10°C dentro de una hielera hasta su procesamiento en el laboratorio (Wintermans y Mots, 1965). Todos los datos obtenidos con el medidor SPAD-502 Plus fueron recuperados del software Fieldscout, que es propio del equipo.

8.3 Actividades de laboratorio

Para las muestras de vivero de Coyoacán, se empleó la técnica de extracción de clorofila propuesta por Wintermans y Mots (1965). Los folíolos fueron limpiados con agua destilada, posteriormente se dejaron secar a temperatura ambiente durante 10 minutos y se pesó 1g de materia orgánica (peso fresco). Las muestras se resguardaron en frascos color ámbar de 250 ml. En cada frasco se agregaron 20 ml de etanol al 96%, y se dejó en la obscuridad a una temperatura entre 2 y 0°C durante 72 horas (Knudson *et al.*, 1977). La solución etanol-clorofila fue decantada en matraces aforados de 50 ml, de los que posteriormente se tomaron tres alícuotas por solución de muestra (**Figura 15**).



Figura 15. Alícuotas de 3 ml con solución etanol al 96% – clorofila.

Se cuantificó la concentración de clorofila total aplicando la técnica espectrofotométrica, de acuerdo a lo descrito por Wintermans y Mots (1965) y Villanueva (2018), midiendo la absorbancia a 665 nm para clorofila a y 649 nm para clorofila b con el aparato Jenway 67 series Spectrophotometer 6700, (Figura 16).



Figura 16. Calibración de longitudes de onda, 649 nm (clorofila b) y 665 nm (clorofila a).

8.4 Actividades de gabinete

Entre los muestreos se realizó el trabajo bibliográfico para la escritura del marco teórico, así como las pruebas paramétricas y no paramétricas en los datos referencia y problema, se aceptaron como significativas aquellas diferencias en las que la probabilidad fue ≤ 0.01 . Se realizaron diversos gráficos de dispersión para la comparación y análisis de los datos agrupados por tipo de daño en folíolos y bajo criterios de estacionalidad.

Los modelos propuestos por Markwell (1995) y Parry (2004), para obtención de clorofila total en unidades universales, fueron aplicados a los datos de referencia y los datos problema para determinar el modelo con mayor ajuste a los valores de *F. uhdei*. Finalmente, a partir del modelo de Markwell (1995), se obtuvo la conversión de unidades SPAD a $\mu\text{mol m}^2$ de los datos problema para cada zona de estudio, así como una escala visual de vitalidad.

IX. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

9.1 Absorbancia SPAD de la concentración de clorofila total en folíolos SD y CD

De un total de 2,852 registros de clorofila en hojas de fresno del Bosque de San Juan de Aragón, el Área Natural Protegida del Bosque de Tlalpan y el Bosque de Chapultepec, 1,426 pertenecieron a folíolos sin daño (SD) y 1,426 a folíolos con daño (CD). Se determinó que la distribución de ambas muestras no se comporta de manera normal ($p \leq 0.01$, prueba de D'Agostino y Pearson, prueba de Shapiro-Wilk y prueba de Kolmogorov-Smirnov). Esto se puede explicar ya que alrededor del 2% de los registros se ubicaron por fuera del intervalo de confianza del 99%, sesgando

la distribución. Con base en ello, mostramos que la métrica apropiada para analizar el comportamiento de los datos en unidades SPAD es la mediana (**Figura 17**).

Considerando esto, comparamos ambas muestras con la finalidad de contrastar la teoría de que “la clorofila de las hojas con daño tiene menor absorbancia que las hojas sin daño” y encontramos una diferencia estadísticamente significativa (SD, mediana y rango intercuartil: 39.8, 36.2-43.1; CD, mediana y rango intercuartil: 38.8, 35.3-42.6. $p \leq 0.0002$, prueba U de Mann-Whitney). A partir de ello surge la pregunta de *¿qué factor influye en la asimetría de los registros de las unidades SPAD?*, por lo que analizamos los registros tomando en cuenta la ubicación del bosque y la estación del año en que se realizó la colecta como criterios de variación.

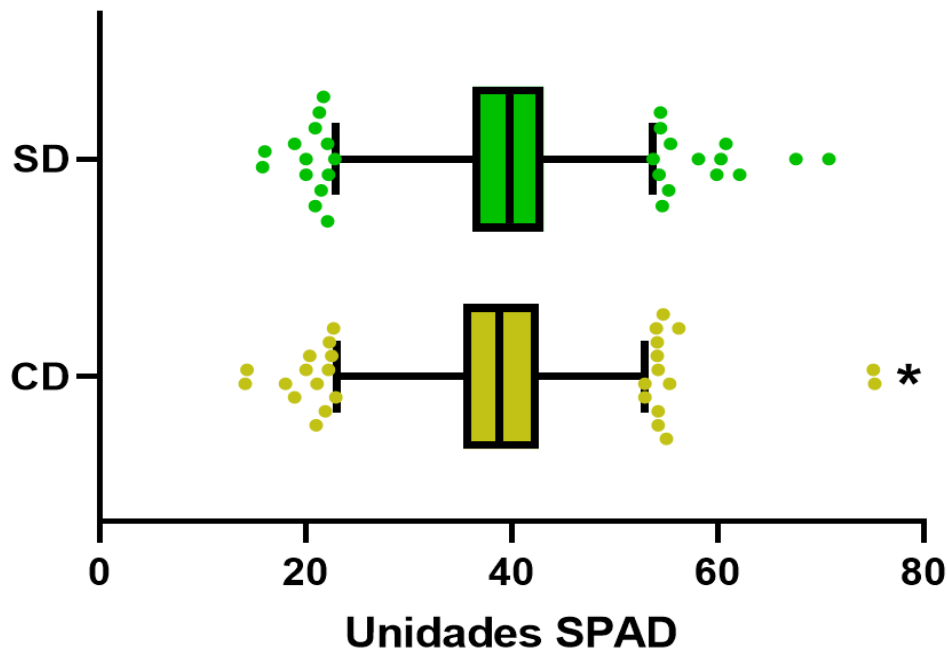


Figura 17. Mediana e intervalo de confianza del 99% de los registros de unidades SPAD para folíolos sin daño (SD) y con daño (CD). * $p \leq 0.0002$ SD vs. CD, prueba U de Mann-Whitney.

9.2 Absorbancia SPAD de la concentración de clorofila total en folíolos SD y CD considerando la ubicación como variable

Considerando la ubicación del Bosque como el único factor de variabilidad (sin tomar en cuenta el daño, ni la estación), se esperaría que los folíolos de los árboles ubicados en el centro de la ciudad, que corresponde a CHA, tuvieran una menor concentración de clorofila porque la zona está más contaminada. Sin embargo, se observó lo opuesto, una mayor concentración del pigmento en los folíolos de este Bosque en comparación con los de SJA y TLA (Mediana y rango intercuartil CHA: 40.3, 37.1-43.1 vs. SJA: 38.9, 35.53-42.98 vs. TLA: 38.6, 34.33-42.7; $p \leq 0.0001$, prueba de Kruskal-Wallis seguida de la prueba de Dunn) (**Figura 18A**). En concordancia, Azcón y Talón (2008) describen una etapa de adaptación al estrés por contaminantes atmosféricos que se caracteriza por un incremento en la síntesis de clorofila. Por lo tanto, si consideramos que la vitalidad es la capacidad del individuo para soportar el estrés (Lilly, 2001; Martínez *et al.*, 2013), CHA sería el Bosque de mayor vitalidad.

En la **Figura 18B** se muestra la comparación entre los folíolos CD y SD de cada Bosque. Se puede observar que en CHA la concentración de clorofila es significativamente mayor en los folíolos SD que en los CD (Mediana y rango intercuartil CHA-SD: 40.8, 38.2-43.3 vs. CHA-CD: 39.55, 36.48-42.80, $p \leq 0.001$, prueba de Kruskal-Wallis seguida de la prueba de Dunn). Adicionalmente, encontramos que los folíolos SD de CHA contienen más clorofila que los folíolos SD de SJA y TLA (Mediana y rango intercuartil CHA-SD: 40.8, 38.2-43.3 vs. SJA-SD: 39.5, 36.0-43.1 vs. TLA-SD: 38.8, 34.7-42.8, $p \geq 0.001$, prueba de Kruskal-Wallis

seguida de la prueba de Dunn). Esto concuerda con lo mencionado anteriormente sobre la respuesta metabólica bajo condiciones de estrés.

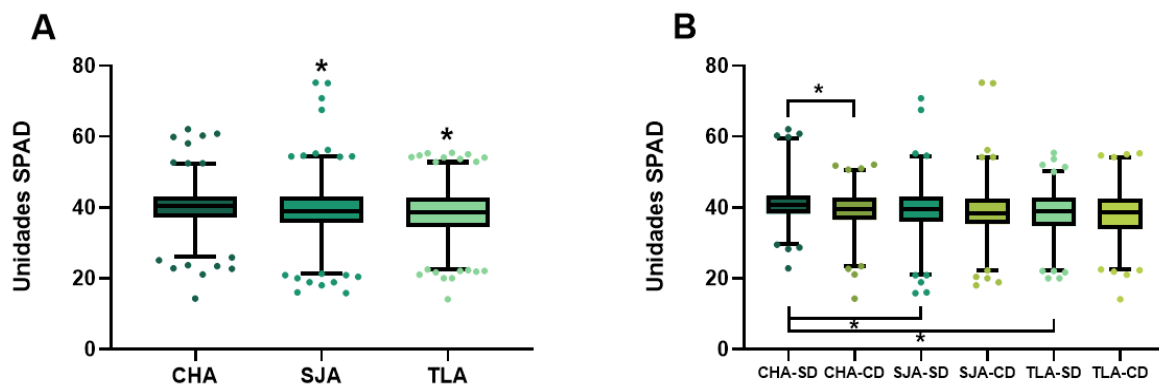


Figura 18. (A) Mediana e intervalo de confianza del 99% de los registros de unidades SPAD para folíolos obtenidos en los Bosques de Chapultepec (CHA), San Juan de Aragón (SJA) y Tlalpan (TLA). * $p \leq 0.0001$ vs. CHA, prueba de Kruskal-Wallis seguida de Dunn. (B) Mediana e intervalo de confianza del 99% de los registros de unidades SPAD para folíolos sin daño (SD) y con daño (CD) obtenidos en CHA, SJA y TLA. * $p \leq 0.001$, prueba de Kruskal-Wallis seguida de Dunn.

No se encontraron diferencias significativas entre los folíolos CD de los distintos Bosques (Mediana y rango intercuartil CHA-CD: 39.55, 36.48-42.80 vs. SJA-CD: 38.35, 35.30-42.38 vs. TLA-CD: 38.55, 33.93-42.58, $p \geq 0.9999$, prueba de Kruskal-Wallis seguida de la prueba de Dunn. **Figura 18B**). Esto se explica por el modelo de muestreo empleado, el cual, al ser dirigido, nos permitió seleccionar folíolos que presentaran un nivel comparable de clorosis sin importar la zona en la que fueron colectados.

9.1 Relación de la estacionalidad con la absorbancia SPAD en folíolos SD y CD

Con la finalidad de determinar si la estación del año en la que se realizaron los muestreos es un factor que contribuye a la asimetría de los datos antes descrita, comparamos la concentración de clorofila obtenida en abril y septiembre. No

encontramos diferencias significativas al analizar los datos de los folíolos SD y CD de los tres Bosques en conjunto (**Figura 19A**).

A pesar de que los tres Bosques estudiados se encuentran en la Ciudad de México, su orografía es considerablemente distinta, por lo que nos planteamos la hipótesis de que los efectos de la estacionalidad podrían impactar a los árboles de cada una de manera diferencial. Para contrastarla, analizamos los datos obtenidos en cada Bosque por separado. Como se muestra en la **Figura 19B**, la concentración de clorofila de los folíolos SD de CHA no varió entre ambos meses, aunque hubo una tendencia al decremento en septiembre. Por otro lado, en los folíolos CD se registró una menor concentración en este mes que sí alcanzó la significancia estadística (Mediana y rango intercuartil SD-Abr: 41.10, 37.6-44.8 vs. SD-Sep: 40.5, 38.9-42.8, $p \geq 0.9999$ y CD-Abr: 41.10, 37.1-44.1 vs. CD-Sep: 37.9, 35.1-41.2, $p \leq 0.0001$, prueba de Kruskal-Wallis seguida de la prueba de Dunn).

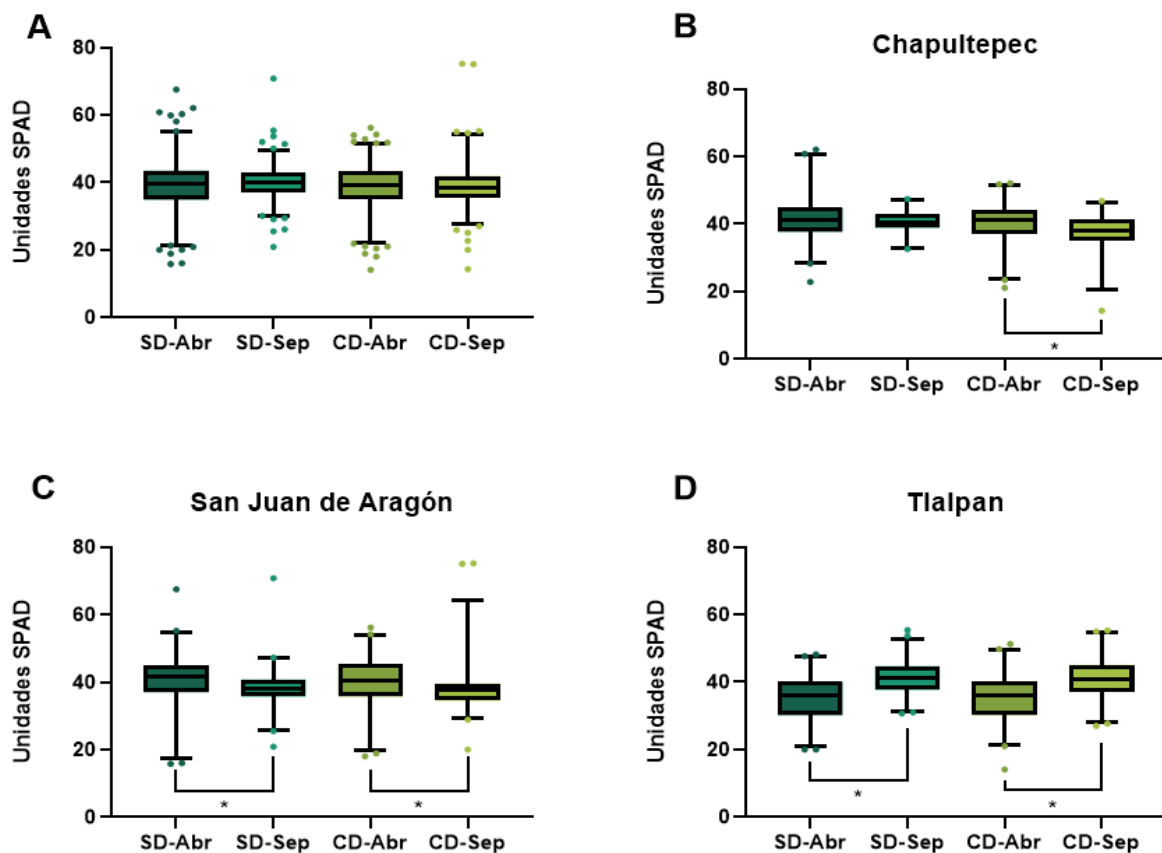


Figura 19. (A) Mediana e intervalo de confianza del 99% de los registros de unidades SPAD para folíolos sin daño (SD) o con daño (CD) obtenidos en el mes de abril (Abr) y septiembre (Sep) sin considerar el Bosque de procedencia. (B-D) Mediana e intervalo de confianza del 99% de los registros de unidades SPAD para folíolos sin daño (SD) o con daño (CD) obtenidos en el mes de abril (Abr) y septiembre (Sep) en el Bosque de Chapultepec, San Juan de Aragón y Tlalpan, respectivamente. * $p \leq 0.0001$, prueba de Kruskal-Wallis seguida de Dunn.

En el caso de SJA encontramos diferencias significativas en los dos tipos de folíolos, SD y CD. En ambos casos se detectó una menor concentración de clorofila en el mes de septiembre (Mediana y rango intercuartil SD-Abr: 41.55, 37.05-45.1 vs. SD-Sep: 38.1, 35.78-40.83, $p \leq 0.0001$ y CD-Abr: 40.55, 37.78-45.4 vs. CD-Sep: 37.5, 34.48-39.63, $p \leq 0.0001$, prueba de Kruskal-Wallis seguida de la prueba de Dunn. **Figura 19C**). En el Bosque de TLA también hubo diferencias significativas en ambos tipos de folíolos, sin embargo, se observó un patrón inverso al reportado para CHA y SJA, es decir, la concentración de clorofila fue mayor en septiembre que en

abril (Mediana y rango intercuartil SD-Abr: 36.15, 30.1-40.1 vs. SD-Sep: 41.25, 37.68-44.73, $p \leq 0.0001$ y CD-Abr: 36.1, 30.08-40.1 vs. CD-Sep: 40.9, 37.2-45.13, $p \leq 0.0001$, prueba de Kruskal-Wallis seguida de la prueba de Dunn. **Figura 19D**). Este patrón inverso explica el hecho de que en la comparación en la que no se consideró el Bosque de procedencia, no se hayan detectado diferencias dependientes de la estacionalidad.

El mayor contenido de clorofila que se observó en el mes de abril en CHA y SJA puede explicarse debido a que la capacidad fotosintética del fresno incrementa durante la primavera, ya que las condiciones generalmente se tornan favorables para el crecimiento de los árboles, lo que implica que haya una redistribución de recursos esenciales y pigmentos fotosintéticos (Millard y Thomson, 1989). Además, en primavera el nitrógeno es movilizado de los tejidos de la corteza y es utilizado para el crecimiento de hojas y botones (Tromp y Ovaa, 1973). Contrario a lo que ocurre en abril, durante septiembre se registraron valores más bajos en el contenido de clorofila de los folíolos de ambos bosques. Esto se debe a que en dicho periodo se comienza a manifestar la senescencia progresiva, perdiendo así concentración de clorofila y nitrógeno en las hojas (Malite *et al.*, 2000; Pallardy, 2008).

Como se mencionó antes, los resultados obtenidos en TLA presentan un patrón opuesto al de CHA y SJA, lo que puede ser atribuido a la densidad arbórea, lo que genera competencia entre los individuos por recursos esenciales como la luz. Esto ocurre porque las hojas se superponen en niveles o capas sombreándose unas a otras, la luz es rápidamente absorbida por las primeras capas de hojas y lo que consigue penetrar hasta las capas más bajas es una luz progresivamente menos

intensa (Vera *et al.*, 2006; Maurtua y Banzato, 2007). En este sentido, Manrique (2003) menciona que la luz es uno de los factores ambientales que son limitantes para que ocurra la fotosíntesis, por lo que se relaciona con los cambios en la concentración de clorofila. Esto se acentúa cuando hay una disminución en la cantidad de la luz que reciben los folíolos, alterando la vitalidad de las plantas.

Cabe señalar que la mayoría de las lecturas realizadas en campo fueron tomadas en un horario entre las 12:00 y las 15:00. Según lo señalado por Manrique (2003), a medida que incrementa la cantidad de radiación solar (que comienza al medio día), hay un incremento paulatino en el estado de deepoxidación del ciclo de las xantofilas. Este incremento se correlaciona con la disminución de la eficiencia fotoquímica del fotosistema II, cuantificado mediante la fluorescencia de la clorofila a, que emite la mayor parte de la fluorescencia de la clorofila total.

Si hablamos de la incidencia de la luz y la estacionalidad, tenemos que, durante el muestreo realizado en abril, el hemisferio norte se encontraba en primavera. Por otro lado, durante el muestreo realizado en septiembre, el hemisferio norte ya estaba entrando al otoño. En esta última estación, *F. uhdei* comienza a cambiar la coloración de sus hojas a un tono rojo-purpura o amarillento (CONABIO, 2014), lo cual indica un decremento en la concentración de clorofila a y un incremento de pigmentos fotosintéticos accesorios como las xantofilas. Adicionalmente, los bosques urbanos contemplados en este estudio, son afectados por contaminantes industriales y vehiculares (COCODER, 1986).

Una característica de todas las muestras de nuestro estudio fue la presencia de una cantidad considerable de datos atípicos por fuera del intervalo de confianza

del 99%. Los registros de los folíolos SD van de las 14 a 51.8 unidades SPAD y para los CD van de las 28 a las 55.2 (**Cuadro 4**). La amplitud del rango provoca un empalme de las muestras, por lo que se debe de interpretar con cautela el patrón que sugiere que existen diferencias entre la concentración de clorofila en unidades SPAD en los folíolos SD y CD.

Cuadro 4. Diferencias entre valores SPAD máximos y mínimos bajo el criterio de tipo de daño y sitio

	FOLIOLOS CON DAÑO			FOLIOLOS SIN DAÑO			FOLIOLOS DE REFERENCIA
	CHA	SJA	TLA	CHA	SJA	TLA	VIVERO
COLECTA EN ABRIL	50(+) 21.1(-)	56.2(+) 20.1(-)	51.3(+) 14.1(-)	60.8(+) 22.8(-)	67.6(+) 15.8(-)	48.2(+) 20(-)	- -
DIFERENCIA	28.9	35.8	37.2	38	51.8	28.2	
COLECTA EN SEPTIEMBRE	46.8(+) 14.3(-)	75.2(+) 20(-)	55(+) 27(-)	46.9(+) 32.9(-)	70.8(+) 20.9(-)	55.4(+) 30.7(-)	49.6(+) 29.1(-)
DIFERENCIA	32.8	55.2	28	14	49.9	24.7	20.5

Cabe resaltar que SJA es el sitio con intervalos más amplios y el que aporta mayor cantidad de registros atípicos cuando se agrupan abril y septiembre, lo que se puede atribuir a que los fresnos de ese Bosque son más jóvenes. De esta forma, las hojas son más nuevas y por ello poseen altas concentraciones de oxalatos y ácido ascórbico, sustancias imprescindibles para el crecimiento celular de las hojas y vinculadas directamente con la baja en la síntesis de pigmentos clorofílicos. Dos aspectos derivan de las observaciones anteriores: (1) que la conversión de unidades SPAD a $\mu\text{mol m}^2$ es imprescindible para que esta variable no se vea afectada por el logaritmo (coeficiente de absorbancia), que implícitamente tiene el medidor de clorofila SPAD-502. (2) Es necesario generar una magnitud numérica que permita establecer la diferencia entre las medianas con mayor certeza.

9.2 Absorbancia SPAD y su equivalencia en unidades internacionales

Los siguientes modelos, fueron aplicados a los datos de referencia (viveros de Coyoacán), para la conversión de las unidades SPAD a unidades internacionales de concentración de clorofila total.

Cuadro 5. Ecuaciones de correlación para unidades SPAD. Caducifolio (CF), Perennifolio (PF)

Autor / año	Ecuación	Unidades	Consideraciones de la fórmula	Hábito	Especie
Uddling et al., 2007	$Y = 0.363 e^{0.0452x}$ $r^2 = 0.92$	mg g ¹	Y= concentración de clorofila por especie. X= Valores SPAD 0.0452 = Ordenada al origen	CF	<i>Betula pendula</i>
Marengo et al., 2009	$Y = 0.71 e^{0.0379x}$ $r^2 = 0.90$	mg g ¹	Y= clorofila total X= Valores SPAD 0.0381 = Ordenada al origen	PF/CF	<i>Swietenia macrophylla</i> <i>Ceiba pentandra</i> <i>Carapa guianensis</i>
Markwell, 1995	$Y = 10^{(x^{0.256})}$ $r^2 = 0.94$	μmol m ²	Y= Clorofila total X= Valores SPAD 0.265 = Ordenada al origen	PF	<i>Glycine max</i> y <i>Zea mays L.</i>
Parry, 2004	SPAD = $k \cdot \text{LOG}(\text{CCI}) + C$ $r^2 = 0.99$	μmol m ²	X= Valores SPAD Y= CCI	PF	<i>Arabidopsis thalia</i> <i>Betula pendula</i>
Jiménez, 2020	Chl a: $y = 3.4633x^{0.9321}$ $r^2 = 0.93$ Chl b: $y = 2.8368x^{0.932}$ $r^2 = 0.93$	mg/ml	Y= Clorofila total X= Valores SPAD 0.0549 = Ordenada al origen	PF/CF	<i>Fraxinus uhdei</i>

Por existir una similitud entre la concentración total de clorofila y las unidades SPAD registradas en *Betula pendula*, *Swietenia macrophylla* y *Ceiba pentandra*, se aplicaron las ecuaciones de Parry (2004) y el modelo de Markwell (1995), derivado de la Ley de Lambert-Beer (Modelo óptico), en los datos obtenidos de los fresnos *F. uhdei* de referencia (**Cuadro 5**). También se probaron los modelos para *Betula pendula* (Uddling *et al.*, 2007) y especies tropicales (Marenco *et al.*, 2009), los cuales resultaron con poca relación. Debido a las unidades que maneja cada autor para sus ecuaciones, hay una diferencia significativa entre todas las medias, con un 95% de confianza. Al sustituir los datos problema en cada uno de los modelos propuestos, se obtuvo una mayor correlación con Markwell (1995) y Parry (2004).

9.3 Clorofila total en $\mu\text{mol m}^2$ mediante los modelos de Markwell y Parry

Como resultado de la aplicación del Modelo de Markwell (1995), se obtuvo un modelo exponencial con un coeficiente de determinación (r^2) de 0.9984, lo que indica un alto ajuste entre las unidades universales de concentración de clorofila total ($\mu\text{mol m}^2$) y las unidades SPAD. El obtenido para *F. uhdei*, al aplicar la ecuación de Markwell (1995), se expresó con un $r^2=0.9984$ (**Figura 20**), siendo mayor que el ajuste de la propia ecuación aplicada en *Glycine max* y *Zea mays*, donde ambas obtuvieron una $r^2=0.94$. El valor derivado de r^2 para la ecuación de Parry (2004) es de 0.9977 y, de igual manera, es un modelo de tipo exponencial (**Figura 21**).

Clorofila total a partir del modelo propuesto por Markwell (1995) vs. unidades SPAD

$$\text{Markwell} = \exp(4.21461 + 0.0164023 \cdot \text{SPAD})$$

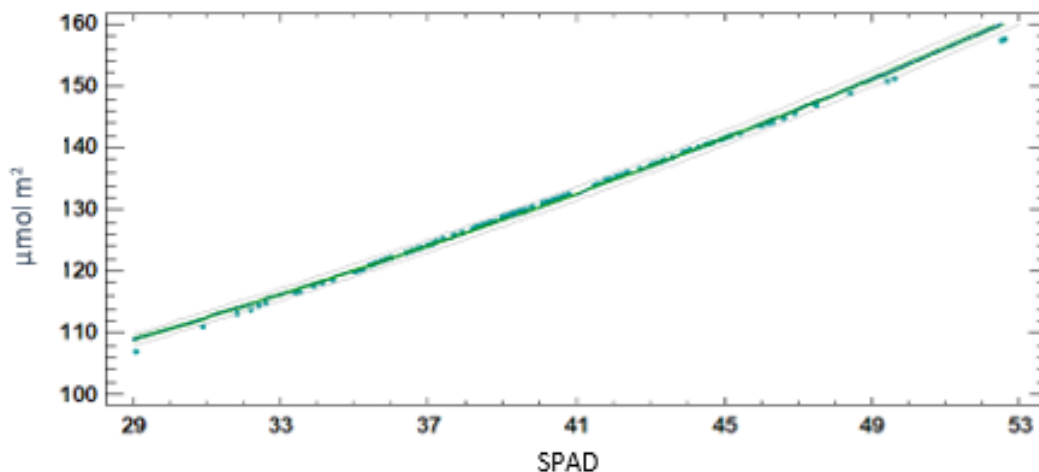


Figura 20. Conversión de unidades SPAD a $\mu\text{mol m}^{-2}$ a partir de la ecuación de Markwell (1995), basada en el modelo óptico.

Clorofila total a partir del modelo propuesto por Parry (2004) vs. unidades SPAD

$$\text{Parry} = \exp(0.600943 + 0.0636012 \cdot \text{SPAD})$$

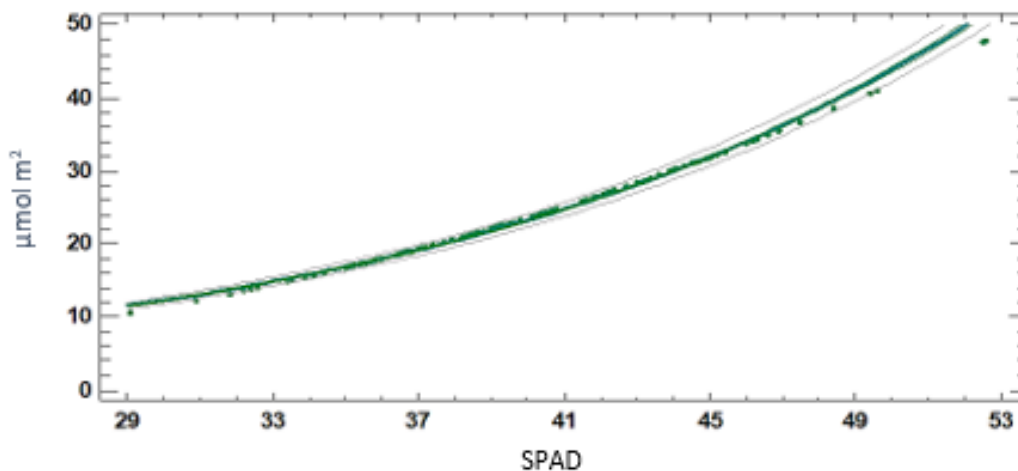


Figura 21. Conversión de unidades SPAD a $\mu\text{mol m}^{-2}$ a partir de la ecuación de Parry (2004).

En la **Figura 22** se agruparon las distribuciones con la finalidad de tener una representación general del contenido de clorofila en unidades SPAD y las unidades proporcionadas en las ecuaciones de Markwell y Parry. A pesar de que las

correlaciones de ambos modelos son muy cercanas, se eligió la ecuación de Markwell (1995) por tener mayor ajuste con los datos problema y referencia, además de derivarse del mismo principio que el medidor de clorofila SPAD-502 Plus. No se concluyó una ecuación propia de la especie debido a que la obtenida a partir de la curva de calibración únicamente explicaba los registros SPAD del rango medio hacia los mínimos, dejando un gran número de registros máximos excluidos.

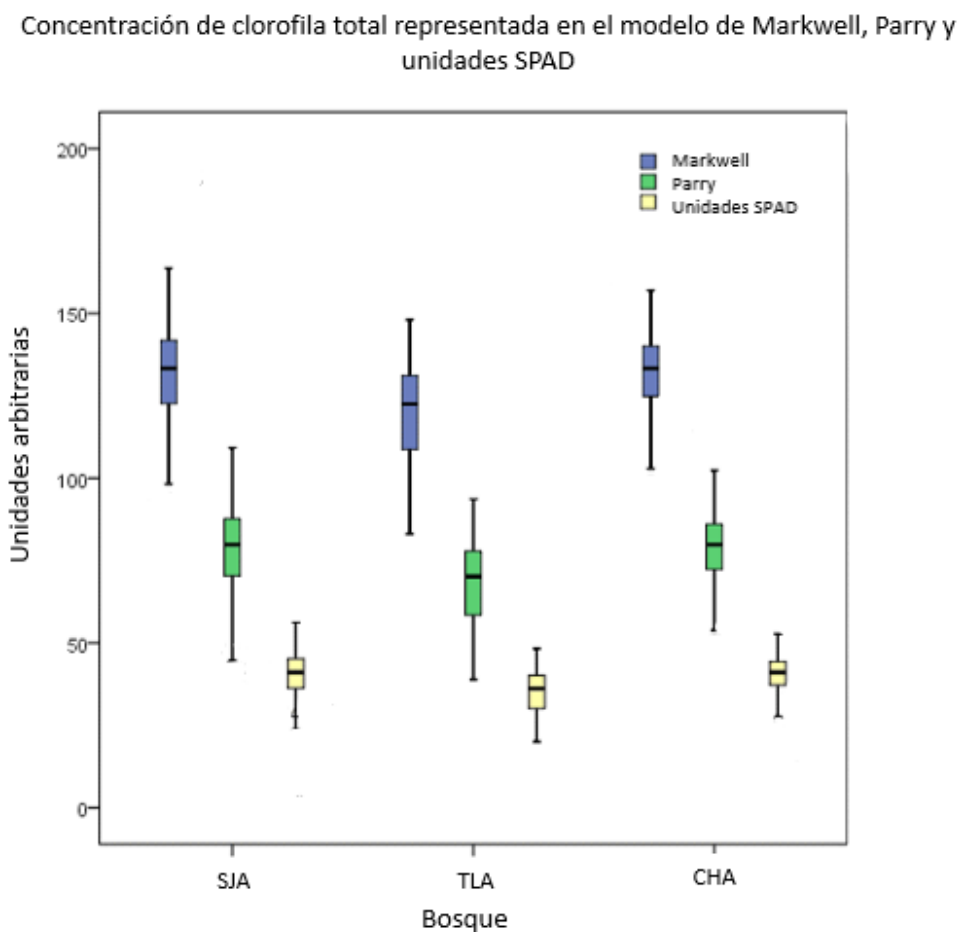


Figura 22. Representación gráfica de la concentración de clorofila total obtenida con los modelos de Markwell (1995), Parry (2004) y unidades SPAD. Clorofila total en $\mu\text{mol m}^2$ por zona de estudio.

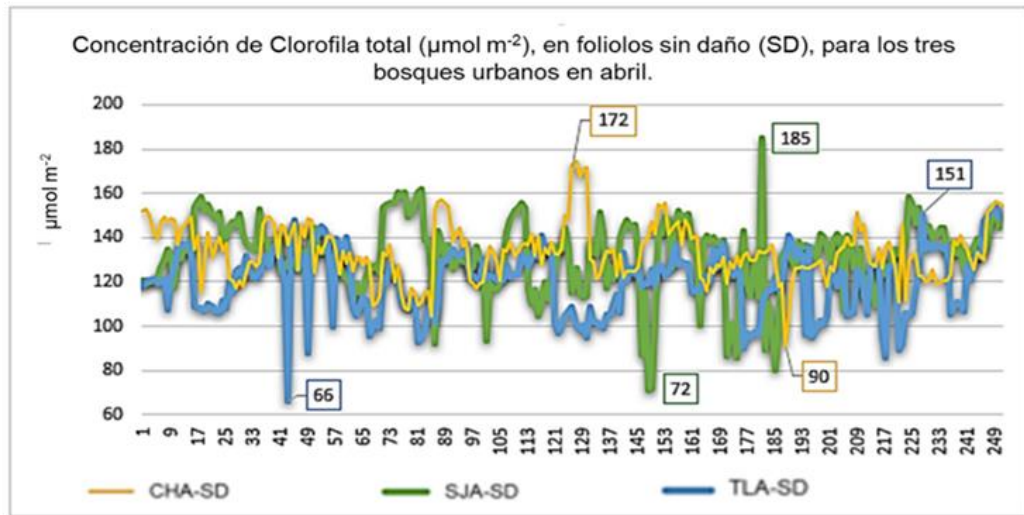
9.4 Concentración de clorofila total en $\mu\text{mol m}^2$ por zona de estudio

En la **Figura 23**, se puede observar que CHA tiene una fluctuación más uniforme que se mantiene entre los valores medios (120 a 140 $\mu\text{mol m}^2$) para los folíolos sin daño en abril. Los valores de los folíolos SD de TLA para el mismo mes marcan una mayor cantidad de picos de distribución en los valores mínimos, mientras que en SJA para los valores máximos (**Figura 23A**). En la **Figura 23B**, que muestra los datos obtenidos en septiembre, SJA es quien aporta mayor cantidad de valores extremos, tanto para los valores mínimos como para los valores máximos. En el caso de TLA, los valores se distribuyen principalmente hacia valores medios y máximos (110 a 162 $\mu\text{mol m}^2$).

En la **Figura 24** se representan los valores de concentración de clorofila total de los folíolos CD que surgieron de la aplicación del modelo de Markwell, para cada lectura obtenida con el medidor portátil SPAD-502 Plus. El Bosque de CHA, en ambos gráficos, mantiene una distribución más uniforme y cercana a los valores máximos, lo cual coincide con lo descrito en los resultados anteriores.

Los picos más cercanos a los valores mínimos para los folíolos CD en abril, una vez más, son generados por TLA, mientras que los más altos son aportados por SJA (**Figura 24A**). Finalmente, para los folíolos CD del mes de septiembre, es SJA quien aporta mayor cantidad de picos máximos de concentración y CHA los mínimos, sin embargo, ambos fluctúan entre los valores medios, que van de los 120 a los 140 $\mu\text{mol m}^2$ (**Figura24B**).

A



B

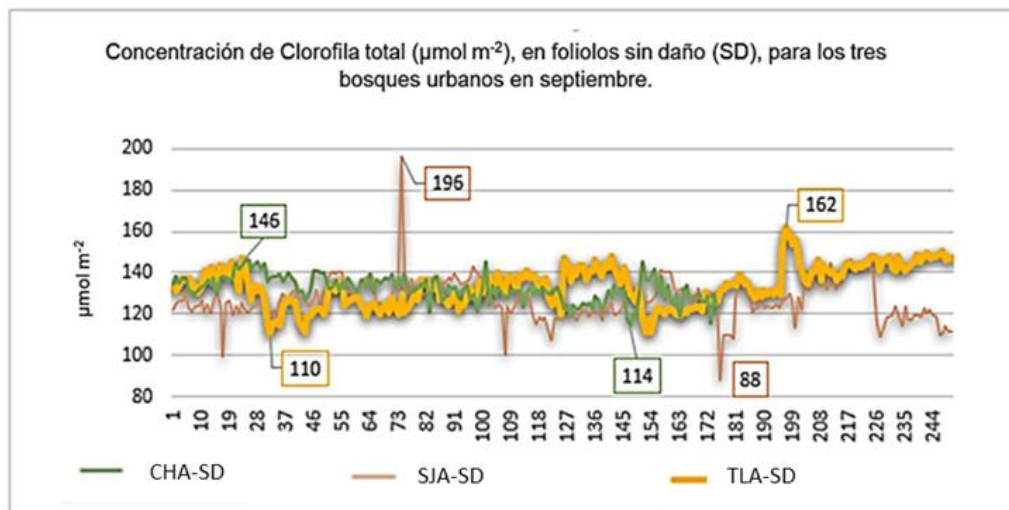
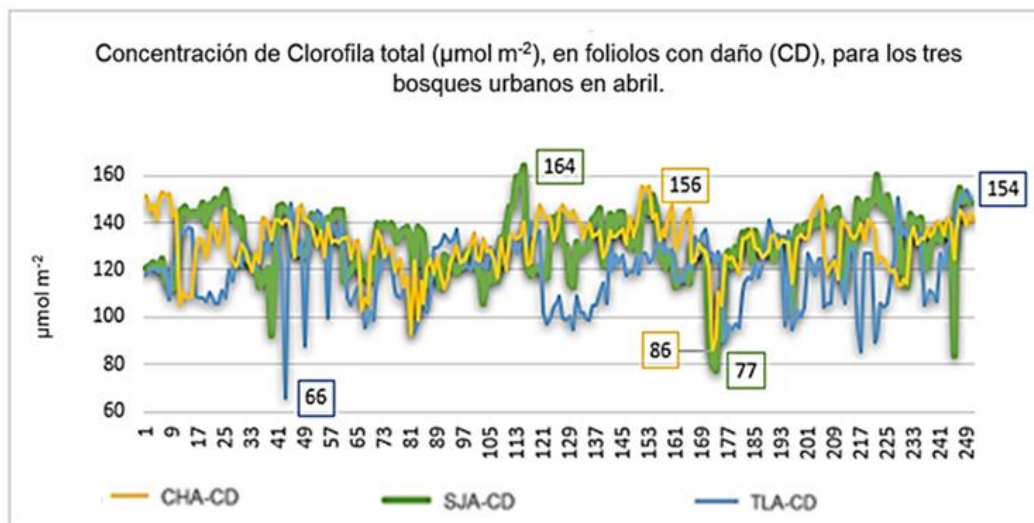


Figura 23. (A) registros de unidades en $\mu\text{mol m}^{-2}$ para foliolos sin daño (SD) obtenidos en el mes de abril en los Bosques de Chapultepec (CHA), San Juan de Aragón (SJA) y Tlalpan (TLA). (B) registros de unidades en $\mu\text{mol m}^{-2}$ foliolos sin daño (SD) obtenidos en el mes de septiembre en CHA, SJA y TLA. El eje de las "X" para ambas gráficas, representa el número de lectura.

A



B

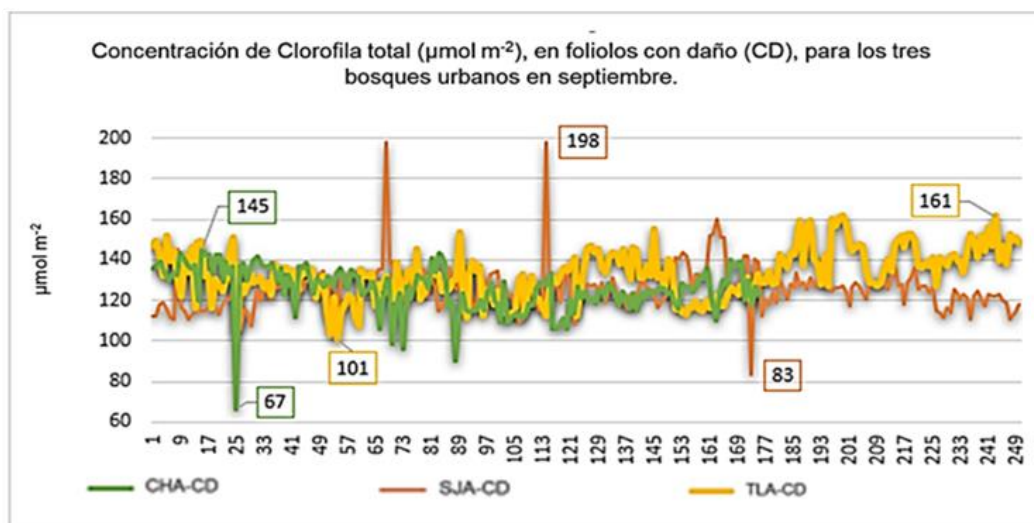


Figura 24. (A) registros de unidades en $\mu\text{mol m}^{-2}$ para folíolos con daño (CD) obtenidos en el mes de abril en los Bosques de Chapultepec (CHA), San Juan de Aragón (SJA) y Tlalpan (TLA). (B) registros de unidades en $\mu\text{mol m}^{-2}$ folíolos con daño (CD) obtenidos en el mes de septiembre en CHA, SJA y TLA. El eje de las "X" para ambas gráficas, representa el número de lectura.

Como anteriormente fue mencionado, los Bosques de CHA y SJA marcan una menor concentración de clorofila total en septiembre, sin importar las unidades en las que se esté representando. Esto nos reitera que, durante la senescencia, las células foliares se someten a un proceso bastante ordenado, en el cual surgen cambios en la estructura celular y el metabolismo. Los primeros cambios, y a su vez los más significativos, son la ruptura de los cloroplastos (Santos & Marengo, 2016). Adicionalmente, cabe resaltar que los Bosques urbanos contemplados para nuestro estudio son altamente vulnerables a los contaminantes industriales y vehiculares de la CDMX (COCODER, 1986).

En la **Figura 25**, se hace referencia al tipo de industrias que se encuentran más cercanas a las zonas de estudio (COCODER, 1986). En CHA son las de tipo hulera, refinería, vidrio, metalurgia, termoeléctrica, asfalto, fundiciones y la cementera. Para SJA, son principalmente: fundición, química, jabón y detergente, pesticidas, metalurgia no ferrosa y la tabiquera. En el caso de TLA, principalmente hay cercanía con las tabiqueras, de asfalto, celulosa y papel (COCODER, 1986).

La fabricación de los pesticidas es una de las actividades de mayor riesgo para el medio ambiente y el desarrollo de las plantas. En menor o mayor concentración, todas las zonas de estudio están cercanas a alguna fábrica de este tipo, lo que puede interferir en las lecturas realizadas.

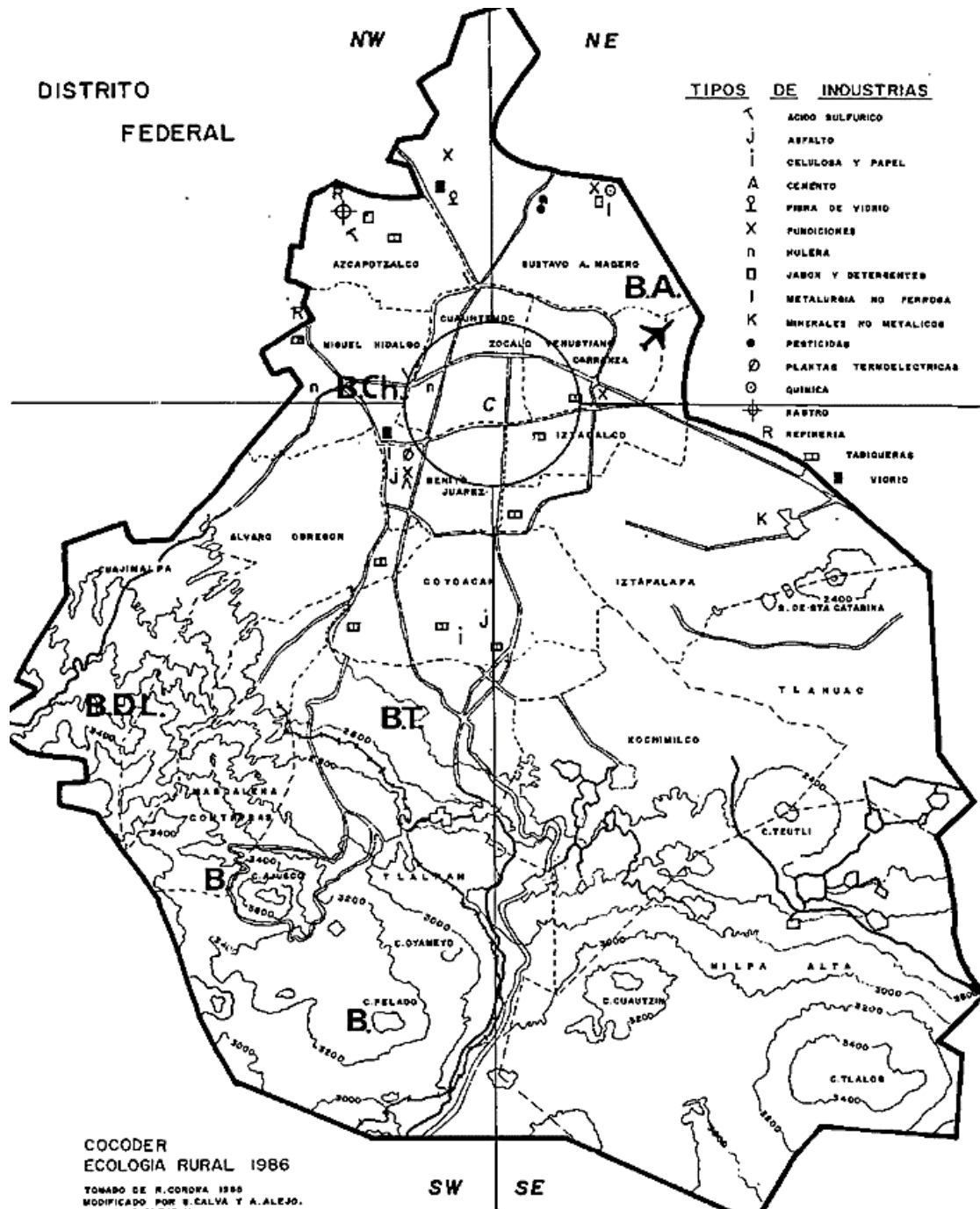


Figura 25. Distribución de los principales tipos de industria en la CDMX, (COCODER, 1986).

9.5 Patrón de vitalidad procedente de la coloración y concentración de clorofila total en $\mu\text{mol m}^2$ y Unidades SPAD

Como fue mencionado anteriormente, no fue posible realizar un muestreo para la recaudación de datos referencia de los fresnos de Coyoacán durante los mismos meses en los que se realizaron para los datos problema. Obtener datos referencia para los mismos meses que los datos problema permitiría realizar una curva patrón para cada temporada y sitio. Esto se podría emplear en una comparación directa de las unidades SPAD, ya que las condiciones de los ejemplares del vivero representarían las condiciones y concentraciones óptimas requeridas para la especie. Dicho lo anterior, las siguientes gráficas de los datos problema, brindan los rangos representativos de la concentración de clorofila de *F. uhdei*, bajo condiciones ambientales urbanas.

En la **Figura 26**, se relacionan las unidades SPAD con su equivalencia en $\mu\text{mol m}^2$ y su color respectivo (verdor). El mayor intervalo de coincidencia corresponde al que va de 36.8 a 41.6 unidades SPAD, que estaría representando el 45% de los datos.

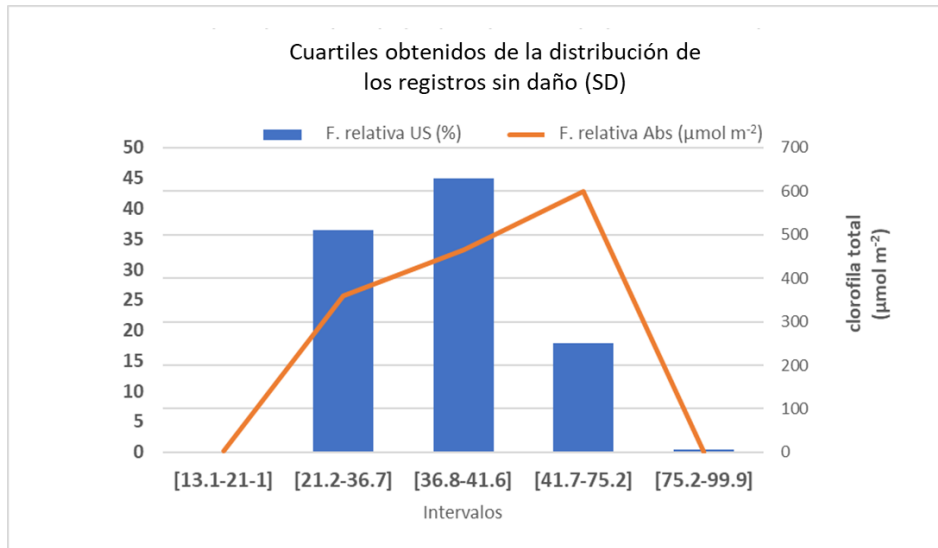


Figura 26. Empalme de las distribuciones de totalidad y frecuencia relativa de unidades SPAD (Absorbancia de clorofila total) y frecuencia absoluta de la clorofila total (tonalidad).

En la **figura 27** se muestran los intervalos registrados de unidades SPAD en foliolos SD, siendo el intervalo de 36.8 a 41.6 el de mayor frecuencia (55%), seguido de 44.4 a 75.2 unidades SPAD, con una frecuencia aproximada del 22%, el otro 23% de datos se distribuye entre los 4 intervalos siguientes (todos representando unidades menores a 37.2).

Para los registros de unidades SPAD en foliolos CD, se obtuvieron mayor cantidad de intervalos. El intervalo con mayor frecuencia, con un 55%, va de las 37.3 a 44.3 unidades SPAD, seguido por el intervalo de 44.4 a 75.2 unidades (con una frecuencia del 21%) y en tercer lugar se encuentra el intervalo de 32.9 a 37.2 unidades SPAD, con una frecuencia del 19% (**Figura 28**).

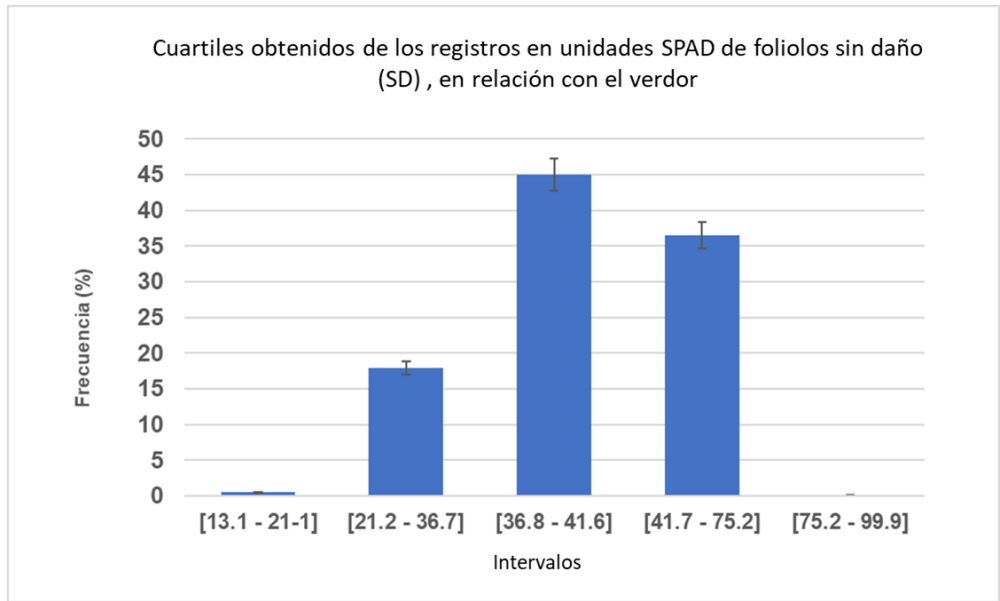


Figura 27. Intervalos en unidades SPAD para foliolos SD, para la relación de coloración registrada en las zonas de estudio.

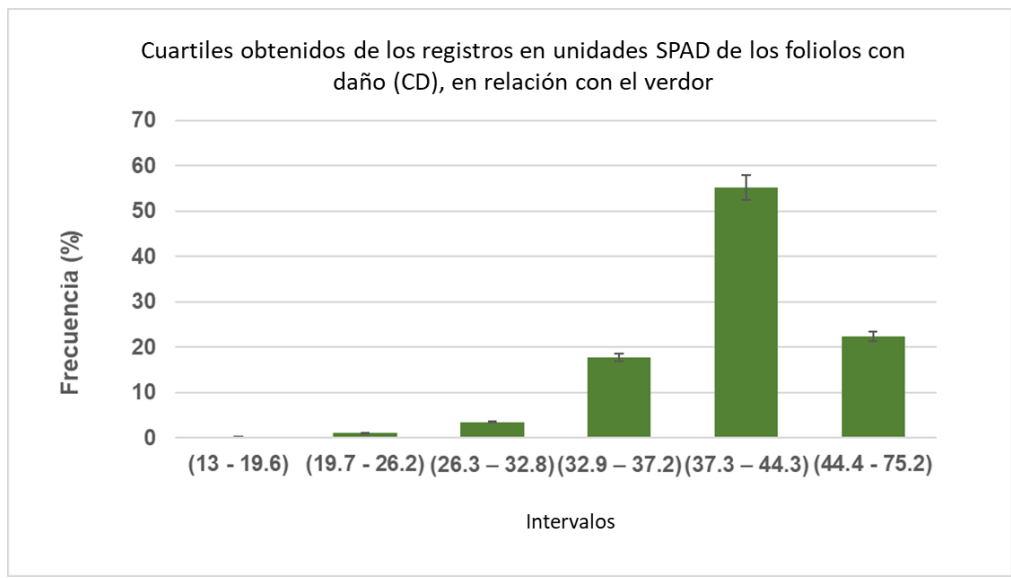


Figura 28. Intervalos en unidades SPAD para foliolos CD, para la relación de coloración registrada en las zonas de estudio.

De las gráficas anteriores, destaca que ambos grupos registraron la mayor frecuencia entre el 45% y 55 %, que corresponden a los intervalos que van de las 40.0 a 75.0 unidades SPAD. La medición del contenido de clorofila en las hojas de los árboles es una forma de estimar la vitalidad debido a que durante la fotosíntesis se produce la clorofila, la cual tiene una baja en su concentración cuando se encuentra bajo factores de estrés (Taiz y Zeiger, 2010) lo que se manifiesta en la coloración de la hoja como indicativo visual.

Las clorofilas absorben de un 70% a 90% de luz entre los 430 y 450 nm (región azul) y entre 640 y 660 nm (región roja) de longitud de onda, mientras que la baja absorción se produce a 550 nm (Madeira *et al.*, 2003). El color foliar indica la nutrición (Munsell, 1929) y la vitalidad de las plantas. En 1929, Munsell estableció una relación del color de las hojas (a partir de paneles de seis y cuatro colores verdes), como un indicador de la deficiencia de nutrientes para la planta. Sin embargo, esta relación de coloración en plantas de cultivo (espinaca, frijol, maíz, coliflor, brócoli, etc.) se implementa más como auxiliar para procesos de fertilización, debido a que facilita la detección de las deficiencias de fósforo, calcio, potasio, nitrógeno, pero no así para ecosistemas urbanos donde el estrés por contaminación altera los registros.









El nivel de vitalidad de las plantas, la disponibilidad de recursos y la senescencia se puede inferir a partir del color de la hoja (Hao *et al.*, 2010). Para ello, proponemos la siguiente escala de verdor (**Cuadro 6**), que surge de los intervalos de unidades SPAD, descritos anteriormente. Las fotografías en la escala se tomaron en el sitio indicado en la última columna, sin embargo, los intervalos corresponden al muestro en general. La tonalidad verde en la hoja es determinada

principalmente por las propiedades espectrales de los pigmentos fotosintéticos, siendo la clorofila la responsable de proporcionar dicha característica.

Retomando los intervalos de unidades SPAD para los folíolos SD y CD, descritos en las figuras 29 y 30, la mayor cantidad de registros para los folíolos SD entraría en la clasificación de color "V3", con intervalos de unidades SPAD que van de 37.2 a 44.3, equivalentes al intervalo de 125 a 140 $\mu\text{mol m}^2$ (**Cuadro 6**). Para los registros CD, la coloración o verdor correspondiente, según sus intervalos de unidades SPAD, quedaría entre "V2" (dentro del intervalo de 32.8 a 37.2 unidades SPAD, equivalentes al intervalo de 115 a 125 $\mu\text{mol m}^2$) y "V3" (**Cuadro 6**).

La escala que proponemos en este estudio facilitará la detección de la vitalidad y estado de nutrición en el que se encuentran los ejemplares de *F. uhdei*, de forma rápida y sencilla. Esto se traducirá en un beneficio económico, ya que ayudará a la conservación de la especie dentro de los Bosques urbanos principales de la CDMX, evitando el uso de aparatos costosos.

Cuadro 6. Escala de vitalidad respecto a la concentración de clorofila en unidades SPAD y coloración en foliolo de *Fraxinus uhdei*

Foliolo de referencia	Clasificación por color (Código RGB)	Intervalos en Unidades SPAD	Intervalos en $\mu\text{mol m}^2$	Zona de Estudio
	 VI	(26.2 – 32.8)	(99 – 115)	SJA
	 V2	(32.8 – 37.2)	(115 – 125)	SJA
	 V3	(37.2 – 44.3)	(125 – 140)	CHA
	 V4	(44.4 - 75.2)	(140 – 198)	TLA

X. CONCLUSIONES

- A partir de la concentración de clorofila total, obtenida con la técnica SPAD, logramos identificar la vitalidad de *F. uhdei* en diferentes intervalos de concentración, por lo que la técnica de medición también es funcional en especies de importancia ambiental.
- Establecimos una escala visual que relaciona la concentración de clorofila en $\mu\text{mol m}^2$ y las unidades SPAD, vinculados al verdor de los folíolos en *F. uhdei*, que se podrá implementar como herramienta para el mejoramiento y conservación de la especie, preservando así los servicios ecosistémicos que brinda a la población de la CDMX.
- La escala visual, nos permite, con un 95% de confianza, identificar *in situ* el verdor y la concentración de clorofila aproximada para cada folíolo de *F. uhdei* de forma rápida, en los casos donde no se cuente con el medidor SPAD-502 Plus.
- Encontramos una diferencia significativa entre la concentración de clorofila de los folíolos SD y CD con una $p \leq 0.0002$.
- El Bosque de TLA presentó un patrón inverso de concentración de clorofila, teniendo mayor concentración en el mes de septiembre y menor en abril, lo que se atribuye principalmente a la densidad arbórea de la zona.
- Considerando el término de vitalidad en árboles como la capacidad de resistencia al estrés, CHA sería el de mayor vitalidad debido a que presenta

mayor concentración de clorofila a pesar de encontrarse en una zona altamente contaminada, como lo es el centro de la CDMX.

- Seleccionamos la ecuación de Markwell (1995) para la conversión de unidades SPAD a $\mu\text{mol m}^2$ debido a que tuvo mayor correlación ($r^2=0.99$) y su principio se rige bajo la ley de Lambert-Beer, al igual que el medidor portátil SPAD-502 Plus.
- El bosque de San Juan de Aragón aportó mayor cantidad de datos atípicos respecto a la concentración de clorofila, mismo que influyó en el ajuste de la ecuación propuesta por Markwell (1995).
- El medidor portátil SPAD-502 Plus es funcional para especies forestales y práctico para llevar a cabo proyectos ambientales que requieran de la cuantificación de clorofila total *in situ*, sin embargo, se debe considerar la morfología de las hojas de la especie en cuestión para evitar interferencias en las lecturas.
- No es necesario comprar un medidor automático toda vez que se aplique la escala de coloración y se asegure su confiabilidad para el registro de la vitalidad.

XI. SUGERENCIAS DEL ESTUDIO

- Debido al alto índice de intercambio gaseoso, es recomendable evitar que las lecturas se realicen a las 12:00 horas.
- Es fundamental que la superficie de la hoja que será analizada comprenda el área del cabezal completamente y no se abarquen las venas principales.
- Se deben tomar como muestra a los folíolos más pegados al tronco, todos dentro del mismo cuadrante y orientación.
- Al aplicar la técnica SPAD en medios no controlados, se debe considerar que las unidades pueden variar debido a las condiciones externas y a la genética de la especie.

XII. REFERENCIAS

- Alberti, M., (2008). *ADVANCES IN URBAN ECOLOGY -Integrating Humans and Ecological Processes in Urban Ecosystems*. USA, Washington. University of Washington Seattle. 379 pp.
- Arenas, S.I; López, S.J.L. (2004). *Espectrofotometría en absorción*. (tesis de Maestría). México, Instituto de Biotecnología. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Bauer, A. (1958). *Die Konstanz des Chlorophyllgehaltes bei Laubblittern im Laufe eines Tages*. Aus dem Botanischen Institut der Universität Heidelberg.
- Bautista, E; Cortés, E; González, A; Moreno, F; Benavides, H. (2013). *Diagnóstico y caracterización del arbolado del Bosque de San Juan de Aragón*. México, Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en conservación y Mantenimiento de Ecosistemas Forestales. INIFAP
- Bermejo, V., Alonso, R., Elvira, S., Rábago, I., García, M. (2009). *El ozono troposférico y sus efectos en la vegetación*. Madrid, España. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y marino. Recuperado de: https://www.researchgate.net/publication/264081824_El_ozono_troposferico_y_sus_efectos_en_la_vegetacion.
- Berry, J; y Bjorkman, O. (1980). *Photosynthetic Response and Adaptation to Temperature in Higher Plants*. USA, Annual Review of Plants Ohysiology, 31(1), 491-543.
- Bidwell, R. (1979). *Fisiología Vegetal*. México, D.F., AGT Editor. S.A.
- Buhler, O; Kristoffersen y Larson, P. (2007). *Growth of Street trees in Copenhagen with emphasis on the effect of diferente establishment concepts*. USA, Arboriculture and Urban Forestry.
- Breuste, J., Feldmann, O. Uhlmann. (1997). *Urban Ecology. Results of a International conference held in Leipzig, Germany*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York, Germany (1998); 702 pp.
- Bjorkman, O; y Demmig, B. (1987). *Photon yield of o-2 evolution and clorophyll Fluorescence characteristics at 77-K among vascular plants of diverse origins*. USA, Plant.
- Calva, G. (2020). *Ecología urbana: La ciudad de México como elemento de estudio*. México, CDMX. Editorial académica Española.
- Callow, D; May, P; y Johnstone, D. (2018). *Tree Vitality Assessment in Urban Landscapes*. USA, Forests, 9(5), 279.
- Carreras, H; y Pignata, M. (2001). *Comparison among air pollutants, meteorological conditions and some chemical parameters in the transplanted lichen Usnea amblyoclada*. USA, Enviromental Pollution, 111(1), 45-52.
- Carvalho, P; Paruelo, J; Ayala, W. (2008). *La intensificación productiva en los pastizales del Río de la Plata: Tendencias y consecuencias ecosistémicas*. Bioma Campos.

- Comisión Coordinadora para el Desarrollo Rural (COCODER). (1986). *Manual de Planeación Diseño y Manejo de las Áreas Verdes urbanas del Distrito Federal*. México, D.F., Gobierno del distrito Federal.
- Comisión Nacional Forestal (CONAFOR) y Secretaría del Medio Ambiente (SEDEMA). (2013). México. Informe *Anual Fideicomiso Probosque de Chapultepec*. Recuperado de:
<https://chapultepec.org.mx/wp-content/themes/GAFA/pdf/informe-anual-13.pdf>
- Comisión Nacional Forestal (CONAFOR). (2014). *Fraxinus uhdei (wenz.) Lingelsh.* México. Comisión Nacional Forestal. Recuperado de:
https://www.cnf.gob.mx:8443/snif/especies_forestales/detalles.php?tipo_especie=24
- Costonis, A.C; Sinclair, W.A; y Zycha, H. (1970). *Infection of Detached Needles of Pinus strobus and P. sylvestris by Lophodermium pinastri*. USA, Journal of Phytopathology, 67(4), 352-360.
- Darley, E.F; y Middleton, J.T. (1966). *Problems of Air Pollution in Plant Pathology*. USA, Annual review of Phytopathology, 4(1), 103-118.
- Delgado, S. (2004). *Validación e implementación de técnicas de captación pasiva para el estudio de los niveles y efectos de ozono troposférico y dióxido de nitrógeno en un área costera mediterránea*. Castellón de la Plana, España, Universitat Jaume. Departamento de Química Inorgánica. Recuperado de:
<http://hdl.handle.net/10803/10539>
- Douglas, I; D. Goode; M. Houck and R. Wang. (2011). *The Routledge Handbook of Urban Ecology*. Published in the USA and Canada, Routledge. 689 pp.
- Dhir, B. (2016). *Air pollutants and Photosynthetic Efficiency of Plants*. USA, Plant.
- Escobedo, F., Chacalo, A. (2008). *Estimación preliminar de la descontaminación atmosférica por el arbolado urbano de la ciudad de México*. México, Interciencia, 33 (1), 29-33.
- Feng, L; Raza, MA; Li, Z; Chen, Y; Khalid; MHB; Du, J; Liu, W; Wu, X; Song, C; Yu, L; Zhang, Z; Yuan, S; Yang, W and Yang, F. (2019). *The Influence of Light Intensity and Leaf Movement on Photosynthesis Characteristics and Carbon Balance of Soybean*. Front. Plant Sci. 9:1952.
- Fischer, W.W; Hemp, J; y Johnson, J.E. (2016). *Evolution of Oxygenic Photosynthesis*. Annual Review of Earth and Planetary Sciences, 44(1), 647-683.
- Forman, R.T.T. (2008). *URBAN REGIONS -Ecology and Planning Beyond the City*. Ed. UK, CAMBRIDGE UNIVERSITY PRESS. 478 pp.
- García, M. (2016). *Apuntes para Espectrometría de Radiación Ultravioleta Visible (UV/VIS)*. Toluca, México. Universidad Autónoma del Estado de México.
- Galvin, M. (1999). *A methodology for assessing and managing biodiversity in Street tree population: a case study*. USA, Journal of Arboriculture, 25(3), 124-128.
- Gobierno del Distrito Federal (GDF). (2001). *Manual técnico para el establecimiento y manejo integral de las áreas verdes urbanas del Distrito Federal*. Tomo II. México, D.F., Secretaría del Medio Ambiente y Gobierno del Distrito Federal.

- Gobierno del Distrito Federal (GDF). (2006). *Gaceta Oficial del Distrito Federal*. México.GDF.
- Gobierno del distrito Federal (GDF). (2011). *Gaceta Oficial del distrito Federal*. México,GDF.
Recuperado de: <http://cgservicios.df.gob.mx/prontuario/vigente/4504.htm>
- Gobierno del Distrito Federal (GDF). (2015). *Gaceta Oficial del distrito Federal*.México, GDF.
- Gregory, R.A; y Wargo, P.M. (1985). *Timing of defoliation and its effect on bud development, starch reserves, and sap sugar concentration in sugar maple*. Canadian, Journal of Forest Research, 16, 10-17.
- Herrejón, M. (2018). *Registro de remoción de contaminantes atmosféricos a partir de las especies arbóreas en los bosques urbanos de Chapultepec, San Juan de Aragón y Tlalpan* (tesis de licenciatura). Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Hewitt, N; (2010). “*Trees and sustainable urban air quality. Using to improve air quality in cities*”. Lancaster, Department of Enviromental Science Institute of Envirinmental and natural sciences.University Lancaster.
- Hibben, C.R., y Stotzky, G. (1969). *Effects of ozone on the germination of fungus spores*. Canadian, Journal of Microbiology, 15(10), 1187-1196.
- Jenkins, J., Chojnacky, D; Heath, L; and Birdsey R. (2003). “*National-scale biomass estimators for united states tres species*”. USDA forest service.
- Jensen, K.F. (1973). *Response of nine forest tree species to chronic ozone fumigation*. USA, Plant Dis. Reprtr. 57:914-917.
- Jiménez, J.C., Muñoz, V.H., Valero, S.W., Bermúdez, J.C., Rodríguez, E.O., Cuevas, L.M. (2016). *Propiedades Físico-Mecánicas de tres especies arbóreas maderables (Monopteryx uaucu, Scleronema micranthum Scleronema praecox) de la Amazonia colombiana* (Corregimiento de Tarapacá). SUR AMAZONIA. Volumen 2 (2) 2016, 53 – 54.
- Johnstone, D; Moore, G; Tausz, M; Nicolas, M. (2013). *The measurement of plant vitality in landscape trees*. USA, Arboricultural Journal: The International Journal of Urban Forestry.
- Kong, D. X., Li, Y. Q., Wang, M. L., Bai, M., Zou, R., Tang, H., et al. (2016). *Effects of light intensity on leaf photosynthetic characteristics, chloroplast structure, and alkaloid content of Mahonia bodinieri (Gagnep.) Laferr.* Acta Physiol. Plant. 38:120.
- Knudson, L., Tibbitts, T., Edwars, G. (1977). *Measure of Ozone Injury by Determination of Leaf Chlophyll concentration*. USA, Plant Physiol.
- Lallana, V.H; Lallana, Ma. Del C. (2001). *Manual de Prácticas de Fisiología Vegetal*. [archivo PDF]. México, Facultad de Ciencias agropecuarias.
Recuperado de:
http://www.fca.uner.edu.ar/files/academica/deptos/catedras/fisiologiaveg/m_didactico/manual_practicas/Crecimiento_AED.pdf

- Lichtenthaler, H. K; Babani, F, y Langsdorf, G. (2007). *Chlorophyll fluorescence imaging of photosynthetic activity in sun and shade leaves of trees*. USA, Photosynthesis Research, 93(1-3), 235-244.
- Lichtenthaler, H. K; Babani, F; Navrátl, M; y Buschmann, C. (2013). *Chlorophyll fluorescence kinetics, photosynthetic activity, and pigment composition of blue-shade and half-shade leaves as compared to sun and shade leaves of different trees*. Photosynthesis Research, 117(1-3), 355-366.
- Lilly, S. J. (2001). *Arborists' certification study guide. Champaign, Il.* USA, International Society of Arbiculture.
- Lingyang, F; Muhammad, A.R; Zhongchuan, L; Yuankai, C; Muhammad H.B.K; Junbo, D; Weiguo, L; Xiaoling, W; Chun, S; Liang, Y; Zhongwei, Z; Shu, Y; Wenyu, Y; y Feng, Y. (2019). *The Influence of Light Intensity and Leaf Movement on Photosynthesis Characteristics and Carbon Balance of Soybean*. Front. Plant Sci. 9:1952.
- Ling, Q., Huang, W., Jarvis, P. (2010). *The use of a SPAD-502 meter to measure the chlorophyll concentration of the leaf in Arabidopsis thaliana*. Springer Science. Vol.1.
- Malite, P. (2000). *Biochemistry of Indian summer: physiology of autumnal leaf coloration*. USA, Experimental Gerontology, 35(2), 145-158.
- Manrique, E. (2003). *Los pigmentos fotosintéticos, algo más que la captación de luz*. Ecosistemas. Volumen XII (1), enero-abril, 2003, pp. 1-11. España, Asociación Española de Ecología Terrestre Alicante. Recuperado de: https://www.researchgate.net/publication/306350453_Libro_de_Espectroscopia_UV_Visible
- Marengo, R.A; Antezana-Vera, S.A; y Nacimiento, H.C. (2009). *Relationship between specific leaf area, leaf thickness water content and SPAD-502 readings in six Amazonian tree species*. USA, Photosynthetica, 47(2), 184-190.
- Markwell, J; Osterman, J.C; y Mitchell, J.L. (1995). *Calibration of the Minolta SPAD-502 leaf chlorophyll meter*. USA, Photosynthesis Research. 46:467-472.
- Márquez, R. (2016). *Efecto de las condiciones ambientales y adición de consumidores de oxígeno sobre el crecimiento y la producción de hidrógeno en cultivos de clorofíceas* [Tesis de posgrado]. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California, México.
- Martínez-Trinidad, T., W.T. Watson, M.A. Arnold, and L. Lombardini., Appel, D.N. (2009a). *Carbohydrate Injections a Potential Option to Improve Growth and Vitality of Live Oaks*. USA, Arboriculture & Urban Forestry. 35(3): 142-147
- Martínez-Trinidad, T; Watson, W.T; Arnold, M.A; Lombardini, L. (2009b). *Investigations of exogenous applications of carbohydrates on the growth and vitality of live oaks*. USA, Urban Forestry & Urban Greening 8:41-48.
- Martínez-Trinidad, T., Watson, W; Arnold, M.A; Lombardini, L; Appel, D. (2010). *Comparing various techniques to measure tree vitality of live oaks*. USA, Urban Forestry & Urban Greening.
- Martínez, T., Escalante, F.P., Islas, L. (2013). *Relación entre los carbohidratos y la vitalidad en los árboles urbanos*. México. Colegio de Posgrados.

- Martínez, G; Chacalo, H. (1994). *Los árboles de la ciudad de México*. Ciudad de México, México, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Azcapotzalco.
- Meza, A; Moncada, M. (2010). *Las áreas verdes de la Ciudad de México. Un reto actual*. Barcelona. Scripta Nova, Revista electrónica Geografía y Ciencias sociales. Recuperado de: <http://www.ub.edu/geocrit/sn/sn-331/sn-331-56.ht>
- Millán, F. (2016). *Libro de Espectroscopía UV visible*. Recuperado de: https://www.researchgate.net/publication/306350453_Libro_de_Espectroscopia_UV_Visible/citation/download
- Miller, J. C. And Miller J. N. (2000). *Estadística y Quimiometría para Química Analítica*, Madrid, Ed. Pearson.
- Minolta, (2009). *Konica Minolta Business Solutions. Medidor de Clorofila SPAD-502Plus*. Recuperado de: www.konicaminolta.eu
- Mudd, J.B. and T.T. Kozlowski. (1975). *Responses of Plants to Air Pollution*. New York, Academic Press.
- Mudd, J.B; P.J;Asams, J.R; Wingo, J; y Santrock, J. (1996). *Reaction of Ozone with Enzymes of Erythrocyte Membranes*. USA, Archives of Biochemistry and Biophysics, 335(1), 145-151.
- National Aeronautics and Space Administration (NASA). (2019). *The Atmosphere: Getting a Handle on Carbon Dioxide*. NASA's Jet Propulsion Laboratory. California Institute of Technology.
- Nascimento, H. C. S; & Marengo, R. A. (2013). *Mesophyll conductance variations in response to diurnal environmental factors in Myrcia paivae and Miconia guianensis in Central Amazonia*. USA, Photosynthetica, 51 (3), 457-464.
- Nowak, D. (2002). *The Effects of Urban Trees on Air Quality*. Syracuse, NY, USDA Forest Service.
- Nowak, D. (1998). *“Beneficios y costos de manejo de áreas verdes urbanas”*. USA. USDA. Recuperado de: <http://idbdocs.iadb.org/wsdocs/getdocument.aspx?Docnum=884098>
- Page, E.R., Tollenaar, M., Lee, E.A., Lukens, L., y Swanton, C.J. (2010). *Shade avoidance: an integral component of crop-weed competition*. USA, Weed Research.
- Pallardy, S.G. (2008). *Physiology of woody plants (3rd ed.)*. New York, USA: Academic Press.
- Porra, R.J. (2002). *The chequered history of the development and use of simultaneous equations for the accurate determination of chlorophylls a and b, Photosynth. Res;* 73, 149-156.
- Prince, R.C; y Kheshgi, H.S. (2005). *The Photobiological Production of Hydrogen: Potential Efficiency and Effectiveness as a Renewable Fuel*. USA, Critical Reviews in Microbiology, 31 (1), 19-31.
- Procuraduría ambiental y del Ordenamiento Territorial del D.F. (PAOT). (2009). *Estudio sobre la superficie ocupada en áreas naturales protegidas del distrito federal*. México. Recuperado de: <http://centro.paot.org.mx/documentos/paot/estudios/EOT-03-2009.pdf>



- Procuraduría ambiental y del Ordenamiento Territorial del D.F. (PAOT). (2010). *Presente y Futuro de las Áreas Verdes y del Arbolado de la Ciudad de México*. México. Recuperado de:
http://centro.paot.org.mx/documentos/paot/libro_areas_verdes.pdf
- Procuraduría ambiental y del Ordenamiento Territorial del D.F. (PAOT). (2016). *Áreas verdes DMRUVU. Dirección de Manejo y Regulación de Áreas Verdes Urbanas*. México.
Recuperado de:
http://www.paot.org.mx/micrositios/FORO_CONS_RN/pdf/mesa_4/isidro.pdf
- Ocampo, F. (2014). *Fotosíntesis*. México, Hidalgo. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Sistema de Universidad virtual. Recuperado de:
<http://www.uaeh.edu.mx/virtual>
- Ortuño, T; Licinio, D.E; Del Río, J.A. (2015). *Evolución de la fisiología vegetal en los últimos 100 años*. Departamento de Biología Vegetal, Eniversosdad de Murcia.
- O'Rourke, P.A., y Terjung, W.H. (1981). *Relative influence of city structure on canopy photosynthesis*. USA, International Journal of Biometeorology, 25(1), 1-19.
- Radosavljevic, (2019). *The rise of Cynometra (Leguminosae) and the fall of Maniltoa: a generic re-circumscription and the addition of 4 new species*. Phytokeys 127: 1:37.
- Ribeiro, R. V; Machado, E. C; y Oliveira, R. F. (2004). *Growth- and leaf-temperature effects on photosynthesis of sweet orange seedlings infected with Xylella fastidiosa*. USA, Plant Pathology, 53 (3), 334-340.
- Rojas, F., Torres, g. (2016). *Árboles del Valle Central de Costa Rica: reproducción Fresno (Fraxinus uhdei (wenz.))*. Revista forestal Mesoamericana Kurú. Volumen 14 (32) 2017, 72 - 74.
- Romero-Hernández, C. (2017). *El género Zygia P. Browne (Leguminosae: Mimosoideae: Ingeae) en Colombia: análisis de distribución y clave actualizada para su identificación*. Colombia, Biota Colombiana 18 (2): 88 – 110.
- Samson, I., Anderson, E., Vikmane, M., Levina, B., Pakarna, G., Levinsh, G. (2007). *Nondestructive methods in plant biology: an accurate measurement of chlorophyll content by a chlorophyll meter*. Department of Plant Physiology, Faculty of Biology, University of Latvia.
- Sánchez, K. (2018). *Adecuación de la técnica SPAD-502 Plus para la evaluación de clorofila como indicador de daño por ozono troposférico en Abies religiosa (Kunt) Schlttdl. Echam. Del parque Nacional Desierto de los Leones [Tesis de licenciatura]*. Universidad Nacional Autónoma de México, CDMX, México.
- Secretaría del Medio Ambiente (SEDEMA). (2018). *Áreas verdes. Vida para tod@s*. CDMX. recuperado de:
http://data.sedema.cdmx.gob.mx/areasverdesvidaparatodos/bosque_aragon.html#.XKfQHtJKgkl
- Secretaría del Medio Ambiente (SMA). (2003). *Bosque de San Juan de Aragón*. México. Recuperado de: <http://www.sma.df.gob.mx/sma/>.




- Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). (2013). *Calidad Del Aire: Una práctica de vida*. [archivo PDF]. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Recuperado de: <http://biblioteca.semarnat.gob.mx/janium/Documentos/Ciga/Libros2013/CD001593.pdf>
- Solberg, R.A; y Adams, D.F. (1956). *Histological Responses of Some Plant Leaves to Hydrogen Fluoride and Sulfur Dioxide*. USA, American Journal of Botany, 43(10),755.
- Sumanta, N; Imranul, C; Nishika, J; Suprakash, R. (2014). *Spectrophotometric Analysis of Chlorophylls and Carotenoids from Commonly Grown Fern Species by Using Various Extractig Solvents*. India, Research Journal of Chemical Sciences.EIII.M University, Sikkim, India.
- Sharma, G., Chandler, C., Salami. (1980). *Enviromental pollution and leaf cuticular variation in Kudzu (Pueraria lobata Willd.)*. (...). Ann. Bot. 45: 77-80.
- Smith, W.H. (1981). *Air Pollution and Forests*. New York, Springer-Verlag,
- Smith, H. (2000). *Phytochromes and light signal perception by plants-an emerging synthesis*. USA, Nature, 407(6804), 585-591.
- Spedding. (2002). *Contaminación Atmosférica*. Barcelona, Editorial Reverte, S.A. Recuperado de: <https://books.google.com.mx>
- Taiz, L., & Zeiger, E. (2006). *Plant physiology (4th ed.)*. Sunderland MA, USA: Sinauer Associates Inc.
- Taiz, L., & Zeiger, E. (2010). *Plant physiology (5th ed.)*. Boston, MA: Sinauer Associates.
- Takagi, M; y Gyokusen, K. (2004). *Light and atmospheric pollution affect photosynthesis of street trees in urban environments*. Urban Forestry & Urban Greening, 2(3), 167-171.
- Torres, N., Campostrini, E., Gonçalves., Bressan- Smith. (2004). *Photosynthetic pigments, nitrogen, chlorophyll a fluorescence and SPAD-502 readings in coffe leaves*. Scientia Horticulturæ.
- Thomas, M.D. (1951). *Gas Damage to Plants*. USA, Annual Review of Plant Physiology, 2(1), 293-322.
- Uddling, J., Alfredsson., Piikki., Pleijel. (2007). *Evaluationg the relationship between leaf chlorophyll concentration and SPAD-502 chlorophyll meter readings*. USA, Springer Science.
- Van den Berg., Perkins. (2004). *Evaluation of a portable chlorophyll meter to estimate chlorophyll and nitrogen contents in sugar maple (Hacer saccharum Marsh.) leaves*. USA, University of Vermont.
- Velasco, B., Cortés, B., González, H., Moreno, S., Benavides, M. (2013). *Diagnóstico y Caracterización del Arbolado del Bosque de San Juan de Aragón*. [archivo PDF]. CDMX. Recuperado de: <http://www.scielo.org.mx/pdf/remcf/v4n19/v4n19a9.pdf>
- Vernon, L.P. (1960). *Spectrophotometric determination of clorophylls and phaeophytins in plant extracts*. Annals Chemistry 32: 1144-1150.




- Wargo, P.M., J. Parker, and D.R. Houston. (1972). *Starch content in roots of defoliated sugar maple*. Forest Science 18:203–204.
- Wilhour, R. (1971). *The influence of ozone on White ash (Fraxinus americana L.)*. University Park, PA: Pennsylvania State University, Center for Air Environment Studies; Publication 188-71.
- Wintermans, J., Mots, A. (1965). *Spectrophotometric characteristics of chlorophylls a and b and their pheophytins in ethanol*. Biochimica et Biophysica Acta, (109), pp 448-453.
- Wood, F.A. y J.B. Coppelino. (1972). *The response clones to ozono*. Phytopathology 62:501-502.
- Wu, Y., Gong, W., and Yang, W. (2017). *Shade inhibits leaf size by controlling cell proliferation and enlargement in soybean*. [...].



XIII. ANEXOS

Cuadro 7. Características de las hojas en las especies con registro de clorofila a partir del medidor SPAD-502 plus.

AUTOR/ AÑO	ESPECIE	CARACTERÍSTICAS DE LA HOJA	TIPO DE ÁRBOL	RANGO DE UNIDADES SPAD	REPRESENTACIÓN
Marengo <i>et al.</i> , 2009	<i>Carapa guianensis</i>	Hojas paripinnadas, de 30-50 cm de largo, con 4-7 pares de folíolos opuestos, de oblongos a elíptico- oblongos, coriáceos, de 10-25 x 4-8 cm, con la base cuneada, algo desigual y el ápice agudo (CONAFOR y CONABIO, 2001).	CD / SMC	(-) 20 (+) 80	
Marengo <i>et al.</i> , 2009	<i>Ceiba pentandra</i>	Hojas digitado- compuestas, peciolo de 5 a 25 cm de largo, parcialmente rojizo hacia la base, delgado, glabro. Tienen de 5 a 9 hojuelas sésiles, de 5 a 20 cm de largo y de 1.5 a 5 cm de ancho, lámina lanceolada, ápice acuminado, base cuneiforme, margen entero, verde oscuras en el haz y verde pálido en el envés, glabras (CONAFOR y CONABIO, 2001).	CD	(-) 20 (+) 50	

AUTOR/ AÑO	ESPECIE	CARACTERÍSTICAS DE LA HOJA	TIPO DE ÁRBOL	RANGO DE UNIDADES SPAD	REPRESENTACIÓN
Marengo <i>et al.</i> , 2009	<i>Cynometra spruceana</i> (Género <i>Cynometra</i>)	Superficie de las hojas casi lisas, pinnadas, oblicuas y angostamente lanceolados, de 4 a 11 cm de largo y 1.2 a 4 cm de ancho. Ápice acuminado y a menudo falcado, base inequilátera, cuneada y obtusa, glabros, sésiles o subsésiles; pecíolo den 0.5 a 1.3 cm de largo, estípulas filiformes y caducas (Radosavljevic, 2019).	CD	(-) 5 (+) 70	
Marengo <i>et al.</i> , 2009	<i>Pithecolobium inaequale</i> (género <i>Zygia P.</i>)	Hojas bipinnadas, foliolos elípticos ovados, con una glándula entre las pinas. Sus estípulas son lanceoladas o deltoides, tomentosas en la base, con margen entero, y filotaxia alterna (Romero, 2017).	PN / CD	(-) 20 (+)70	
Marengo <i>et al.</i> , 2009	<i>Scleronema micranthum</i>	Hojas simples alternas pequeñas, con una longitud promedio entre 4 a 8 cm, verde lustro en el haz y envés (Jiménez <i>et al.</i> , 2016)	CD	(-) 2 (+) 60	

AUTOR/ AÑO	ESPECIE	CARACTERÍSTICAS DE LA HOJA	TIPO DE ÁRBOL	RANGO DE UNIDADES SPAD	REPRESENTACIÓN
Marengo <i>et al.</i> , 2009	<i>Swietenia macrophylla</i>	Hojas alternas, paripinnadas o a veces imparipinnadas, de 12 a 40 cm de largo incluyendo el pecíolo; folíolos 3 a 5 pares, de 5 x 2 a 12 x 5 cm, lanceolados u ovados, asimétricos, con margen entero (CONABIO, 2012).	PN / CD	(-) 15 (+)70	
Uddling <i>et al.</i> , 2007	<i>Betula pendula</i>	Presenta glándulas resinosas glabras. Las hojas del abedul en general son simples, pecioladas, con una lámina foliar entera con forma romboidal a ovado- redondeada y borde irregular o doblemente dentado (Álvarez <i>et al.</i> , 2012)	CD	(-) 2 (+) 45	
Uddling <i>et al.</i> , 2007	<i>Triticum aestivum</i>	Las hojas son alargadas rectas, paralelinervas y terminadas en punta, con una longitud de 15 a 25 cm. Cada planta tiene de 4 a 6 hojas. En cada nudo nace una hoja que se compone de vaina y limbo (FAO, 2003).	PN	(-) 10 (+)50	

AUTOR/ AÑO	ESPECIE	CARACTERÍSTICAS DE LA HOJA	TIPO DE ÁRBOL	RANGO DE UNIDADES SPAD	REPRESENTACIÓN
Uddling <i>et al.</i> , 2007	<i>Solanum tuberosum</i>	Hojas imparipinnadas, 10.0- 25.0 cm largo, alternas; folíolos 5-9, hasta 8.0 cm de largo y 4.5 cm de ancho, enteros, agudos, ovados o cordados, cortamente pecioulados, a menudo con folíolos pequeños en los peciólulos, el folíolo terminal más grande; folíolos intersticiales algunas veces presentes; hojas pseudostipulares falcadas 1.0 cm largo (CONABIO, 2002).	PN	(-) 5 (+)40	
Jiménez, 2021	<i>Fraxinus uhdei</i> (wenz.) Lingelsh	Hojas compuestas, opuestas, bipinnadas, de 20 a 30 cm de longitud, 5 a 9 folíolos, generalmente 7, ovado-lanceolados, margen entero o crenulado serrado hacia el tope. Verde oscuro en el haz y pálidas en el envés (Rojas <i>et al.</i> , 2016)	PN / CD	(-) 14.1 (+) 75.2	

NOTA: PN (*perennifolio*), CD (*caducifolio*), SMP (*semi-perennifolio*), SMC (*semi-caducifolio*).