

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
CENTRO DE CIENCIAS DE LA ATMÓSFERA
POSGRADO EN CIENCIAS DE LA TIERRA**



**Estudio de los factores de emisión de isopreno y
monoterpenos de tres especies arbóreas de los
alrededores de la Ciudad de México**

TESIS

**Para obtener el grado de
Doctor en ciencias
(Fisicoquímica de la atmósfera)**

Presenta:

M. en I. Patricia Domínguez Taylor

**Tutor: Dr. Luis Gerardo Ruiz Suárez
Co-Tutor: Dra. Irma Aurora Rosas Pérez**

Ciudad Universitaria, Noviembre 2005



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.

A Ernesto por todo el amor, comprensión y cariño que me brinda, por ser un amigo, un sustento y un maestro en mi vida.

A Rodrigo, Arturo y Patricio por traer luz y una gran alegría, y por enseñarme la importancia de la vida y del cambio.

A mis padres por enseñarme a ser perseverante en lo que me proponga.

A mis suegros por ayudarme en los momentos difíciles.

Agradecimientos

Al Dr. Luis Gerardo Ruiz Suárez y a la Dra. Irma Rosas Pérez por su guía en la realización de este proyecto

Al Dr. Rainer Steinbrecher por su valiosa asesoría en la realización del presente trabajo.

Al Q. José Manuel Hernández por su valiosa ayuda en el análisis cromatográfico de las muestras.

Al los integrantes del laboratorio mecánico y eléctrico por ayudar en el diseño y funcionamiento del equipo en el campo.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, a CONSERVA del Departamento del Distrito Federal, a Proyecto Comisión Ambiental Metropolitana -MIT por su apoyo económico durante la realización del estudio.

Índice

Listado de Figuras	1
Listado de Tablas	3
I. Introducción	7
<i>I.1 Obetivos y metas</i>	<i>10</i>
II. Isoprenoides	11
<i>II.1 Isopreno</i>	<i>15</i>
II.1.1 Funciones	15
II.1.2 Biosíntesis de isopreno	16
II.1.2.1 Vía del Ácido Mevalónico (MAV)	18
II.2.2 Vía de la 1-desoxi, xilulosa-5-fosfato (DOXP)	18
<i>II.2 Monoterpenos</i>	<i>20</i>
II.2.1 Funciones	20
II.2.2 Biosíntesis de isoprenoides superiores	21
<i>II.3 Mecanismos de emisión de isopreno</i>	<i>24</i>
<i>II.4 Mecanismos de emisión de terpenos</i>	<i>26</i>
<i>II.5 Factores que afectan la emisión de isopreno y de los monoterpenos por mecanismos enzimáticos</i>	<i>27</i>
II.5.1 Edad de la hoja	27
II.5.2 Radiación	28
II.5.3 Temperatura	28
II.5.4 Estrés hídrico	29
II.5.5 Efecto del incremento del CO ₂	29
III. Degradación del isopreno y los monoterpenos en la atmósfera	33
<i>III.1 Reacciones con el radical OH</i>	<i>34</i>
<i>III.2 Reacciones con el radical NO₃</i>	<i>39</i>
<i>III.3 Reacciones con ozono</i>	<i>40</i>
<i>III.4 Formación de aerosoles</i>	<i>41</i>
IV. Características de los bosques en estudio y de las especies seleccionadas	44
<i>IV.1 Bosque de Oyamel</i>	<i>44</i>
IV.1.1 Abies religiosa ((Kunth) Schtdl. & Cham.)	45
<i>IV.2 Bosque de Pino</i>	<i>46</i>
IV.2.1 Pinus patula (Schiede, Schltl. & Cham.)	47
<i>IV.3 Bosque de Encino</i>	<i>48</i>
IV.3.1 Quercus rugosa (Née)	49
<i>IV.4 Efectos de los contaminantes del aire en las plantas</i>	<i>50</i>
IV.4.1 Dióxido de azufre	50
IV.4.2 Óxidos de nitrógeno	52
IV.4.3 Ozono	52
IV.4.4 Material particulado	54
IV.4.5 Mezclas de contaminantes	54
V. Desarrollo Experimental	57
<i>V.1 Selección de los lugares de muestreo</i>	<i>57</i>
<i>V.2 Métodos de muestreo y análisis</i>	<i>58</i>
V.2.1 Cámara de muestreo	59
V.2.2 Muestreo de hidrocarburos biogénicos	60
V.2.3 Análisis de hidrocarburos biogénicos	60
V.2.4 Consideraciones espécies en el manejo de la muestra	64

V.3 Protocolo de muestreo	64
V.4 Protocolo de cálculo de factores de emisión	64
VI. Resultados y Discusión	67
VI.1 <i>Abies religiosa</i>	67
VI.2 <i>Pinus patula</i>	80
VI.3 <i>Quercus rugosa</i>	88
VII. Conclusiones	97
VII.1 <i>Abies religiosa</i>	97
VII.2 <i>Pinus patula</i>	97
VII.3 <i>Quercus rugosa</i>	98
VIII Bibliografía	99
Apéndice I. Factor encontrado en la emisión	108
<i>Abies religiosa</i>	108
<i>Pinus patula</i>	110
<i>Quercus rugosa</i>	111
Apéndice II. Factor normalizado a 30° C y 1000 PAR	114
<i>Abies religiosa</i>	114
<i>Pinus patula</i>	116
<i>Quercus rugosa</i>	117
Glosario	120

I. Introducción

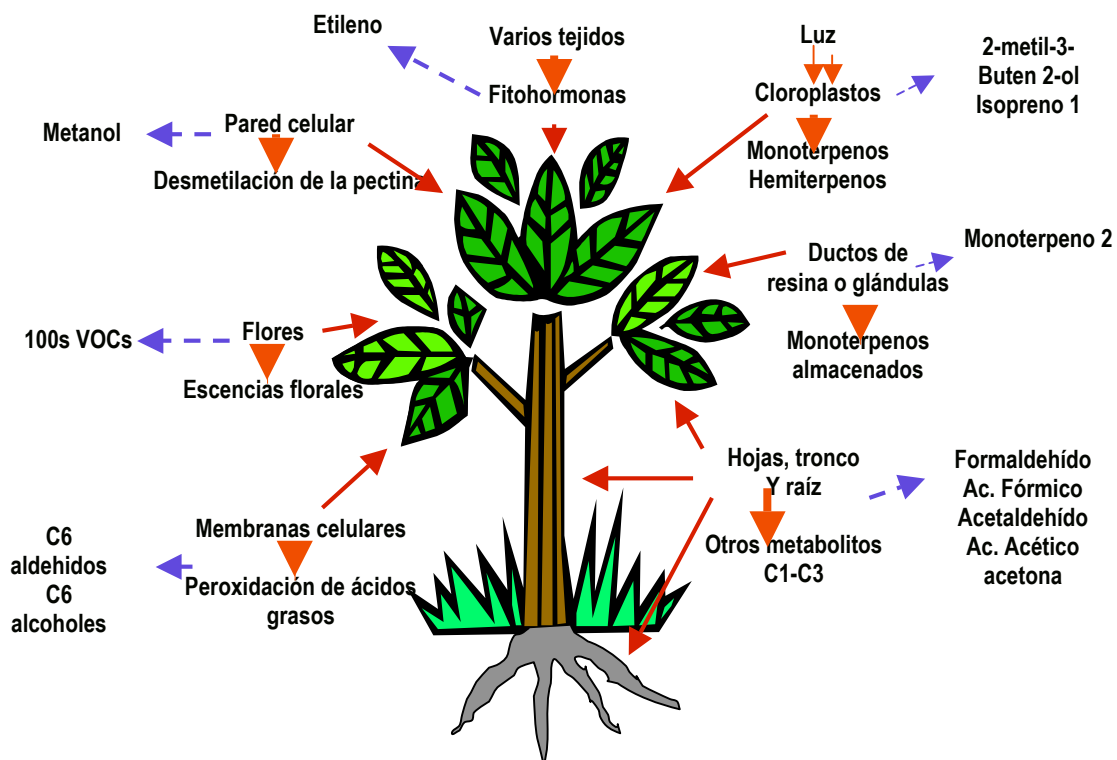
Existen una gran variedad de compuestos orgánicos que son emitidos por los vegetales a la atmósfera, y cuya composición es diferente a la del metano (Figura 1). A estos compuestos se les conocen como hidrocarburos biogénicos y tienen un papel importante en el ciclo biogeoquímico del carbono y en los mecanismos de formación de contaminantes fotoquímicos. Aunque las emisiones biogénicas constituyen solamente el 2% del carbono total que es tomado por los vegetales, en la época de calor, la mayor parte del carbono asimilado puede ser emitido por las plantas como hidrocarburos biogénicos (Steinbrecher, 1997 y 2002).

Los hidrocarburos biogénicos de bajo peso molecular, son fácilmente emitidos a la atmósfera debido precisamente a su bajo peso molecular, y por que presentan diferentes grupos funcionales. Los hidrocarburos que predominan son los del grupo de los isoprenoides, como el isopreno, los monoterpenos (por ejemplo α -pineno) y los sesquiterpenos. También se emiten compuestos oxigenados como los alcoholes, carbonilos y ácidos orgánicos. De manera general, la emisión del metano se separa de la de los demás compuestos biogénicos por que este compuesto es producido principalmente por la oxidación microbiana en el suelo; mientras que la mayoría de las emisiones biogénicas provienen directamente de los vegetales (Steinbrecher, 1997 y 2002).

Ya que el metano es un compuesto con baja reactividad, su emisión tiene poco efecto dentro de la química atmosférica de los lugares en donde existen importantes emisiones antropogénicas y biogénicas. La importancia de las emisiones biogénicas se puede observar al compararlas con las antropogénicas en una base anual. Mientras que las emisiones antropogénicas mundiales anuales son del orden de 1×10^{14} g C año⁻¹, las emisiones biogénicas exceden diez veces este valor, siendo de 1.2×10^{15} g C año⁻¹ (Steinbrecher, 1994, Guenther, et al. 1995).

Las emisiones biogénicas varían significativamente entre los ecosistemas y las diferentes regiones (Simpson, et al. 1999, Guenther et al. 1995). Al ser emitidos reaccionan fácilmente con los oxidantes atmosféricos como el OH[·], el ozono y los radicales NO₃ por lo que tienen tiempos de vida media cortos que van de varios minutos a horas (Tabla 1) contribuyendo de manera importante en la química de la atmósfera regional y por lo tanto en la global (Atkinson, 2000).

Figura 1. Emisiones que pueden generar los vegetales



(Fall y Wildernuth, 1999)

Tabla 1. Características y origen de las principales emisiones biogénicas

Especie	Fuentes naturales Primarias	Emisión anual (Tg C)	Tiempo de vida media respecto a la reacción con OH [•] en la troposfera
Metano	Humedales, campos de arroz	319 – 412	4000 días
Isopreno	Plantas	175 – 503	1.4 horas
Monoterpenos	Plantas	127 – 480	0.5 a 2.6 horas
Dimetil sulfuro	Fitopláncton marino	15 – 30	< 0.9
Etileno	Plantas, microorganismo del suelo, océanos	8 – 25	1.9 días
Acetaldehído, metil-3-buten-2-ol,	Plantas	≈ 260	8.8 horas
Ácidos carboxílicos y metanol y etanol	Plantas, microorganismos del suelo	≈ 260	1.3 a 12 días

1 Tg = 10¹²g

(Fall y Wildermuth, 1998)

La gran cantidad de compuestos emitidos a la atmósfera son removidos de manera constante a través de mecanismos de oxidación, que presenta elevadas reacciones de oxidación (Tabla 2), y de procesos de deposición seca y húmeda. Los procesos químicos de degradación que siguen los compuestos

son complicados, pero todos empiezan con el ataque de los radicales OH[·], (el cual se forma de la fotodisociación del ozono). Asimismo, las cantidades relativas de hidrocarburos y óxidos de nitrógeno presentes en el aire, juegan un papel importante dentro del mecanismo de oxidación de estas reacciones (Steinbrecher, 2002).

Tabla 2. Constantes de reacción de los isoprenoides con los oxidantes atmosféricos

Hidrocarburo	OH [·] cm ³ moléculas ⁻¹ s ⁻¹	NO ₃ ⁻ cm ³ moléculas ⁻¹ s ⁻¹	O ₃ cm ³ moléculas ⁻¹ s ⁻¹
Isopreno	1.0 x 10 ⁻¹⁰	5.9 x 10 ⁻¹³	1.4 x 10 ⁻¹⁷
Camfeno	5.3 x 10 ⁻¹¹	6.5 x 10 ⁻¹³	9.0 x 10 ⁻¹⁹
³ -careno	8.8 x 10 ⁻¹¹	1.0 x 10 ⁻¹¹	3.8 x 10 ⁻¹⁷
Limoneno	1.7 x 10 ⁻¹⁰	1.3 x 10 ⁻¹¹	2.1 x 10 ⁻¹⁶
Mirceno	2.2 x 10 ⁻¹⁰	1.1 x 10 ⁻¹¹	4.9 x 10 ⁻¹⁶
-pineno	5.4 x 10 ⁻¹¹	5.8 x 10 ⁻¹²	8.7 x 10 ⁻¹⁷
-pineno	7.9 x 10 ⁻¹¹	2.4 x 10 ⁻¹²	1.5 x 10 ⁻¹⁷
1,8-cineol	1.1 x 10 ⁻¹¹	1.7 x 10 ⁻¹⁶	< 1.5 x 10 ⁻¹⁹
p-cimeno	1.5 x 10 ⁻¹¹	9.9x 10 ⁻¹⁶	< 5 x 10 ⁻²⁰
Ocimeno	2.5 x 10 ⁻¹⁰	2.2 x 10 ⁻¹¹	5.6 x 10 ⁻¹⁶
-terpineno	3.6 x 10 ⁻¹⁰	1.8 x 10 ⁻¹⁰	8.7 x 10 ⁻¹⁵

La oxidación de monoterpenos y sesquiterpenos no solamente contribuyen a la formación de ozono. También contribuyen a la formación de aerosoles secundarios que provienen de ácidos carboxílicos altamente condensables. A su vez el ozono también interfiere en la formación de aerosoles. A bajas concentraciones de ozono, la formación de aerosoles a partir de la fotooxidación de monoterpenos es baja, porque predominan las reacciones en cadena que conducen a compuestos que no se pueden condensar en partículas. Sin embargo, a altas concentraciones de ozono, se producen más compuestos de baja volatilidad que pueden dar lugar a partículas (Hoffmann, et al. 1997).

El problema de la contaminación en la Ciudad de México es de gran relevancia, ya que se trata de una ciudad que genera importantes concentraciones de contaminantes atmosféricos, y que al mismo tiempo se encuentra rodeada por montañas con extensas zonas boscosas con altas emisiones potenciales de hidrocarburos biogénicos. Tanto las emisiones antropogénicas como las biogénicas intervienen en la formación de smog fotoquímico y pueden causar graves problemas de contaminación, los cuales se deben de considerar en los programas matemáticos y computacionales para modelar la química atmosférica. Las emisiones de compuestos de origen biogénico dependen del tipo de especies vegetales y se reportan en factores de emisión. Hasta la fecha estos factores se han tomado de la literatura científica y han sido generados en Europa y Estados Unidos, y por lo tanto no contienen a las especies nativas de nuestros bosques, de esto surge la inquietud de generar los factores de emisión de algunas de las principales especies de los bosques de los alrededores de la Ciudad de México.

Resumen

El presente estudio es el primer trabajo sobre medición de factores de emisión realizados en bosques de los alrededores de la Ciudad de México. En este trabajo se implementaron las técnicas de muestreo y análisis (por cromatografía de gases con detector de ionización de flama y cromatografía de gases con espectrofotómetro de masas) para emisiones biogénicas utilizando cartuchos empacados con TENAX TA y Carbotrap como adsorbentes. Los muestreos se realizaron a finales del 2002 y en el primer semestre de 2003. Las especies seleccionadas fueron *Abies religiosa*, *Pinus patula* y *Quercus rugosa*. Los factores de emisión se muestrearon en dos meses para *Abies* (Octubre y Abril) y para *Pinus* (Octubre y Junio), mientras que para *Quercus rugosa* se muestreó en tres meses del año (Noviembre, Mayo y Julio). En el mes de Octubre es cuando inicia la temporada de estío en la Ciudad, los meses de Abril y Mayo corresponden a los meses más calientes del año, y por su parte en Julio es cuando inicia el periodo de lluvias. Los bosques seleccionados para el estudio fueron el Parque nacional Desierto de los Leones para *Abies religiosa*, y el Bosque de Tlalpan para *Pinus patula* y *Quercus rugosa*. Las especies de *Abies* y *Pinus* son emisoras de monoterpenos, cuya emisión depende de la cantidad de monoterpenos que se encuentre almacenada en sus canales de resina; mientras que *Quercus* es emisora de isopreno, la cual es enzimática, por lo tanto la emisión depende de la cantidad de enzima isoprén sintetasa presente en la hoja.

El factor de emisión de *Abies* fue de $0.01 \mu\text{g g}^{-1} \text{PS h}^{-1}$ en Abril y de $4.54 \mu\text{g g}^{-1} \text{PS h}^{-1}$ en Octubre, en lo cual se puede ver que ya para el mes de Octubre las hojas han tenido tiempo de almacenar monoterpenos en sus canales de resina, en esta especie se encontró que el α y β -pineno son emitidos enzimáticamente en el mes estudiado. En cuanto al Pino, los factores de emisión encontrados fueron de $1.11 \mu\text{g g}^{-1} \text{PS h}^{-1}$ en Junio y de $3.55 \mu\text{g g}^{-1} \text{PS h}^{-1}$ en Octubre, esta diferencia se debe a la edad de las hojas entre estos dos meses y al tiempo de almacenamiento de los monoterpenos. Los factores de emisión en *Quercus rugosa* fueron de $126.5 \mu\text{g g}^{-1} \text{PS h}^{-1}$ en Mayo, $1.19 \mu\text{g g}^{-1} \text{PS h}^{-1}$ en Julio y $17.17 \mu\text{g g}^{-1} \text{PS h}^{-1}$ en Noviembre, esta diferencia se debe a la concentración de enzima presente en la hoja, a la diferencia entre la temperatura y radiación encontrada durante los muestreos, así como al estrés hídrico en que se encontraba la planta. En Mayo es cuando se presenta el mes más caliente en la Ciudad de México, y la emisión le permite a la planta protegerse contra las altas temperaturas registradas, en cambio, en Julio empiezan las lluvias y la planta ya no sufre de estrés hídrico, pero en Noviembre después de que ha vuelto a empezar la época de sequía en la Ciudad la planta vuelve a aumentar su emisión.

En el estudio se puede observar que existen muchos factores que controlan las emisiones de las plantas, como la temperatura, el estrés hídrico, la

radiación fotosintéticamente activa, la contaminación a la que se encuentra expuesto el vegetal y la edad de las hojas entre otras. Por lo tanto se tiene que buscar un método de muestreo que permita controlar la mayoría de los factores para no tener tantas variables.

Abstract

The present thesis is the first study on biogenic emission factors sampled in forests surrounding México City. In this study it was implemented the sample and the analysis methods (by GC-FID and GC-MS) of biogenic emissions for isoprene and monoterpene in trees using cartridges filled with TENAX TA and Carbotrap as adsorbents. The emission factors were obtained during the last month of 2002 and the beginning of 2003. The sampled species were *Abies religiosa*, *Pinus patula* and *Quercus rugosa*. The emissions were sampled in two different month of the year for *Abies religiosa* (October and April) and *Pinus patula* (October and June), and in three months for *Quercus rugosa* (November, May and July). New leaves in *Abies* and *Pinus* are born in October and November, but they remain inside bottoms until March and April when they are released. In *Quercus* new leaves are born in April and May. The forests selected for this study were Parque Nacional desierto de los Leones for *Abies* and Bosque de Tlalpan for *Pinus* and *Quercus*. *Abies* and *Pinus* are monoterpene emitters, so its emission depends on the size of the pool storage for these compounds, instead *Quercus* is an isoprene emitter and its emission is enzymatic and depends on the age of the leaves and quantity of isoprene synthase present in the leaves.

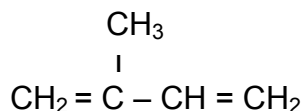
The emission factor in *Abies* was of $0.01 \mu\text{g g}^{-1}_{\text{DW}} \text{h}^{-1}$ in April and of $4.54 \mu\text{g g}^{-1}_{\text{DW}} \text{h}^{-1}$ in October, so it can be seen that in October the leaves have resin inside their specialized organs, in this specie it was also found that α and β -pinene are emitted enzymatically in the month studied. In Pine the emission factor was of $1.11 \mu\text{g g}^{-1}_{\text{DW}} \text{h}^{-1}$ in June and of $3.55 \mu\text{g g}^{-1}_{\text{DW}} \text{h}^{-1}$ in October, so it can also be seen the difference of the age of the leaves between these months. The emission factors in *Quercus rugosa* were of $126.5 \mu\text{g g}^{-1}_{\text{DW}} \text{h}^{-1}$ in May, $1.19 \mu\text{g g}^{-1}_{\text{DW}} \text{h}^{-1}$ in July and $17.17 \mu\text{g g}^{-1}_{\text{DW}} \text{h}^{-1}$ in November, this difference can be due to the weather and hydric stress, because in May is the hottest month of the year and the plant emits isoprene to protect its leaves from the heat, but in July the rain starts, but in November the dry season starts and the emission grew again.

In the study it can be seen very clear that there are many factors controlling the emission, like the temperature, the photosynthetic active radiation, the age of the leaves, the hydric stress and the pollution. So it has to look for a sampling method that can control most of these factors.

II.1 Isopreno

II.1.1 Funciones

El isopreno es un compuesto que se produce y emite a la atmósfera por las hojas de los vegetales cuando se presentan altas temperaturas que pueden dañarlas. Este compuesto constituye la unidad de los isoprenoides, por ser el compuesto más simple, cuenta con 5 carbonos, 2 dobles ligaduras y es un compuesto muy reactivo:



Hasta la fecha no se conoce el mecanismo exacto por el cual protege al vegetal, pero existen 3 hipótesis sobre la forma en que puede intervenir en su protección:

1. Protegiendo al mecanismo fotosintético contra las altas temperaturas en periodos cortos de tiempo. Algunos autores proponen que el isopreno entra a la fracción lipídica de los tilacoides y estabiliza las interacciones lípido-lípido, lípido-proteína y proteína-proteína, proporcionando el mantenimiento de la integridad de las membranas del tilacoide, ya que impide las interacciones hidrofóbicas y la formación de canales de agua. (Singass et al., 1997, Wildermuth y Fall, 1996, Sharkey y Yeh, 2001).
2. Proporcionando propiedades antioxidantes. El isopreno funciona en la captura de radicales durante el proceso fotosintético, ya que se ha observado que remueve al ozono y a las demás especies reactivas (como los peróxidos) en las hojas. Lo anterior impide el daño de la estructura mesofilica, el cloroplasto y los tilacoides (Loreto et al., 2001a y 2001b).
3. Funciona como una válvula de escape, que libera el exceso de carbono y de energía producidos a altas temperaturas a través de la fotosíntesis. El isopreno producido permite liberar a los intermediarios necesarios para que se pueda llevar a cabo el proceso fotosintético (Logan, 1999). Sin embargo la mayoría de los investigadores están en contra de esta teoría por que dicen que existen otras formas para controlar la energía como es a través de la desactivación de la Rubisco (Sharkey y Yeh, 2001).

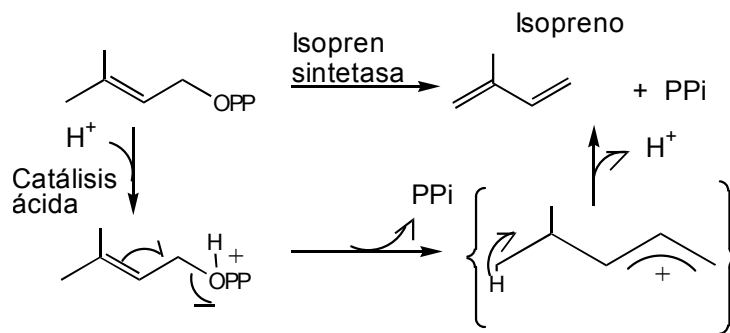
No todos los vegetales emiten isopreno, pero aquellos que tienen la capacidad de su emisión, pueden aguantar temperaturas mayores, con respecto a las que emiten poco isopreno, sin que se dañen sus hojas. Esto se debe a que el isopreno aumenta la capacidad de asimilación de CO₂ de las hojas a altas temperaturas. El isopreno no es almacenado, es emitido de inmediato en cuanto es generado, por lo que la tasa de emisión basal (la tasa determinada por la capacidad de la planta para emitir compuestos orgánicos volátiles (COVs) y que es medida en función a un grupo de condiciones estándar) es una medida

directa de la tasa de síntesis de isopreno. De esta forma, su formación y emisión depende de la luz.

II.1.2 Biosíntesis de Isopreno

El isopreno es sintetizado a partir del dimetil alil pirofosfato (DMAPP), al ser eliminado el difosfato por la acción de la enzima isopren sintetasa, o por medio de una catálisis ácida (Figura 4). La enzima requiere de Mg^{2+} y de aminoácidos como cisteína, histidina y arginina para su actividad. El magnesio tiene como función neutralizar a la carga negativa del difosfato (Silver y Fall, 1991, Lichtenthaler, 2000) (Figura 5):

Figura 4. Formación de isopreno enzimático y por catálisis ácida

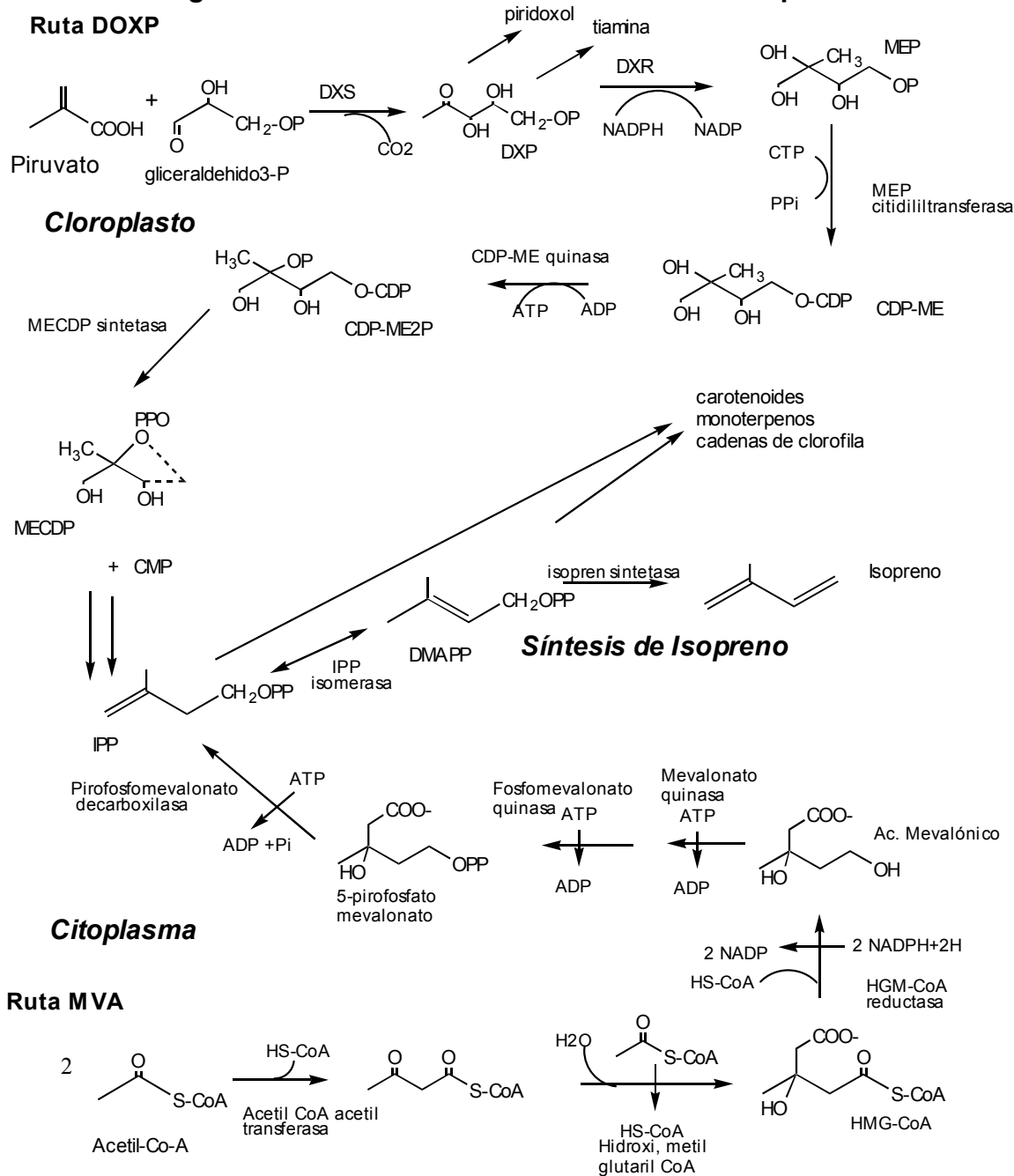


La enzima isopren sintetasa es una molécula con una masa de 98 a 137 kDa (kilodaltons), la cual contiene a dos subunidades con pesos de 58 y 62 kDa cada una. El punto isoeléctrico presenta un pH cercano a 4.7, pero el pH óptimo es de 8.0.

El DMAPP proviene del isopentil difosfato (IPP). Este compuesto puede ser sintetizado a través de dos rutas metabólicas: la vía del ácido mevalónico (MVA) y a través de la vía del 2-deoxi, xilulosa 5-fosfato-2-metileritriol-4-fosfato (DOXP). En la actualidad parece que la mayor parte de la síntesis de IPP se produce por la vía DOXP (cerca del 92%) la cual ocurre en el cloroplasto y una pequeña fracción proviene de la vía MVA (solamente un 8%), que se encuentra en el citoplasma (Figura 4 y 5) (Kreuzwieser et al., 1999, Kart et al., 2002).

La vía MVA cuesta 9 C, 24 ATP y 14 NADPH, mientras que la vía MEP cuesta 6 C, 20 ATP y 14 NADPH, siendo menor el requerimiento energético. El 80% carbono que se utiliza para la producción de isopreno proviene de la fotosíntesis, pero otra parte, un 20% proviene de otras fuentes como del citosol, de la fotorespiración, del almidón de reserva o de los aminoácidos (Steinbrecher, 1997a, Kart et al., 2002, Fall y Willdermuth, 1998, Affek y Yakir, 2003):

Figura 5. Rutas metabólicas de síntesis de isopreno



CDP-ME = es 4(citidina 5-difosfo)-2-C-metil-D-eritrol, CDP-ME2P = 2-fosfo-4-(histidina 5-difosfo)-2-C-metil-D-eritrol, MECDP = 2-C-metil-D-eritrol 2,4-ciclodifosfato, MEP = 2-C-metil-D-eritrol-4-fosfato.

(Sharkey et al. 2001)

II.1.2.1 Vía del Ácido Mevalónico (MAV)

La vía del mevalonato es la más conocida, se basa en la conversión de 3 Acetil CoA a la unidad de isopreno activa, isopentil pirofosfato. Esta vía se realiza en el citosol y es la responsable de la síntesis de las unidades de IPP que van a formar a los sesquiterpenos, esteroides y a varios poliprenoles (McGarvey y Croteau, 1995, Chapell, 1995, Bouvier et al., 1998):

El paso inicial ocurre cuando se fusionan dos moléculas de acetil-CoA para producir un compuesto de 6 carbonos llamado 3-hidroxi-3-metil glutaril-CoA (HMG-CoA) (Figura 5).

Las dos primeras reacciones utilizan Fe^{2+} y como cofactor a la quinona para realizarse. El siguiente paso es catalizado por la enzima HMG-CoA reductasa, la cual actúa produciendo dos reducciones que requieren de NADPH para formar al ácido mevalónico.

El mevalonato producido es fosforilado por la mevalonato quinasa y la fosfomevalonato quinasa, para formar el 5-pirofosfomevalonato. Este último sufre una descarboxilación por medio de la pirofosfomevalonato descarboxilasa en presencia de ATP y de un metal divalente para formar al isopentil pirofosfato (IPP). El grupo hidroxilo presente en el carbono terciario del pirofosfomevalonato es fosforilado antes de la eliminación, esto ayuda su salida de la molécula.

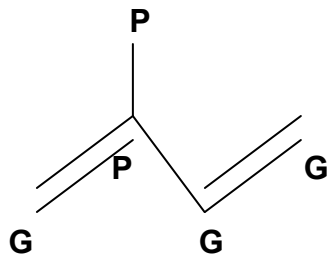
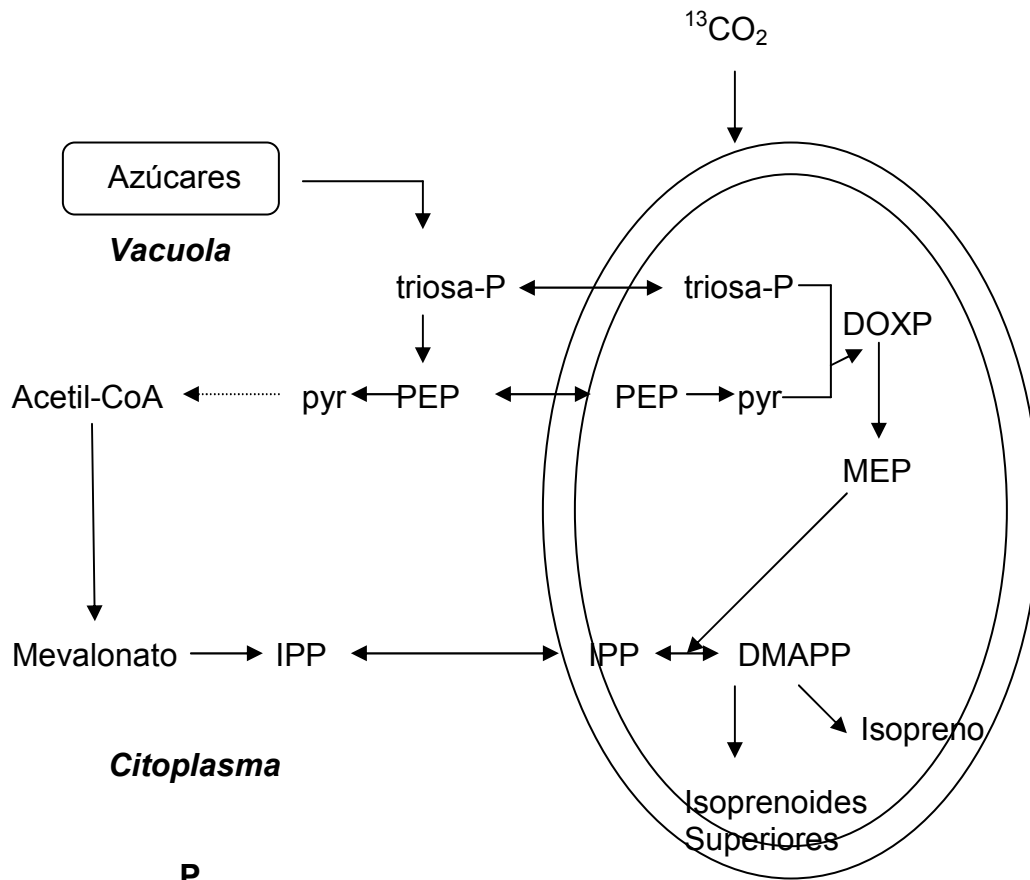
El origen de la síntesis del IPP va a depender del tipo de tejido y de la etapa de desarrollo. Los cloroplastos de los vegetales jóvenes son capaces de producir su propio IPP, pero en los maduros, el IPP debe de ser importado del citosol (Figura 5).

II.1.2.2 Vía de la 1-desoxi, xilulosa-5-fosfato (DOXP)

En esta vía ocurre en el citoplasma, se parte del piruvato y del gliceraldehído 3-fosfato produciendo después de una condensación al 1-desoxi xilulosa-5-fosfato. Posteriormente, una transposición directa en la cadena de la desoxipentulosa produce a la estructura del isopentil pirofosfato IPP, utilizando 3 moléculas de ATP (Rohmer et al., 1993, Lichtenthaler et al., 1997) (Figura 6).

Se ha observado que el mecanismo de control de esta vía se encuentra dado por transcetolasas: CapTKT1 y CapTKT2. La CapTKT1 une los ciclos de la pentosa fosfato con el de la glicólisis bajo condiciones fisiológicas; mientras que la CapTKT2, cataliza la reacción irreversible entre el gliceraldehído 3-fosfato y el piruvato, por lo tanto el CapTKT2 es probablemente el iniciador de esta ruta metabólica (Bouvier et al., 1998).

Figura 6. Procedencia del carbono en la síntesis de isopreno



P = C viene del piruvato
 G = C viene del gliceraldehído-3-fosfato
 (Affek y Yakir, 2003.)

II.2 Monoterpenos

II.2.1 Funciones

Los monoterpenos se emiten a la atmósfera con facilidad por su bajo peso molecular y alta volatilidad. Todos ellos son isómeros de 10 carbonos, que se forman con dos unidades de isopreno. Son compuestos con fuertes olores, poco solubles en agua, que presentan formas lineales (mirceno), monocíclicas (limoneno), bicíclicas (α -pineno), y tricíclicas (triciclono).

Los monoterpenos son almacenados en las hojas y por lo general sólo una pequeña porción se pierde cada día a la atmósfera. El papel biológico de los monoterpenos se ha asociado a los mecanismos de defensa contra herbívoros. La naturaleza “antihérbora” de los monoterpenos parece estar asociada a los efectos tóxicos del monoterpeno por ingestión. Este efecto requiere que estos compuestos se acumulen en los tejidos de las plantas hasta cierta concentración efectiva. Cualquier perturbación que rompa a la hoja abre el reservorio de los monoterpenos y estos son emitidos en grandes cantidades. La Tabla 4 presenta las funciones más importantes de los monoterpenos (Kesselmeir y Staudt, 1999):

Tabla 4. Funciones de los monoterpenos en el vegetal

Compuesto	Defensa directa (vs. herbívoros y patógenos)	Alelopatía	Formación de gases en la troposfera	Defensa indirecta	Polinización
Limoneno	X	X	X		X
α - Pineno	X	X	X	X	X
β -Pineno	X	X	X		X
Mirceno	X	X	X		X
Δ^3 -Careno	X		X		X
Camfor	X	X			X
Cinelo	X	X	X		X
Citronelol	X				X
Linolol			X	X	X
Ocimeno			X	X	X

Estos compuestos se pueden localizar en canales especializados y formando mezclas. Aún en la actualidad no se ha estudiado el efecto aditivo o sinérgico que pueden presentar y que permite que se encuentren en bajas concentraciones. Sin embargo, actúan con un amplio espectro de acción y se conoce que dañan a los procesos metabólicos comunes para los diferentes organismos (Langenheim, 1994, Lerdau et al., 1997). Los monoterpenos también sirven como solventes de terpenos de mayor peso molecular. Cuando ocurre

una herida en los vegetales, ellos se encargan de transportar a los compuestos de mayor peso molecular, los cuales a su vez, cubren la herida y luego se volatilizan con facilidad permitiendo que se cierre ésta. La emisión basal de los monoterpenos depende del tamaño del monoterpeno base y está muy ligada a las variaciones en la temperatura y su influencia en la presión de vapor del monoterpeno.

II.2.2 Biosíntesis de isoprenoides superiores

Los isoprenoides superiores se sintetizan a partir del mismo precursor que el isopreno: isopentil pirofosfato IPP (Gray, 1987):

La síntesis de IPP se encuentra regulada por la acumulación de resinas, ya que conforme aumenta la cantidad de terpenos producidos y acumulados, la síntesis de IPP disminuye (McGarvey y Croteau, 1995)

El IPP por si mismo no es lo suficientemente reactivo para condensarse y producir los isoprenoides superiores, por lo que se requiere de una isomerización por medio de la IPP isomerasa para formar al éster capaz de producirlos: el dimetil alil pirofosfato (mismo que se emplea en la síntesis de isopreno).

Una vez sintetizado el IPP, se pueden formar los monoterpenos y los demás isoprenoides por la acción de varias feniltransferasas sobre los diferentes precursores que son: geranil pirofosfato (GPP; C₁₀), farnesil pirofosfato (FPP; C₁₅) y geranilgeranil pirofosfato (GGPP; C₂₀) (Figura 7).

Estos intermediarios se condensan entre sí para formar los precursores de C₃₀ y C₄₀ de los esteroides y carotenoides, y pueden ser utilizados en reacciones de alquilación para producir cadenas y dar lugar a un gran número de otros compuestos (entre ellos a las proteínas), o dar lugar a una adición interna (ciclización) para crear el esqueleto básico de varios miembros de la familia de los isoprenoides. Posteriormente puede ocurrir una oxidación, reducción, isomerización, conjugación u otras transformaciones para producir los diferentes compuestos (Figura 8).

Figura 7. Enzimas que intervienen en la síntesis de isoprenoides

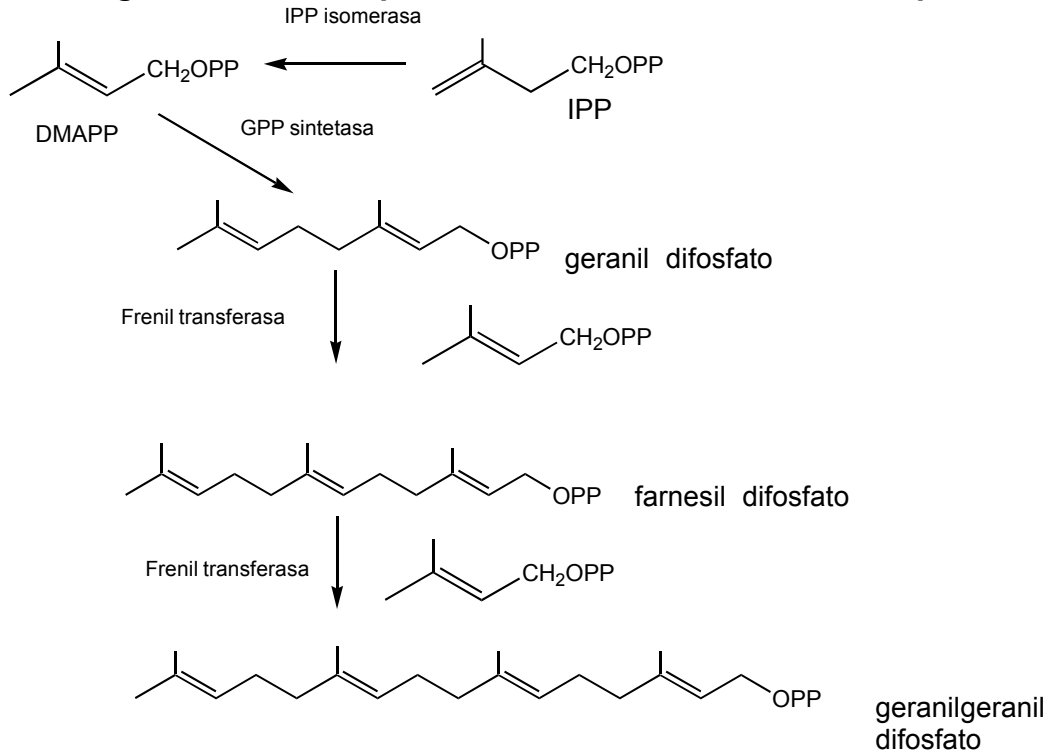
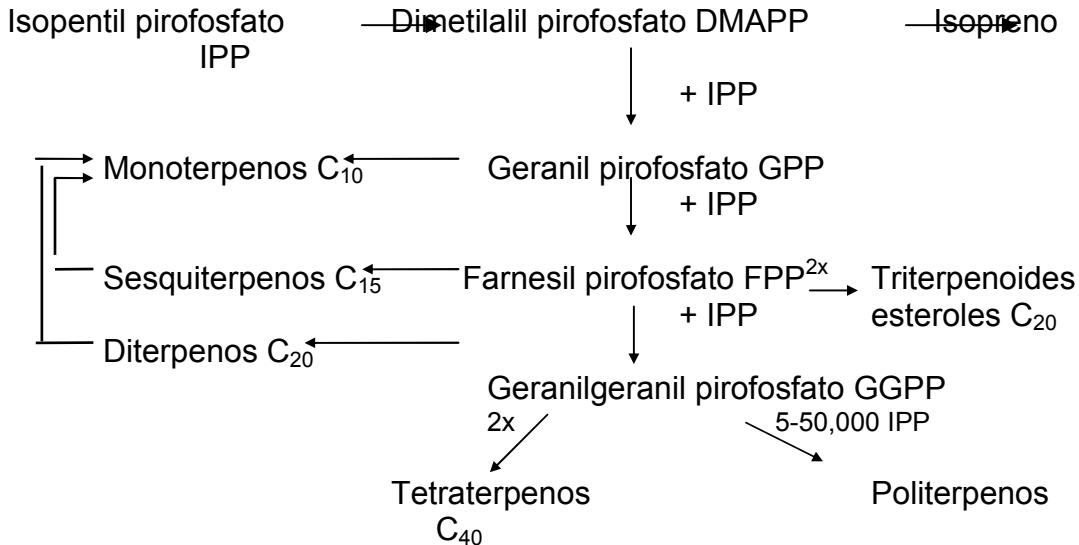


Figura 8. Síntesis de isoprenoides superiores

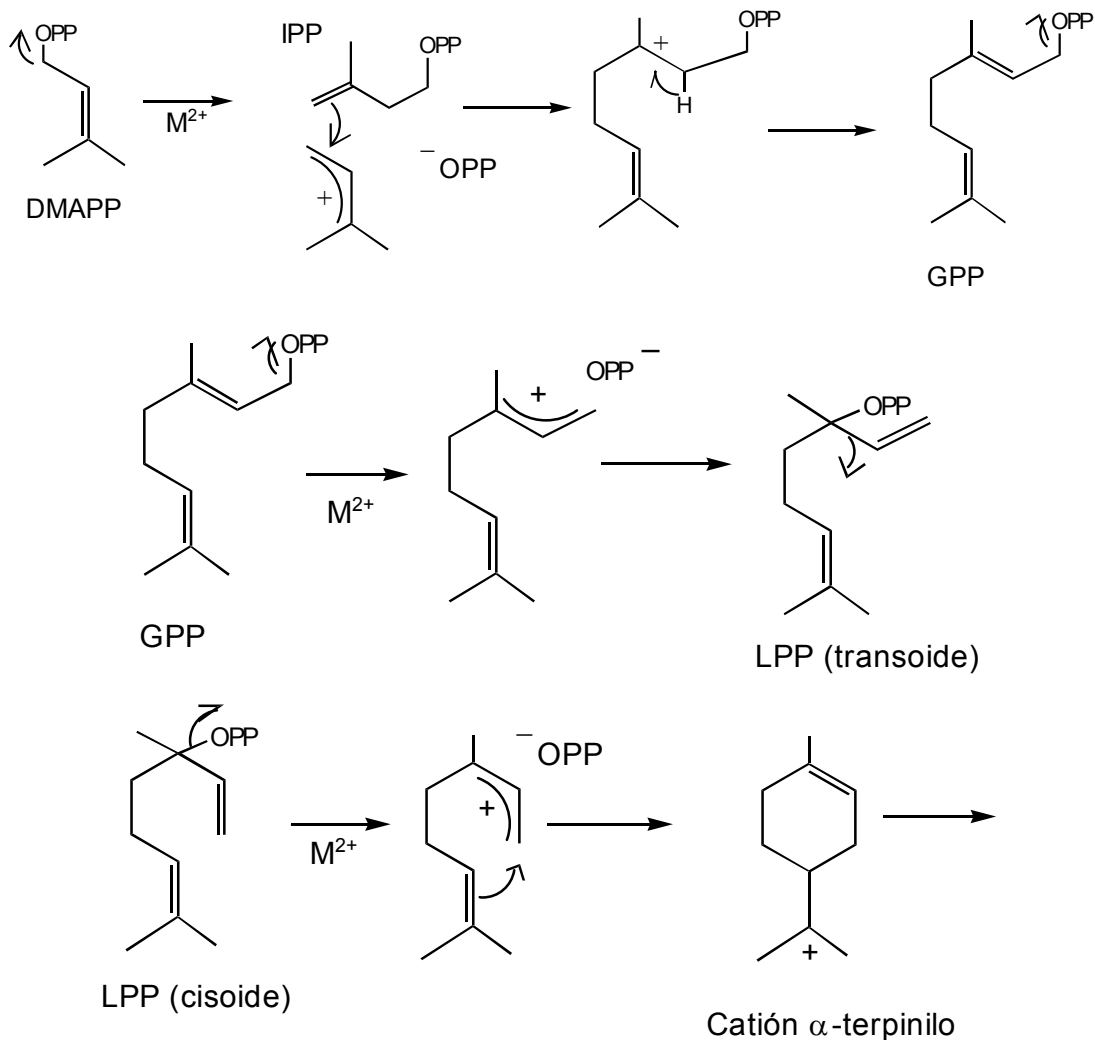


(Mc Garvey y Croteau, 1995)

La mayoría de los monoterpenos son compuestos cíclicos, y los diferentes miembros son formados a partir del intermediario de C₁₀ (geranio pirofosfato) por medio de enzimas llamadas ciclasas o sintetasa, o monoterpen ciclasas. La

síntesis de monoterpenos se encuentra regulada en los plástidos, y requiere de cationes divalentes. La mayoría de las ciclasas catalizan reacciones intramoleculares, y actúan sobre el GPP, el cual es ionizado e isomerizado a un linalil pirofosfato (LPP). Esta isomerización es necesaria por que la doble ligadura trans-2,3 del geranil impide la ciclización de la molécula. La ionización posterior del LPP promueve la ciclización de la doble ligadura terminal para producir un catión α -terpentilo (Figura 9), el cual es el intermediario universal de todos los monoterpenos (McGarvey y Croteau, 1995):

Figura 9. Formación del LPP y del catión α -terpentilo

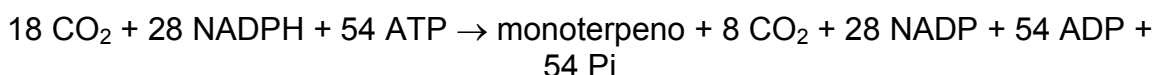


El catión α -terpentilo es un intermediario altamente reactivo y sufre diferentes procesos de adición electrofílica a la doble ligadura, además de otros rearrreglos, para formar los diferentes monoterpenos. Las enzimas encargadas de esta serie de reacciones, son de bajo gasto energético, cuentan con varios sitios activos y

pueden adquirir diferentes estructuras conformacionales. Lo que permite que al sintetizar un compuesto, por ejemplo del limoneno también se producen α y β pineno en pequeñas cantidades.

Estas ciclasas son heterogéneas en su tamaño (entre 56 a 96 kDa), y pueden ser monoméricas o diméricas. En las gimnospermas además del catión divalente requieren de un catión monovalente (principalmente K^{1+}) como cofactor, por lo cual trabajan a un pH óptimo superior que las angiospermas (entre 5 y 7).

La ecuación total de biosíntesis de una molécula de monoterpeno es (Steinbrecher y Ziegler, 1997):



II.3 Mecanismo de emisión de isopreno

La luz y la temperatura son las principales condiciones que controlan la producción y la emisión de isopreno. Aunque las altas presiones parciales intercelulares de CO_2 pueden inhibirlo.

La emisión de isopreno no se produce en la oscuridad, empieza rápidamente en la iluminación y es totalmente inducida en 30 minutos de exposición a la radiación (Monson, 1994). Una vez inducida, la producción se rige por la radiación fotosintética activa (PAR), y se mantiene relativamente constante en tanto exista radiación. Una vez que no existe luz solar, a los 7 minutos de oscuridad la síntesis empieza a declinar, alcanzando a los cinco minutos su total inhibición, esto por la reducción del contenido de ATP del vegetal (Loreto et al., 1993).

La emisión de isopreno responde directamente a la temperatura, y ocurre exponencialmente en el rango entre los 15°C y los 35°C . Por encima de los 35°C la tasa de emisión disminuye, alcanzando su máximo entre los 40 y 42°C . Por arriba de esta temperatura la producción declina por la pérdida en la integridad de las membranas y de la enzima, llegando a cero entre los 55 y 60°C (Harley et al., 1999).

Se ha observado que en las hojas de los vegetales en desarrollo, la cantidad de isopreno emitido aumenta conforme va madurando la hoja. La emisión empieza después de algunos días de crecimiento en primavera, ésta se incrementa durante tres semanas, y permanece entonces estable durante 8 a 10 semanas para luego decrecer en otoño (Goldstein et al., 1998). En un bosque, la emisión de isopreno empieza dos semanas después de que las hojas han brotado y la fotosíntesis ya inició. Esto se puede deber al desarrollo del patrón enzimático asociadas al también desarrollo de las capacidades fotosintéticas de la hoja. En las hojas viejas, la actividad enzimática disminuye.

Los controles de emisión del mecanismo de isopreno en la hoja son: 1) la concentración de enzima y de sustrato presentes, 2) la cantidad y actividad de la enzima (cuya emisión va a depender de la radiación fotosintéticamente activa: PAR y la temperatura), y 3) el destino de isopreno emitido, esto es si se va a difundir en las membranas, metabolizar o emitir (Fall y Wildermuth, 1998).

La emisión de isopreno se puede representar de manera matemática, por medio del siguiente algoritmo (Tingey et al., 1980):

$$E = E_s \times C_T \times C_L$$

donde:

E = emisión muestreada ($\mu\text{g g}^{-1} \text{PS}^* \text{h}^{-1}$)

E_s = factor de emisión basal ($\mu\text{g g}^{-1} \text{PS h}^{-1}$) (a una T de 303 K y PAR de 1000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)

*PS = peso seco de las hojas del vegetal que se muestrearon

C_L = es el parámetro de saturación de la luz debida a la emisión de isopreno:

$$C_L = \frac{\alpha \times C_{L1} \times PAR}{\sqrt{(1 + \alpha^2 \times PAR)}}$$

C_{L1} = 1.066 valor empírico

α = 0.0027 valor empírico

PAR = Radiación fotosintéticamente activa ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)

C_T = es el parámetro representativo de la dependencia de la isopren sintetasa a la temperatura y refleja la respuesta de la hoja al emitir isopreno como regulador fisiológico de la temperatura.

$$C_T = \frac{\exp \frac{C_{T1} \times (T - T_s)}{R \times T_s \times T}}{1 + \exp \frac{C_{T2} \times (T - T_M)}{R \times T_s \times T}}$$

R = 8.134 J/Kmol

C_{T1} = 95000 J/mol

C_{T2} = 230,000 J/mol

T_M = 314 K o 41°C (temperatura en donde ocurre la máxima actividad enzimática)

T = Temperatura durante el muestreo.

T_s = Temperatura estándar de 303 K

Los valores de las constantes van a variar dependiendo de las especies vegetales, pero se debe de considerar en el algoritmo el uso de suelo, la distribución de la biomasa, la estación y el estrés en que se encuentran las plantas. Algunos factores de emisión representativos se presentan a continuación (Tabla 5):

Tabla 5. Factores de emisión de isopreno de diferentes especies (a condiciones de PAR de $1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y 30°C)

Especie	Factores de emisión $\mu\text{g g}^{-1}_{\text{PS}} \text{h}^{-1}$
<i>Eucalyptus</i>	70.0
<i>Liquidambar</i>	70.0
<i>Quercus</i>	70.0
<i>Abies</i>	0.1
<i>Acacia</i>	0.1
<i>Cupressus</i>	0.1
<i>Pinus</i>	0.1

Kesselmeir y Staudt, 1999

II.4 Mecanismos de emisión de terpenos

Dependiendo de la función de la resina, serán los diferentes compuestos que se van a sintetizar. Por ejemplo la resina normal de los vegetales presenta una serie de terpenos; mientras que la de defensa ante un ataque, presenta otro. Esto se ha estudiado en las coníferas, donde se ha observado que los constituyentes de la resina normal son: α -pineno, β -pineno, β -fenantreno y camfeno; pero en los de defensa se forman además mirceno, Δ^3 -careno, terpinoleno, sabineno, limoneno y otros compuestos (Langenheim, 1994, Guenther, 1993).

Los monoterpenos producidos son almacenados en cantidades importantes en los órganos especializados de las plantas, como canales de resina y glándulas de aceite. Del almacén de monoterpenos, algunos son emitidos a la atmósfera por la volatilización que presentan, mientras que otros son readsorbidos y degradados dentro de la planta. Los terpenos almacenados van a variar en su composición según la estación, el horario y la defensa que requiera el vegetal. Cuando la glándula o los ductos de resina se encuentran saturados, se detiene la producción de monoterpenos (Lerdau, 1991). Los monoterpenos son emitidos a través del lado adaxial (parte superior) de la hoja (aproximadamente el 75%) y por la corteza de los árboles. En las hojas jóvenes se han observado emisiones de α -pineno, (el cual parece que sirve como defensa a los herbívoros), de monoterpenos oxigenados (1,8 cineol) y de limoneno (Steinbrecher, 1997b, Gunther, 1991). Al alcanzar las hojas la madurez, la tasa de emisión cambia siendo emitidos principalmente α - pineno, β -pineno y mirceno, aunque también depende de la especie (Tollsten, 1996).

La emisión de los monoterpenos que se encuentran en la resina de los vegetales depende de su presión de vapor, la cual es proporcional a la temperatura. La presión de vapor de un monoterpeno depende de su volatilidad y de su concentración, presentando una respuesta que sigue la Ley de Henry. Es decir, su emisión incrementa en forma lineal de acuerdo a su concentración y a la temperatura. Esto se debe a que, la emisión proviene de la volatilización de los monoterpenos de los lugares de almacenamiento y no depende de procesos fisiológicos de los vegetales (Sharkey, 2001, Lerdau, 1991, Staudt, 1997).

El algoritmo para la estimación de la emisión de los monoterpenos depende de la temperatura, de la presión de vapor y de la resistencia de transporte durante su difusión, de acuerdo a la siguiente expresión:

$$E = E_s \times \exp \beta^{(T-T_s)}$$

donde:

E = emisión muestreada ($\mu\text{g g}^{-1} \text{PS h}^{-1}$)

β = corresponde a la pendiente $\ln E \text{ dT}^{-1}$ (valores entre 0.057 y 0.144 K^{-1} con un valor promedio de 0.09 K^{-1})

E_s = emisión a la temperatura estándar de 303 K (varía de 2 a 3.5 $\mu\text{g g}^{-1} \text{PS h}^{-1}$ en primavera y otoño, y de 7 a 15.5 $\mu\text{g g}^{-1} \text{PS h}^{-1}$ en verano)

T = temperatura registrada durante el muestreo (K)

T_s = temperatura estándar (303 K)

Recientemente, se ha observado que algunos monoterpenos son emitidos en altas concentraciones a altas temperaturas, y que al igual que el isopreno su emisión también es enzimática. La emisión empieza por debajo de los 30°C, alcanzando su máximo a los 35°C, y se ha encontrado emisión hasta los 45°C pero con una disminución del 30%. La emisión de monoterpenos inducidos por la luz se encuentra en el mesófilo de la hoja (Staudt et al., 1997).

La síntesis de monoterpenos es controlada por varias enzimas (por las ciclasas), pero en este sistema endógeno de emisión no se conoce cómo ocurre su activación térmica. Al igual que el isopreno, se ha observado que su emisión protege a las membranas, estimula la fotorespiración y fotosíntesis, y permite que se produzca tolerancia a las altas temperaturas, ya que incrementa la habilidad fotosintética por arriba de los 30°C, y al mismo tiempo facilita que el vegetal se recupere rápidamente después de la exposición a condiciones extremas (Loreto et al., 1998). La pérdida de carbono fijado fotosintéticamente que interviene en la emisión de monoterpenos es baja, va de 0.01 a 0.40% (Steinbrecher et Ziegler, 1997b). Este tipo de monoterpenos emitidos enzimáticamente, utilizando como algoritmo de emisión al del isopreno, considerando la radiación fotosintéticamente activa y la temperatura.

II.5 Factores que afectan la emisión de isopreno y de los monoterpenos por mecanismos enzimáticos

II.5.1 Edad de la hoja

La edad de la hoja es un factor importante que interviene en la emisión del isopreno y de los monoterpenos. En el caso de isopreno el nacimiento de las hojas nuevas en diferentes estaciones del año va a ocasionar que la emisión se active en diferente momento. Por ejemplo, si la hoja nace durante la primavera cuando el clima se encuentra todavía frío, la emisión empieza hasta 23 días después de su nacimiento (Monson, 1994). Sin embargo, si la hoja nace durante la época de calor, entonces la emisión empieza a los 6 días después de que emergió y se incrementa rápidamente. La emisión parece que va a depender de una temperatura umbral de activación. La mayor emisión de isopreno se presenta cuando las hojas se encuentran jóvenes ya completamente desarrolladas en la estación seca (de 28 a 29 días después de su nacimiento), mientras que la capacidad de emisión disminuye en las hojas maduras, cuando su actividad metabólica disminuye y se presenta una pérdida del contenido de nitrógeno (Kuhn et al., 2004).

En algunos casos se ha observado la emisión enzimática de los monoterpenos en las hojas jóvenes de algunas plantas emisoras de isopreno. Esta emisión se presenta durante el primer mes de desarrollo de la hoja. Al mismo tiempo en este mes, empieza lentamente la emisión de isopreno y va disminuyendo la de los monoterpenos hasta cesar completamente y quedar a su máximo la emisión de isopreno (Kuhn et al., 2004). Esta emisión de monoterpenos en las hojas jóvenes parece que se encuentra como mecanismo de defensa para que los depredadores no se las coman y puedan llegar a desarrollarse completamente.

En cambio, cuando ya se encuentran completamente desarrolladas la emisión es mayor y no depende exclusivamente de la luz, sino del almacenamiento de los monoterpenos que se encuentran en sus órganos especializados. Por su parte, en las hojas viejas la emisión disminuye al igual que su actividad metabólica (Kuhn et al., 2004).

II.5.2 Radiación

La emisión de isopreno y de los monoterpenos enzimáticos depende de la fotosíntesis, principalmente del ciclo de reducción del carbono fotosintético (PCRC o Ciclo de Calvin). En los reportes más recientes se describe la dependencia de la luz en la emisión, ya que en la mayoría de los casos la emisión de isopreno se estanca en el mismo nivel de saturación de la luz que en la fotosíntesis, pero en otros casos la emisión de isopreno continúa y aumenta aún después de que la fotosíntesis ya se saturó. El incremento en la emisión de isopreno se puede deber a la activación de la enzima isopren-sintetasa por la luz, a la activación de la vía metabólica MEP para proporcionar al sustrato o a la combinación de ambas. Por ejemplo, los cambios en el pH y el magnesio que activan a la enzima, ocurren en los tilacoides como respuesta a la luz y

ocasionan una ligera emisión. Pero una emisión tres veces mayor ocurre cuando se aumenta la concentración de gliceraldehído-3-fosfato y palmitol CoA (Sharkey y Yeh, 2001).

En el caso de los monoterpenos no enzimáticos, su emisión no se ve afectada por la luz o radiación, y su emisión puede continuar durante toda la noche, ya que depende de la temperatura y la presión de vapor del compuesto.

II.5.3 Temperatura

La dependencia de la temperatura en la emisión de isopreno es diferente a la dependencia de la temperatura en la fotosíntesis. La fotosíntesis en las plantas C_3 a una concentración de 350 ppm de CO_2 presenta un amplio rango en la temperatura óptima con un máximo a $30^\circ C$. Sin embargo la emisión de isopreno es muy sensible a la temperatura, requiere de una energía de activación entre 60 a 90 kJ mol^{-1} . Una vez activado, la proporción de carbono fijado y emitido como isopreno se incrementa rápidamente con la temperatura. El isopreno a los $30^\circ C$ utiliza el 2% del C fijado por la fotosíntesis, pero a los $40^\circ C$ se emite el 15% del carbono fijado. En la mayoría de los casos, la máxima emisión ocurre a los $40^\circ C$. A temperaturas mayores de $40^\circ C$, la emisión disminuye, por que la enzima empieza a desnaturalizarse. La dependencia de la emisión de isopreno a la temperatura parece que reside en la enzima isopren sintetasa y a su valor de energía de activación de Arrhenius y a la disponibilidad de DMAPP, como su sustrato primario. Como ya se mencionó, la emisión de los monoterpenos que se encuentran en la resina de los vegetales depende de su presión de vapor.

II.5.4 Estrés hídrico

En períodos de estrés hídrico, la emisión de isopreno aumenta (ocupándose hasta un 72 a un 91% del carbono fijado en la fotosíntesis en la síntesis de isopreno). Después de largos periodos de sequía o periodos de estrés hídrico severo, la emisión disminuye, pero una vez que se acaba éste estrés la planta se recupera rápidamente y vuelve a emitir isopreno (Pegoraro, 2004).

La emisión de isopreno durante los periodos de estrés hídrico es independiente de la dinámica del estoma. Solamente cuando la apertura estomática se encuentra muy disminuída ($0.01 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) es cuando se afecta la emisión.

En los monoterpenos no enzimáticos, no le afecta el cierre de la estoma por estrés hídrico, ya que la emisión sigue dependiendo de las concentraciones de monoterpenos acumulados y presentes en las hojas, y no de la condición del estoma (Steinbrecher, 1997a).

II.5.5 Efecto del incremento del CO₂

El efecto de altas concentraciones de CO₂ en las emisiones de isoprenoides ha causado controversia. En algunos experimentos se ha observado que la emisión se ve inhibida a altas concentraciones de CO₂. En cambio, en el caso de los monoterpenos, la emisión no se ve afectada por las altas concentraciones de CO₂. Los experimentos de laboratorio indican que:

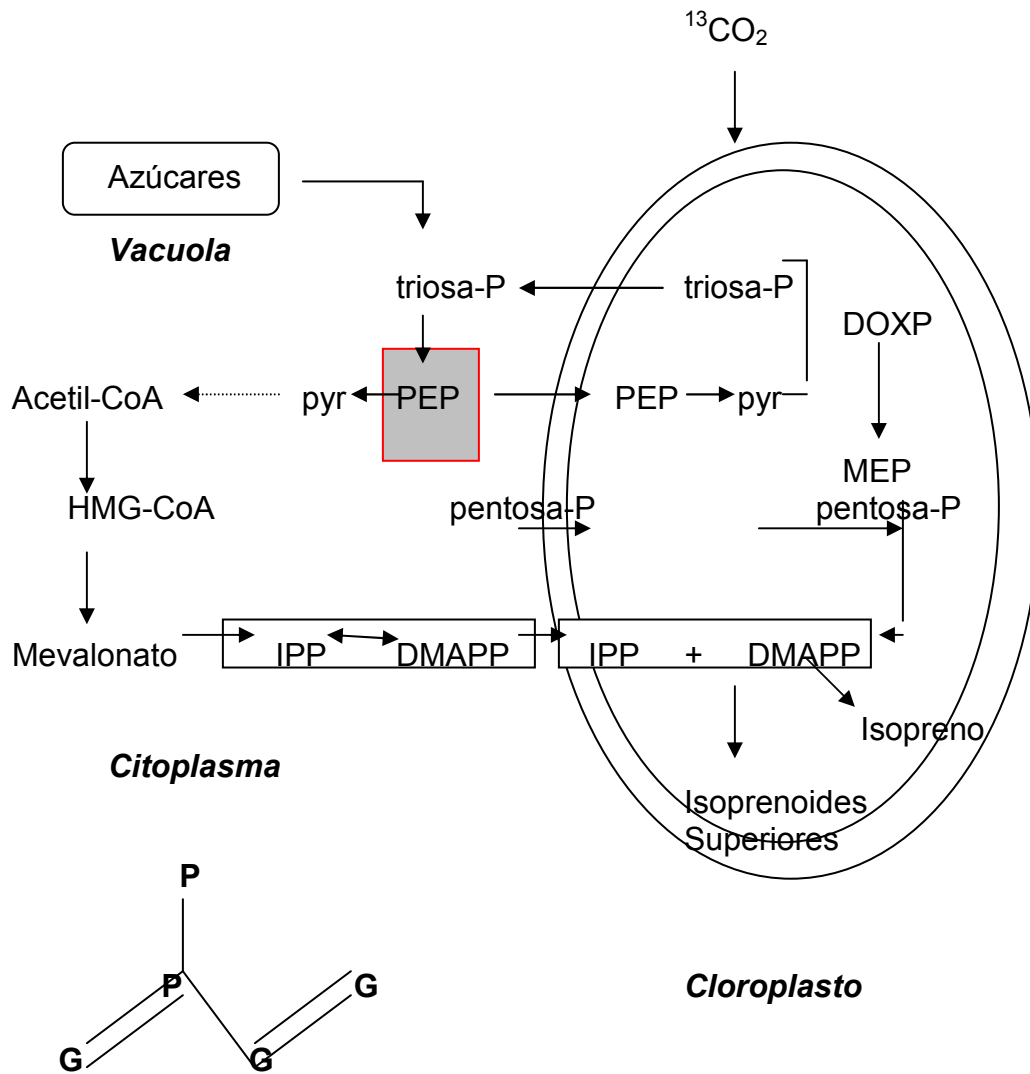
1. El CO₂ del ambiente satura la capacidad de formación de isoprenoides
2. La inhibición de isopreno se puede deber a la falta de ATP que causa la acumulación de la sacarosa en las hojas.

No obstante, la inhibición de isopreno no se observa en el encino, y por el contrario, las plantas de éste tipo que crecen a altas concentraciones de CO₂, emiten mayores cantidades de isopreno y tienen una mayor actividad fotosintética (Rosentiel, 2003).

Estudios recientes han demostrado que el control de la disminución en la emisión del isopreno ocurre sobre el fosfoenol piruvato (PEP) proveniente del citosol (marcado en gris en la Figura 10):

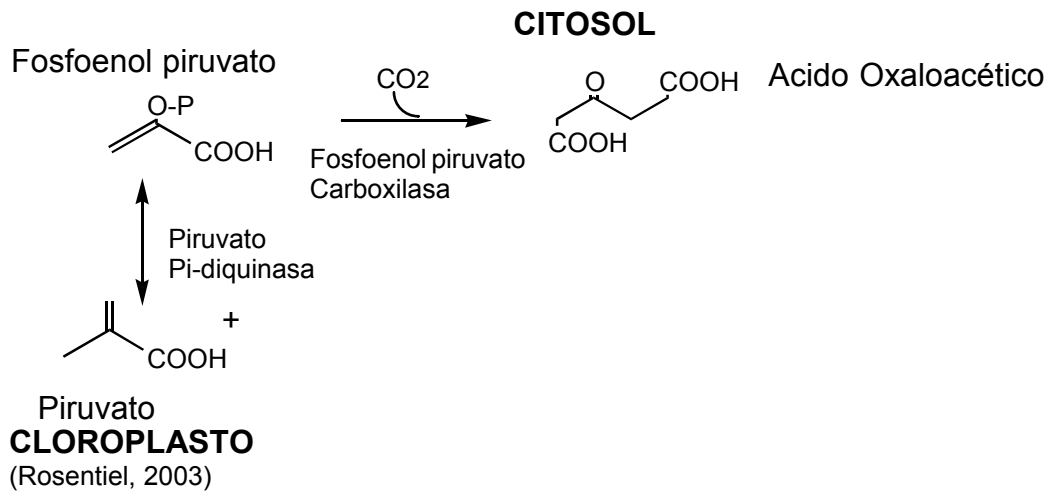
El aumento de bióxido de carbono produce un incremento celular de bicarbonato (HCO₃⁻), el cual reduce las concentraciones de PEP en el citosol, al activar la enzima fosfoenolpiruvato carboxilasa (PEPC), que cataliza la carboxilación del PEP y formación del ácido oxaloacético (Rosentiel, 2003) (Figura 11):

Figura 10. Control del PEP en a altas concentraciones de CO₂



P = C viene del piruvato
 G = C viene del gliceraldehído-3-fosfato
 (Rosentiel, 2003)

Figura 11. Formación del ácido oxaloacético por la enzima fosfoenol piruvato carboxilasa



La emisión de monoterpenos emitidos enzimáticamente en presencia de altas concentraciones de CO_2 decae, ya que la actividad de la enzima se ve afectada y por lo tanto su capacidad de síntesis. Las posibles causas de la baja actividad pueden ser:

1. la baja en la regulación de la expresión del gen, para producir a la enzima.
2. un cambio en la estructura de la proteína o una desactivación de la misma por modificaciones covalentes de la fosforilación-desfosforilación de los aminoácidos de la enzima.
3. una baja concentración del sustrato.

Sin embargo puede ocurrir que la síntesis de un monoterpeno se vea favorecido, y la de los demás quede inhibida.

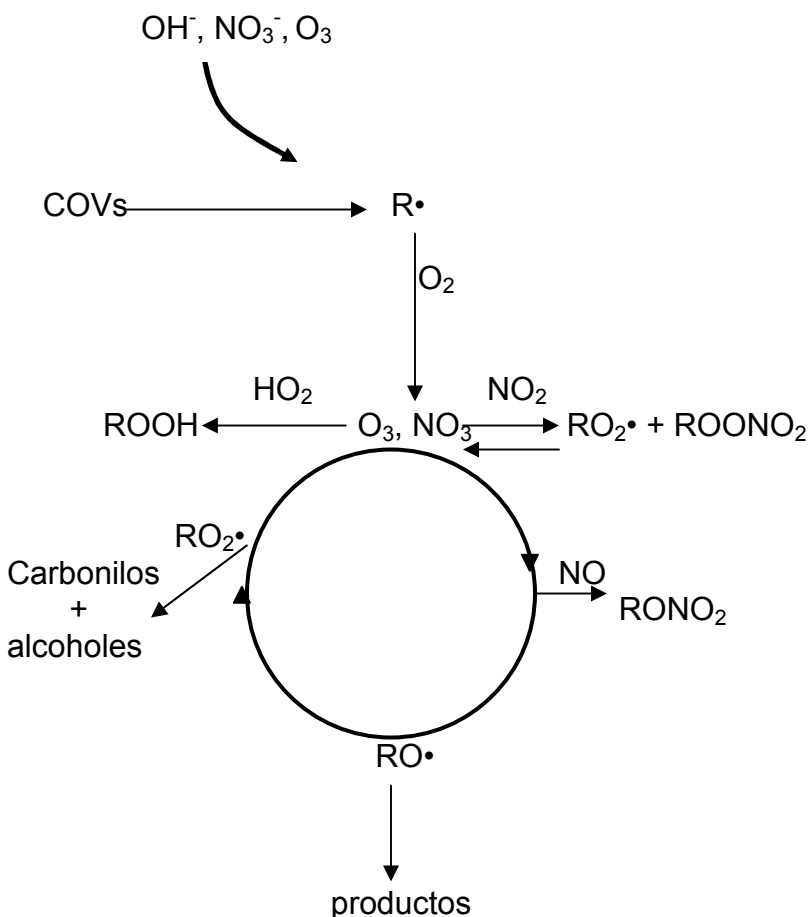
En condiciones de estrés hídrico, se ha observado que las emisiones de monoterpenos a altas concentraciones de CO_2 no se ven afectadas, y actúan como protección para el vegetal (Loreto et al, 2001a).

En resumen, los efectos negativos por la alta concentración de CO_2 en la emisión de isoprenoides, parece que provienen de las condiciones del suelo, de otras condiciones de estrés ambiental (balance de nutrientes, estrés hídrico) y a la viabilidad de la planta. Mientras que la fotosíntesis, en las plantas que crecen a altas concentraciones de CO_2 , no se ve alterada, pero a la larga se ha observado una mayor eficiencia en el proceso de fotosíntesis (Steinbrecher, 2002a).

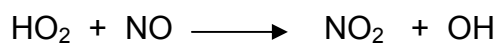
III. Degradación del isopreno y los monoterpenos en la atmósfera

El isopreno y los monoterpenos que son emitidos a la troposfera reaccionan con los radicales OH, NO₃ y O₃. Estas reacciones son específicas para el compuesto emitido. Pero todas ellas parten de la adición de cualquier radical a los compuestos orgánicos, según se muestra en la Figura 12 (Atkinson, 2000).

Figura 12. Transformación y degradación de los compuestos orgánicos volátiles (COVs)

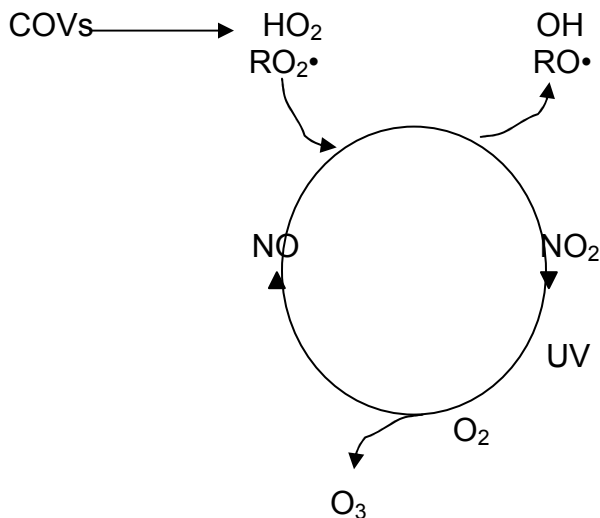


La degradación de los COVs produce como intermediarios al RO₂• y al HO₂, los cuales reaccionan con NO convirtiéndolo a NO₂:



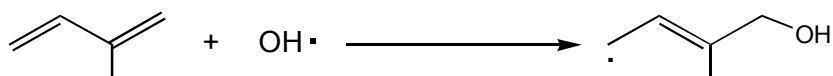
El NO_2 , $\text{RO}\cdot$ y HO_2 formados siguen reaccionando, para formar como producto final al ozono (Figura 13):

Figura 13. Reacción general de formación de ozono

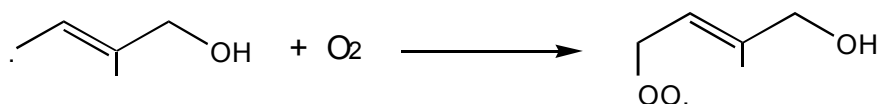


III.1 Reacciones con el radical OH

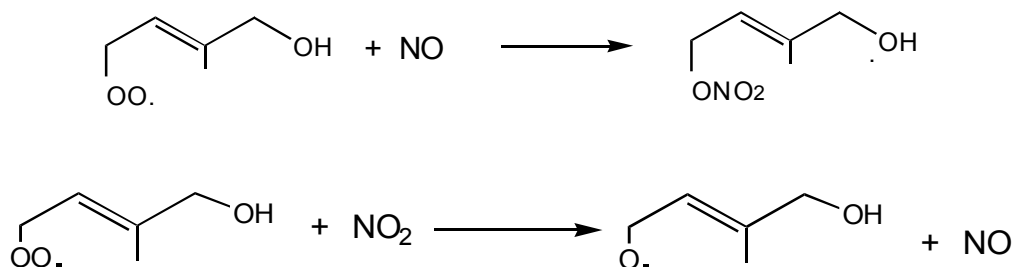
La reacción más importante que ocurre en la atmósfera es entre los isoprenoides y el radical OH. La primer reacción consiste en la adición del OH· en una de las dobles ligaduras de los compuestos, formando un radical β-hidroxi alquilo, el cual puede isomerizarse para dar un radical δ-hidroxi alquilo. En el siguiente ejemplo se muestra la reacción con el isopreno (Carter, 1996; Carter y Atkinson, 1996):



El radical hidroxi alquilo reacciona con el oxígeno para formar un peróxido:



El radical peroxido formado, reacciona a su vez con NO, NO₂, formando radicales hidroxialquil peroxinitratos (que son térmicamente lábiles) o radicales hidroxialquil alcóxido (Stevens et al., 1999):



Posteriormente los radicales alcóxido se isomerizan y reaccionan con el oxígeno empezando la descomposición de la molécula. La descomposición de la molécula de isopreno va a formar como productos finales formaldehído (HCHO) más metil vinil cetona (CH₃C(O)CH=CH₂) ó formaldehído más metacroleína (CH₂=C(CH₃)CHO).

Todas las reacciones posibles por el ataque del radical OH al isopreno, se presentan en la Figura 14 (Carter, 1996):

Figura 14. Reacciones del isopreno con el radical OH

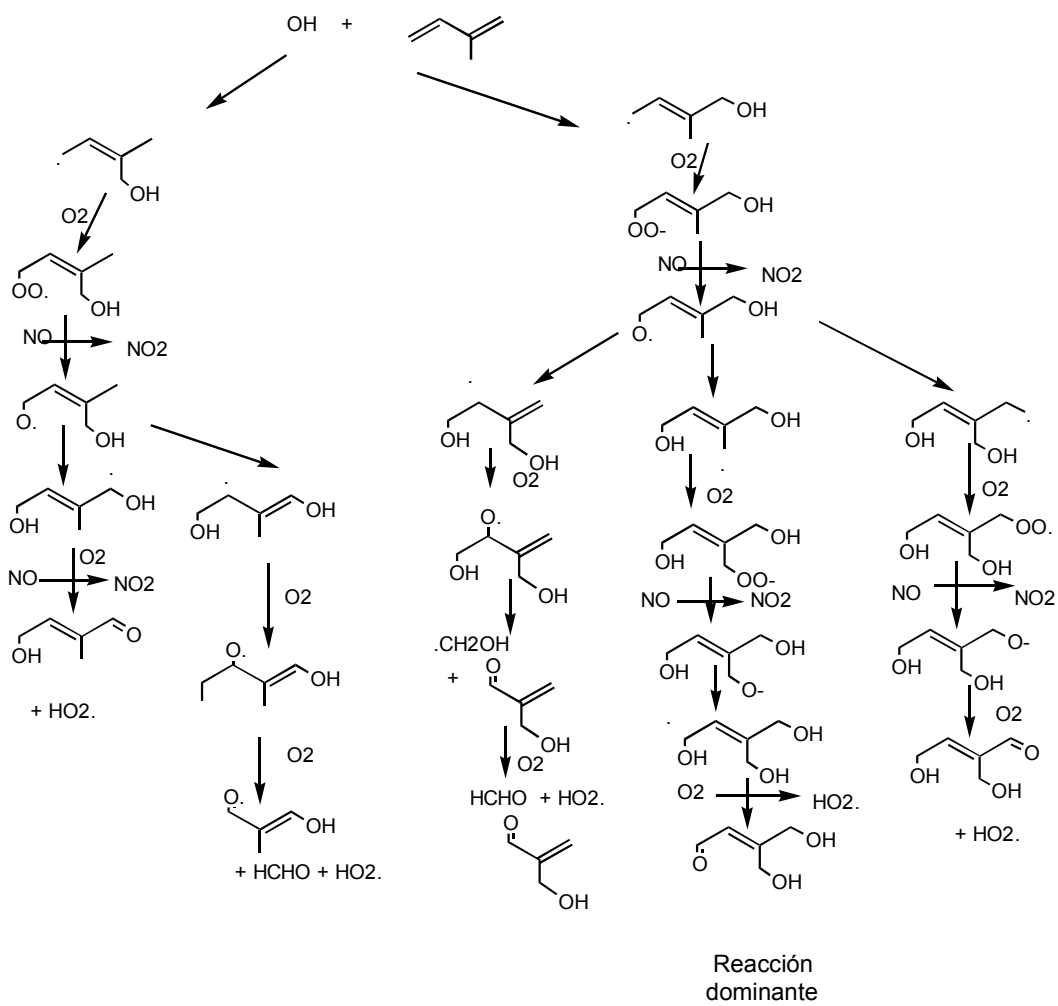
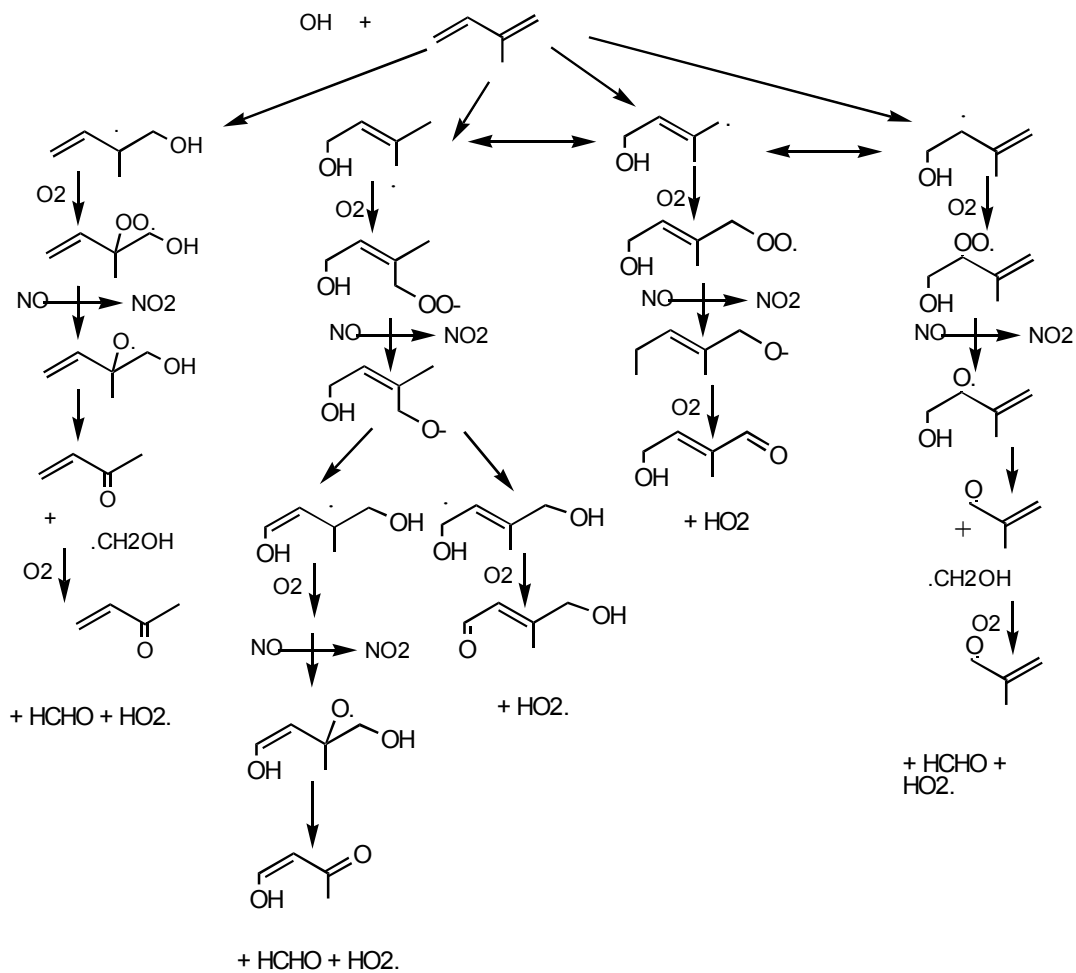
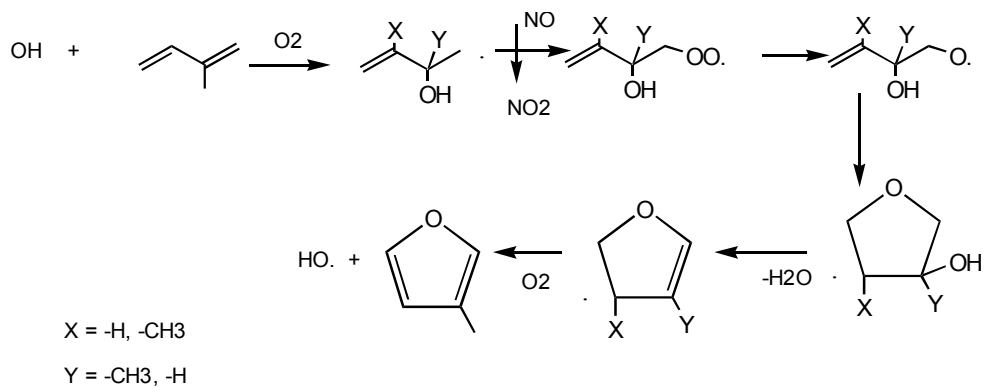


Figura 14. Continuación.....



Reacción Dominante MVK

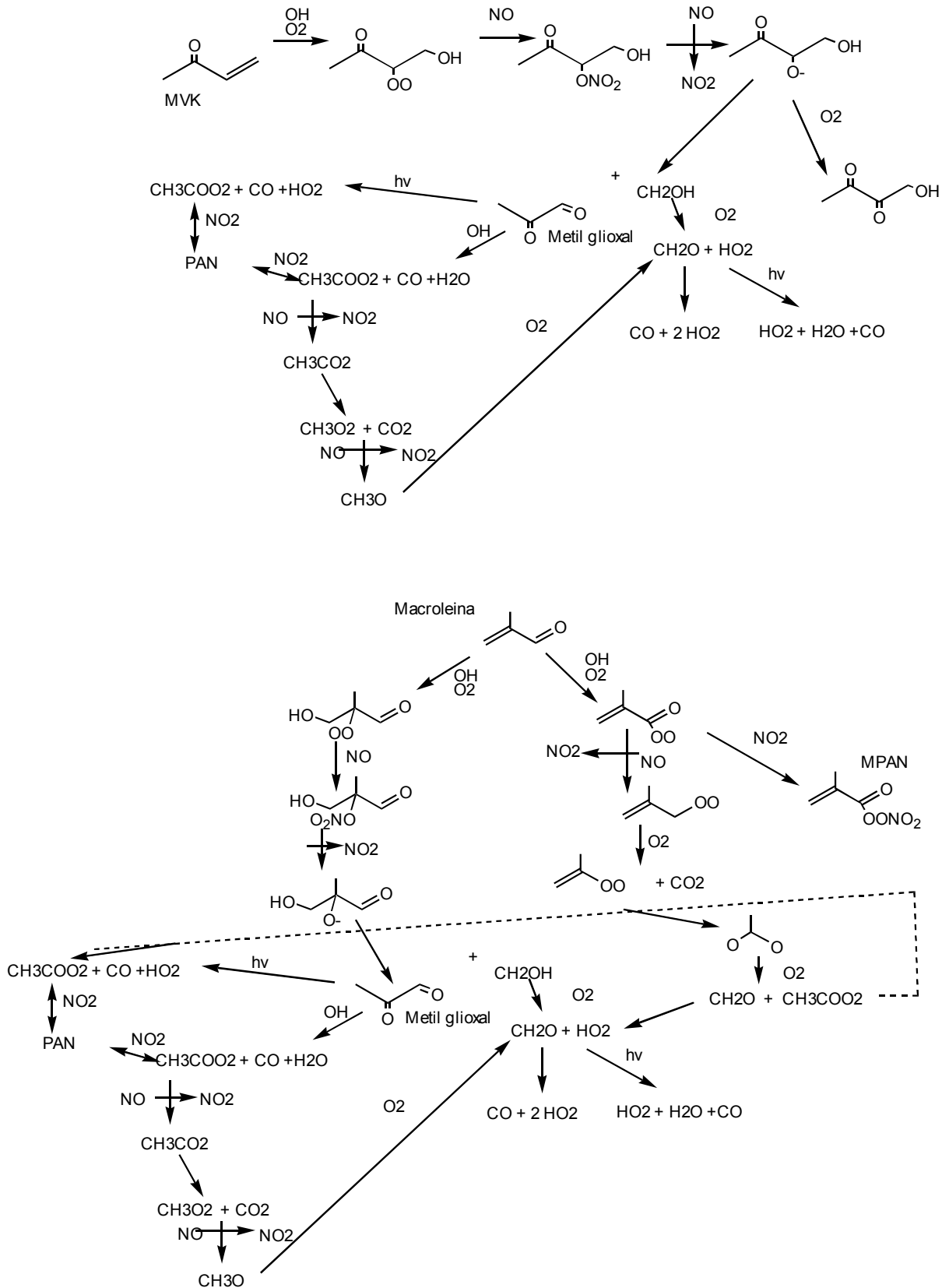
Reacción dominante Macroleína



Reacción dominante

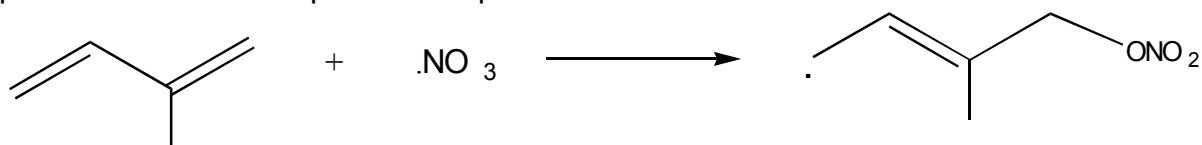
Los principales compuestos de degradación, a su vez siguen reaccionando para formar intermediarios que van a dar lugar al ozono. En el caso del isopreno, los principales compuestos formados son la macroleína y la metil, vinil cetona. Estos a su vez van a producir como productos finales al formaldehído, el peroxiacetil nitrato y a los radicales HO₂, como se puede observar en las siguientes reacciones (Figura 15) (Wang et al., 2000):

Figura 15. Reacciones de degradación de la metil, vinil cetona (MVK) y de la macroleína

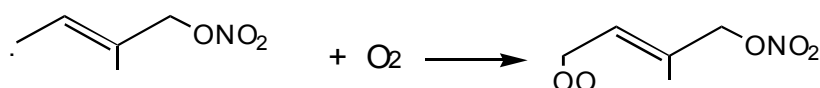


III.2 Reacciones con el radical NO_3

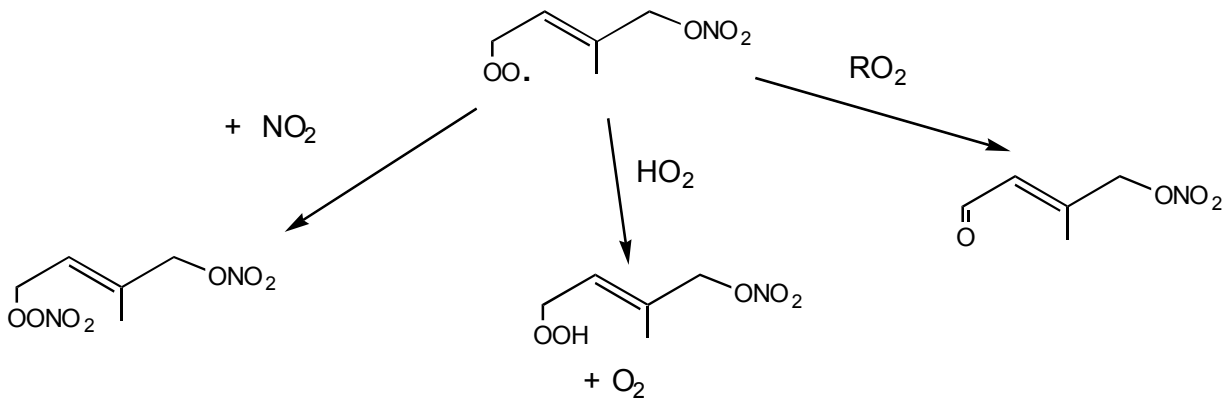
El radical nitrato se forma de la reacción del O_3 con el NO_2 . Una vez formado, reacciona con los isoprenoides a través de su adición en las dobles ligaduras, para formar radicales β -nitrooxialquilo:



posteriormente reaccionan con el oxígeno para formar radicales nitrooxialquil peroxido:



A partir de éste radical, pueden ocurrir reacciones con NO_2 , HO_2 , oxígeno, RO_2 y/o isomerización. Sin embargo en este caso no se cuentan con los métodos para determinar las reacciones y productos que se forman en cada caso.

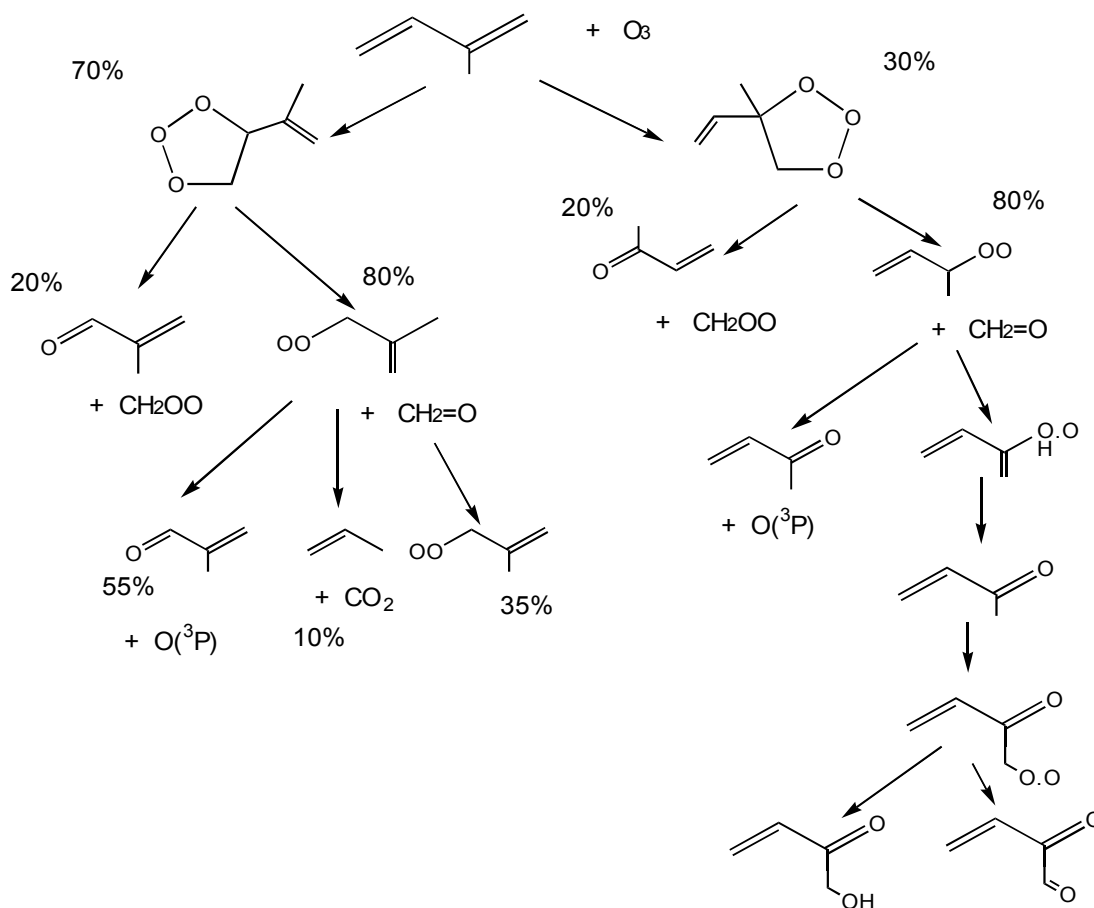


La reacción entre los monoterpenos y el radical NO_3 es muy importante, ya que va a dar lugar a la formación de aerosoles.

III.3 Reacciones con ozono

El ozono reacciona con los isoprenoides al adicionarse a la doble ligadura, formando un ozónido primario de alta energía, el cual se descompone rápidamente formando carbonilos y biradicales. Por ejemplo en el caso del isopreno los productos que se forman son los siguientes (Figura 16) (Paulson et al., 1992a y b):

Figura 16. Reacciones del isopreno con ozono



La descomposición del ozónido se da por dos rutas diferentes y dependiendo de éstas son los carbonilos formados, los cuales son estables. Sin embargo, se pueden formar biradicales Criegee, que se estabilizan térmicamente o se descomponen para formar una gran variedad de productos radicales como OH, HO_2 y $O(^3P)$. Los radicales más largos son más estables por lo que se favorece la formación de formaldehído.

III.4 Formación de aerosoles.

Los monoterpenos reaccionan durante el día formando compuestos de degradación, pero en la noche y en presencia de altas concentraciones de ozono forman importantes concentraciones de aerosoles. Esto se debe a que en presencia de luz, la temperatura es mayor. Pero en la oscuridad la temperatura es menor y por lo tanto también disminuye la presión de vapor de los compuestos, lo que permite que se puedan condensar y formar los aerosoles (Hoffmann, 1997, Calogirou, 1999).

Los tiempos de vida media de los monoterpenos se presentan en la siguiente tabla:

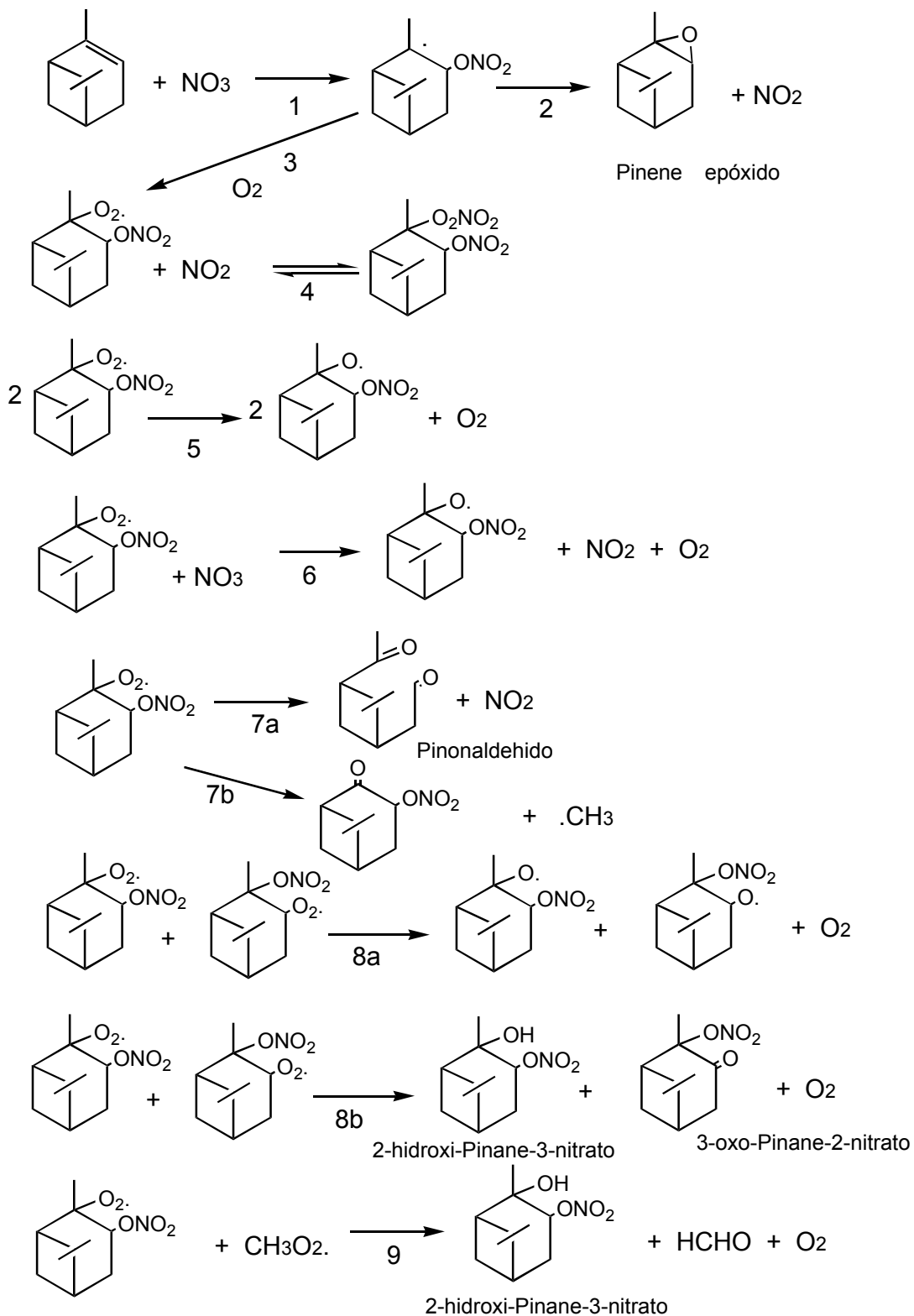
Tabla 6. Tiempos de vida media de formación de aerosoles con respecto a la reacción con el radical indicado

	Tiempos de vida media		
	OH día (Minutos)	O ₃ día (Minutos)	NO ₃ noche (Minutos)
β-pineno	132	902	1107
Δ ³ -careno	118	365	305
Limoneno	61	68	228
Terminen-4-ol	61	54	190
α-pineno	194	156	451
Ocimeno	41	25	126
Linalool	66	31	237
Trans-carofileno	52	1	146

(Hoffmann, 1997)

La reacción entre los monoterpenos y el radical NO₃ se produce durante la noche a través de la adición del nitrato a la doble ligadura carbono-carbono. El tiempo de vida media de las reacciones de los terpenos con éste radical en la tropósfera ocurren entre los 4 minutos a las 18 horas, y produce entre un 58% a un 72% de pinonaldehído y el resto de alquil nitratos. En el caso del α-pineno, después del ataque del NO₃ a la doble ligadura y de la adición de oxígeno, se forma un radical nitrato peroxipinano, el cual posteriormente se puede oxidar para producir el pinonaldehído. El pinonaldehído a su vez puede formar norpinonaldehído (Figura 17) (Wanberg et al., 1997, Calogirou et al., 1999, Alvarado, 1998).

Figura 17. Reacciones del α -pineno con el radical NO_3

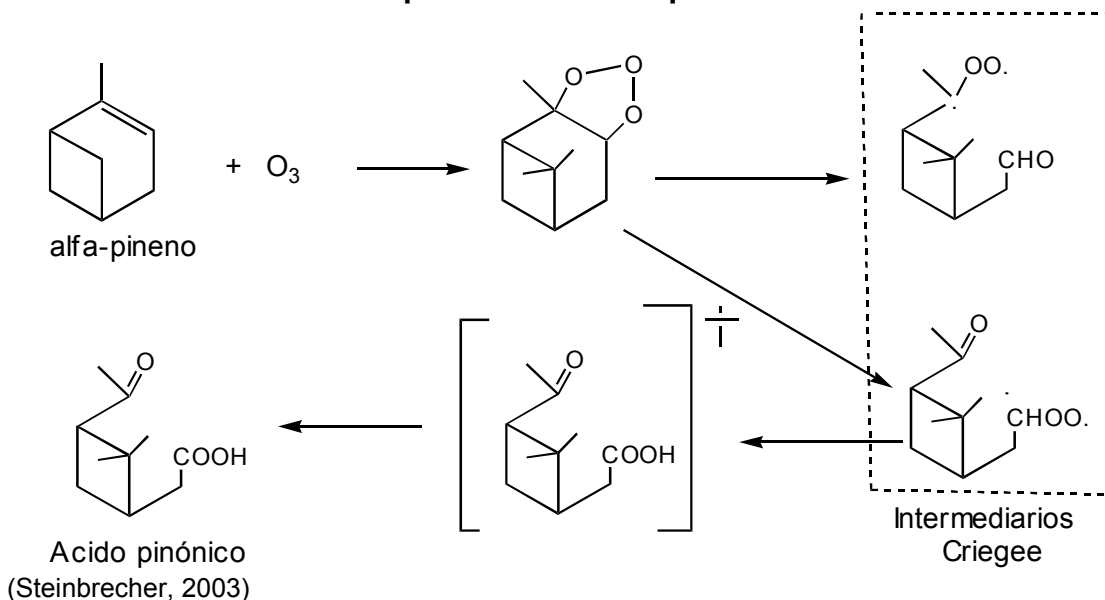


A su vez el pinonaldehído sigue reaccionando para formar peroxiacetil nitrato (PAN) y nitratos orgánicos, que al final también van a producir ozono.

La cantidad de aerosoles medidos en estos estudios de Hoffmann y Calogirou indican que se puede formar una mínima concentración de aerosoles con el isopreno, al igual que se forma un pequeño porcentaje con el ocimeno y el α -pineno, pero con el β -pineno y limoneno se forma entre un 30 a un 40% y en monoterpenos más complejos como el trans-carofileno se llega a formar un 100%. La tendencia de formación de ozono por los monoterpenos se encuentra relacionada a su estructura, por ejemplo en los monoterpenos lineales como el ocimeno, es menor la formación que en los cíclicos como el α -pineno, pero en los poli insaturados, como el limoneno, se espera que la formación sea mayor. Los resultados obtenidos hasta ahora se han realizado en cámaras de smog, en donde las temperaturas eran muy elevadas, por lo que se espera que en los bosques, la formación de aerosoles sea mayor, ya que se encuentran generalmente temperaturas menores (Hoffmann, 1997).

Una vez formados los aerosoles, los monoterpenos van a reaccionar y la mayoría de ellos va a formar como productos finales ácidos carboxílicos (Figura 18).

Figura 18. Ejemplo de una reacción de formación de ácidos carboxílicos a partir de monoterpenos



La importancia de los aerosoles radica en que afectan el balance de radiación, interactúan con la vegetación e intervienen en los ciclos biogeoquímicos. En la actualidad, se considera que los aerosoles, que son compuestos secundarios,

tienen una mayor importancia en la calidad del aire y del clima, lo cual no se había considerado hasta la fecha (Steinbrecher, 2002).

La formación de aerosoles a partir del isopreno se debe por su reacción con el peróxido de hidrógeno, lo mismo puede ocurrir con sus productos de degradación, que son la metacroleína y el ácido metacrílico (Caléis et al., 2004).

IV. Características de los bosques en estudio y de las especies seleccionadas

IV.1 Bosque de Oyamel

Los bosques de *Abies* sobresalen entre las demás comunidades vegetales dominadas por las coníferas, ya que crecen en un clima semifrío (García, 2004). Una de las características principales de este tipo de bosque es que aún cuando se presentan bajas temperaturas no interrumpe sus actividades fotosintéticas, de absorción y de transpiración. Siempre o casi siempre hay verdor en los niveles inferiores de la comunidad y el periodo de floración es en los meses de diciembre, enero y febrero (Rezedowzki, 1981).

Las comunidades de *Abies* se encuentran como manchones aislados, muchas veces restringidos a un cerro, a una ladera o a una cañada. Las áreas continuas de mayor extensión, se presentan en las serranías que circundan el valle de México y les siguen en importancia el Eje Volcánico Transversal, como el Pico de Orizaba, el Cofre de Perote, el Nevado de Toluca, el Tancítaro, el Nevado de Colima y algunas otras más. También se encuentran estas comunidades en la Sierra Madre del Sur, en la Sierra de Juárez y en la Sierra de San Felipe. Su extensión alcanza entre 0.2 a 0.5 % de la superficie de la República.

En México, este tipo de vegetación está confinado a sitios de alta montaña, por lo común entre 2,400 y 3,600 msnm. Crecen en lugares protegidos de la acción de los vientos fuertes y de la insolación intensa. A veces se encuentran en cañadas o barrancas más o menos profundas que ofrecen un microclima especial, para su crecimiento requieren de humedad elevada. El suelo en donde crecen es típicamente profundo, bien drenado, pero húmedo durante todo el año, predomina la coloración café obscura, con texturas de migajón arenoso y francas estructuras en bloques. Los valores de pH varían entre 5 y 7. La cantidad de materia orgánica es abundante, encontrándose hasta un 35%. La relación C/N varía alrededor de 20.

Los bosques de *Abies* por ser húmedos y por no poseer tanta abundancia de gramíneas en estrato herbáceo, no son tan fácilmente presa del fuego. En general, en las regiones con grandes masas forestales los incendios son excepcionales, pero en sitios en donde se encuentran pequeños manchones, los incendios son frecuentes.

La especie de *Abies* pertenece al género de las *Pinaceas*, al igual que éstas presenta como principal característica que cuenta con canales de resina y es emisora de monoterpenos

IV.1.1 *Abies religiosa* ((Kunth) Schltl. & Cham.)

La comunidad de *Abies religiosa* (Figura 19) empieza a partir de los 2,750 msnm y llega a crecer hasta los 3,300 a 3,500 msnm., por lo que a menudo este tipo de bosque se encuentra puro y constituye el componente único del estrato arbóreo superior. Pero en menores altitudes se puede encontrar acompañado de *Pinus*, *Cupressus* o *Pseudotsuga*, y a veces de *Quercus*, *Alnus* y otros árboles.

La sucesión secundaria en el medio del bosque de *Abies*, después de su destrucción, se forma una fase de gramíneas amacolladas y una de arbustos como *Baccharis cinerarioides*, *Juniperus monticola* o *Senecio cinerarioides*, o bien *Quercus spp.*, *Arbustus spp.*, *Arctostaphylos arguta* y *Salix cana*. A continuación crece un bosque de *Quercus spp.*, seguido por uno de *Pinus* y *Alnus*, para finalmente restablecer el bosque de *Abies*. Los bosques de *Abies* tienen una altura de 40 metros, pero algunos pueden llegar a tener hasta los 60 metros (Rzedowski, 1981).

Figura 19. *Abies religiosa*



IV.2 Bosque de Pino

Existen en México 35 especies del género *Pinus*, número que representa 37% del total de especies que se conocen para el mundo entero. La gran mayoría de los pinos mexicanos posee una distribución geográfica restringida al territorio de este país. Los pinares son comunidades características de México y ocupan vastas extensiones.

La mayoría de las especies de pino poseen afinidades hacia los climas templados a fríos y semihúmedos y hacia los suelos ácidos. Existen notables diferencias entre una especie a otra. Los pinares compiten con los bosques de *Quercus* y de *Abies*, de *Juniperus*, de *Agnus* y con otras comunidades vegetales.

Con excepción de la Península de Yucatán, existen bosques de pinos en todo el país. Su distribución geográfica coincide con la de los elevados macizos montañosos, así se presentan en los extremos norte y sur de Baja California, a lo largo de la Sierra Madre Occidental, del Eje Volcánico Transversal, de la Sierra Madre del Sur, de las sierras del norte de Oaxaca y de las dos grandes Sierras de Chiapas. En total el área actualmente cubierta por bosques de pino se puede calcular en un 5% del territorio. Se desarrolla a altitudes entre los 1500 a 3000 msnml. A elevaciones mayores los pinares también son frecuentes y constituyen el único tipo de bosques que alcanza el límite superior de la vegetación arbórea de México a 3650 msnml, incluso llegando a los 4000 o 4100 msnml.

Los pinares tienen una tolerancia de temperatura media anual entre 6 y 28°C, y climas libres de heladas hasta algunos en los que se presentan en todos los meses. Los pinos prefieren crecer en rocas volcánicas, aunque esta asociación no se encuentra clara. Por tratarse de éste tipo de suelo, crecen a pH que va de 5 a 7. Crecen en suelos deficientes en varios componentes y es probable que las micorrizas jueguen un papel significativo en la supervivencia y en el potencial competitivo de los bosques.

Grandes extensiones de bosque de pino se han perdido por efecto de la agricultura, por la explotación de la madera para muebles y en la industria del papel.

Se trata de una comunidad siempre verde, pero si se encuentra asociada con otro árbol como el *Quercus*, el bosque puede ser más o menos caducifolio. La altura de los árboles del bosque es variable, se encuentra entre 8 y 25 m, aunque puede llegar a los 40 m. Los troncos son derechos y cuando forman un bosque, sólo pueden persistir las ramas superiores que forman una copa más o menos hemisférica característica. El grosor de los fustes no explotados varía entre 20 y 60 cm. El sotobosque se encuentra formado en su mayoría por plantas herbáceas

IV.2.1 *Pinus patula* (Schiede, Schltl. & Cham.)

El *Pinus patula* es una planta que se encuentra ampliamente distribuida por las montañas de México. Aunque es nativa de nuestro país fue exportada al extranjero, en donde se ha reproducido en gran cantidad. Es un árbol siempre verde que llega a medir entre 20 a 30 metros de altura (Figura 20).

Florece cuando la planta cumple 2 años de edad. Las flores femeninas aparecen un año después que las flores masculinas y crecen en la parte superior e inferior del follaje. La producción de conos empieza en diferentes años según el lugar, y el contenido de semillas varía: en Africa se presentan entre 45 a 93 semillas por cono, pero en México solamente 22 semillas. Los conos tardan 22 meses en alcanzar su madurez y pueden permanecer cerrados por varios años hasta que son abiertos por el fuego. Las semillas dispersadas tienen una alta capacidad de germinación (85%), sobre todo si se encuentran en suelos con alto contenido de minerales (Rzedowski, 1981).

El árbol requiere de suelos ácidos, arenosos, profundos con una buena humedad. En México se encuentran árboles aislados o mezclados con otras especies de pinos. Es una planta nativa de las montañas de México, con una distribución restringida (18°N y 24°N), que le gusta crecer en el lado este de las montañas a una altitud entre 1650 y 3000 msnm. Puede formar bosques monoespecíficos.

Crece en clima de regiones templadas, con una precipitación media entre 1000 y 2000 mm., la cual ocurre en su mayoría en verano. Sin embargo, en estos lugares puede llegar a presentarse heladas.

Figura 20. *Pinus patula*



IV.3 Bosque de Encino

Los bosques de *Quercus* o encinares son comunidades vegetales muy características de las zonas montañosas de México. Junto con los pinos, constituyen la mayor parte de la cubierta vegetal de los bosques con clima templado y húmedo.

En México se cuentan con más de 150 especies, quizá cerca de 200. Los encinares guardan relaciones complejas con los pinares, con los cuales comparten afinidades ecológicas generales y los bosques mixtos de *Quercus* y *Pinus* son muy frecuentes en el país. También se han relacionado los bosques de *Quercus* con los de *Abies*, y con otros tipos de bosques, como los tropicales (Rzedowski, 1981).

Existen encinares en toda la República Mexicana, excepto en Quintana Roo y Yucatán, se encuentran desde el nivel del mar hasta los 3100 msnm, aunque el 95% de su extensión se halla entre los 1200 a 2800 msnm. Constituyen el elemento dominante de la vegetación de la Sierra Madre Oriental, pero son muy comunes en el Eje Volcánico, en la Sierra Madre del Sur, en las sierras del norte de Oaxaca y en las de Chipas. Con frecuencia la franja de crecimiento de los encinos se encuentra en altitudes inferiores a la de crecimiento del pinar. Se cree que los bosques de *Quercus* ocupan el 5.5% de la superficie total del país, y en un 13.7% formando bosque de pino-encino.

Los encinares han sido de los tipos de vegetación más afectados por el impacto del hombre, ya que ocupan muchas áreas favorables para el desarrollo de la agricultura.

Este tipo de vegetación crece sobre diferentes clases de roca madre, tanto ígneas, como sedimentarias o metamórficas, así como en suelos profundos de terrenos aluviales planos. Los encinares no toleran la deficiencia de drenaje. Crece en suelos con pH de 5.5 a 6.5, con abundante hojarasca y materia orgánica en el horizonte superficial. La textura varía de arcilla a arena, lo mismo ocurre con la coloración.

Los encinares son comunidades cuya altura varía entre 2 y 30 m, alcanzando en ocasiones hasta 50 metros, generalmente son de tipo cerrado, pero también hay abierto y muy abierto. Varían de totalmente caducifolios a totalmente perennifolios. Hospedan a musgos y a líquenes y pueden contener diferentes estratos herbáceos. La diversidad de arbustos y plantas herbáceas es muy grande, pero entre los principales géneros se encuentran *Polypodium*, *Tillandsia*, *Catopsis*, *Peperomia*, *Laelia*, *Epidendrum*, *Oncidium* y *Odontoglossum*.

Extensas superficies de terrenos antes cubiertos por encinares se emplean para la agricultura, para explotar la madera o para fines de ganadería.

En el caso de los encinos, su convivencia con los pinos no implica una condición de transición, ya que las comunidades mixtas en ciertas regiones son de tan vasta distribución como las monoespecíficas.

IV.3.1 Quercus rugosa (Née)

Árbol perennifolio o caducifolio que llega a medir de 10 a 20 metros de altura, encontrando en algunos casos que tiene una altura de 30 metros. Tiene el tronco un diámetro de 30 a 50 centímetros, llegando hasta los 1.2 metros. Tiene copa amplia redondeada con hojas ovaladas a elíptico ovalada de 8 a 15 cm de largo por 3 a 8 cm de ancho. Al madurar se vuelven suavemente rígidas y engrosadas. Notablemente cóncavas por el envés, rugosas de color ambar o rojizo. Fruto anual solitario o en grupos de 2 a 3 largo-ovoides, su semilla es una bellota ovoide, angosta y puntiaguda, envuelta por una cubierta rígida (Figura 21).

Está ampliamente distribuido en las regiones montañosas de Sonora, Chihuahua, Coahuila, de Veracruz a Chiapas, pero es particularmente abundante en el centro del país, con clima templado, subhúmedo, donde forma extensos bosques. Crece a una altitud de 1,100 a 3,050 msnm (García, 2004).

Prospera en laderas de cerros, barrancas y cañadas húmedas, en terrenos planos y en lugares secos o muy húmedos. En el pedregal ocupa áreas que forman ligeras depresiones o porciones más o menos horizontales. Se le encuentra en suelos someros o profundos, en pocas ocasiones rocosos y pedregosos. Suelos: rojizo-arenoso, blanco calizo, somero pardo y profundo, roca basáltica, migajón arenoso, rocas volcánicas, delgados, ácidos, secos o húmedos (García, 2004).

Puede encontrarse formando bosques puros, con otros encinos, o asociado con el pino con especies como: *Pinus pseudostrabus*, *Pinus montezumae*, *Pinus oocarpa*, *Pinus oaxacana*, *Agave horrida*, *Arctostaphylos polifolia*, *Garrya longifolia*, *Quercus crassipes*, *Q. laurina*, *Q. obtusata*, *Q. castanea*, *Q. candicans*, *Q. martinezii*, *Q. Sideroxyla*, *Tilia mexicana*, *Alnus jorullensis*, *Alnus acuminata*, *Acacia pennatula*, *Eysenhardtia polystachya*, *Arbutus alapensis*, *Prunus serotina*, *Buddleia cordata*, *Cornus disciflora*

Su follaje es perennifolio/caducifolio. Florece de marzo a junio y fructifica de octubre a febrero. Es una especie de fácil adaptación una vez establecida. Su crecimiento es lento, vive de 100 a 150 años. La tasa de crecimiento inicial (primeras 6 semanas) es de 0.0034 cm/día. Los encinos presentan una forma de crecimiento en "pulsos".

La descomposición foliar es lenta. La regeneración natural de esta especie es buena en los sitios que presentan condiciones adecuadas de suelo y luminosidad. Son pocas las semillas que logran escapar de la depredación por roedores. La falta de sitios sombreados y húmedos impide la germinación de una alta proporción de bellotas, las aves y mamíferos, como roedores y ardillas, en la mayoría de los casos. Además de transportar o enterrar las semillas, los dispersores pueden consumirlas. Germinan entre 50 a 93 % de las semillas.

Figura 21. *Quercus rugosa*



IV.4 Efectos de los contaminantes del aire en las plantas

La sensibilidad de los vegetales a los contaminantes atmosféricos depende de varios factores: 1) su información genética, 2) de su edad, salud, vigor y condiciones metabólicas, y 3) concentración del contaminante a la que se encuentra expuesto el vegetal y acumulación del mismo dependiendo de su morfología y anatomía.

El daño que pueden presentar los diferentes vegetales a los contaminantes atmosféricos depende en gran medida a la constitución genética, la cual controla la tolerancia bioquímica y fisiológica. De la misma forma, los diferentes estados de desarrollo en la hoja, presentan diferentes grados de sensibilidad.

El impacto de los contaminantes en los vegetales va a depender en gran medida de la concentración a la que se encuentre expuestos, siendo el tipo de intoxicación aguda o crónica. Los efectos en las plantas de los principales contaminantes atmosféricos se presentan a continuación.

II.6.1 Dióxido de azufre

El efecto del dióxido de azufre en las plantas se ha identificado desde hace 300 años y se debe principalmente a las alteraciones de los vegetales por las

emisiones de las industrias que se encuentran en los alrededores. El daño en las plantas es mayor en aquellas que han satisfecho sus requerimientos de azufre provenientes del suelo.

La entrada principal del SO_2 es a través de la hoja, en el interior es rápidamente disuelto por el agua de la pared celular y forma bisulfito (HSO_3^-) y sulfito (SO_3^-), siendo éste último la especie tóxica. La conversión de la especie tóxica SO_3^- a SO_4^- (el cual es no tóxico), puede ocurrir en el apoplasto produciendo un flujo interno de azufre entre las células a través de la transpiración en el estoma. La presencia de SO_3^- es inhibitoria para la actividad de la enzima peroxidasa, siendo su oxidación competitiva con la de los compuestos fenólicos de formación de la lignina. Las plantas superiores que se encuentran expuestas a SO_2 , reemiten parte del S absorbido, principalmente en forma de ácido sulfhídrico. Esta transformación ocurre en el cloroplasto y es mediado por la luz, utilizándose para reducir el exceso de azufre y regular de forma homeostática la nutrición del azufre necesario para la formación de proteínas (Legge, 2002).

El daño por el contacto del dióxido de azufre en las plantas es variado. El daño agudo se presenta por exposiciones de minutos a horas, lo cual es suficiente para producir necrosis en las hojas. En las hojas anchas el daño se produce en el área bifacial (haz o envés), marginal y/o intervenial. Las necrosis cambian de color desde blanco, pasando por café rojizo hasta negro, y el color va a depender de la especie. En las plantas monocotiledóneas, los síntomas por efectos de exposición aguda empiezan en las orillas de la hoja y van bajando a lo largo de la hoja como estrías necróticas o cloróticas, en algunos casos con pigmentación rojiza. En cambio, en las coníferas, los daños en las agujas aparecen a partir del segundo año de vida. Este daño consiste en necrosis que empieza en la punta y baja a lo largo de la hoja hasta la base, la cual comúnmente está procedida por clorosis, que trae como consecuencia la caída prematura de las hojas viejas.

La exposición crónica que se produce por el contacto a bajas concentraciones durante toda la etapa del crecimiento de la planta, van a ocasionar clorosis, reducción en el crecimiento y en la productividad, estas últimas puede producirse sin daños de síntomas visibles.

Tanto los efectos por exposición aguda o crónica pueden ocurrir juntos. Encontrándose que los daños de la exposición aguda empieza sobre daños crónicos, y pueden producir cambios en la composición química de las ceras epiculares. El daño que produce el SO_2 en la planta puede llegar a ocasionar disminución en el crecimiento.

Cuando las hojas de los vegetales se encuentran húmedas en el momento de su exposición al dióxido de azufre, el contaminante es absorbido por las gotas de agua y es transformado a ácido sulfúrico, el cual causa un daño mayor, que forma áreas necróticas regulares en el lugar del tamaño de la gota.

II.6.2 Óxidos de nitrógeno

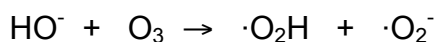
Los óxidos de nitrógeno pueden entrar por difusión de la atmósfera a los espacios intercelulares del estroma, en donde entran en contacto con el agua de los alrededores de la célula en el apoplasto y se transforma a ácido nitroso o nítrico, los cuales son reducidos para ser incorporados a los aminoácidos. La respuesta de las plantas ante el NO₂ depende de las concentraciones de nitrógeno en la planta al momento de encontrarse en exposición al contaminante, sin embargo se ha visto que la planta se alimenta del NO₂ atmosférico y deja de tomar el nitrógeno del suelo a través de sus raíces (Mansfield, 2002).

Las concentraciones de NO₂ que se requieren para observar el daño en los vegetales es muy elevada (en algunos casos concentraciones mayores de 250 ppm), y se considera un contaminante menos dañino que el dióxido de azufre y el ozono. El mayor daño que puede causar es una alteración de los mecanismos del nitrógeno de la planta. A bajas concentraciones, su efecto es benéfico para la planta, particularmente cuando hay deficiencia de nitrógeno en el suelo, pero falta por estudiar los efectos a largo plazo en presencia de exceso de contenido de nitrógeno.

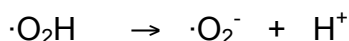
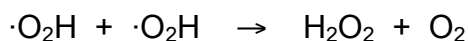
En el caso de NO, se ha observado que altas concentraciones pueden presentar un efecto inhibitorio en los mecanismos de defensa de la planta, pero hasta la fecha no se conoce el mecanismo de acción (Mansfield, 2002).

II.6.3 Ozono

El ataque del ozono en las hojas ocurre sobre los lípidos al romper sus enlaces insaturados carbono-carbono en la superficie de la hoja. Para evitar este daño, las plantas se protegen produciendo una mayor cantidad de cera en su cutícula o cambiando su composición. La deposición de ozono en las hojas de los árboles de los bosques se encuentra relacionada con la conductividad estomática. Una vez que entra por la estoma, reacciona con el OH⁻ del agua y se disuelve en el apoplasto formando radicales libres muy reactivos con uno o dos pares de electrones libres, que son el radical hidropéroxido ($\cdot\text{O}_2\text{H}$) y superperóxido ($\cdot\text{O}_2^-$):

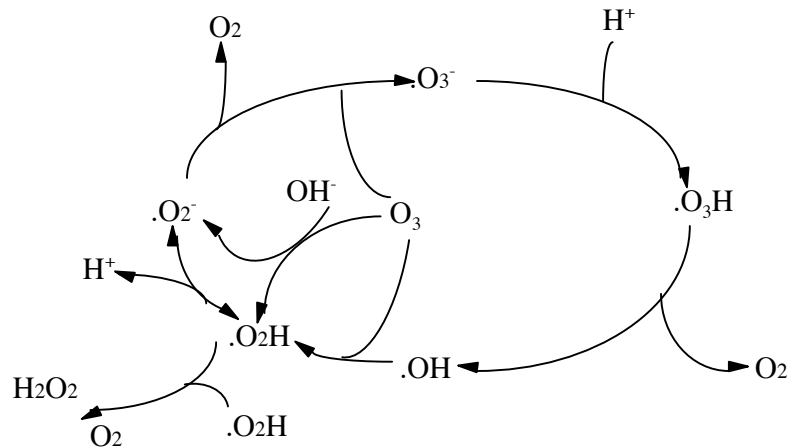


Los radicales hidropéroxidos se combinan a su vez para formar el peróxido de hidrógeno (agua oxigenada), encontrándose a su vez en equilibrio con el radical superperóxido y los protones (pK 4.8):



El pH del apoplasto del mesófilo limita el suministro del ión hidroxilo, sin embargo el ozono reacciona con el radical hidropéroxido formando el radical hidroxilo, el cual a su vez vuelve a reaccionar con el ozono formando a los radicales superperóxido y peróxido, formando un ciclo (Figura 22).

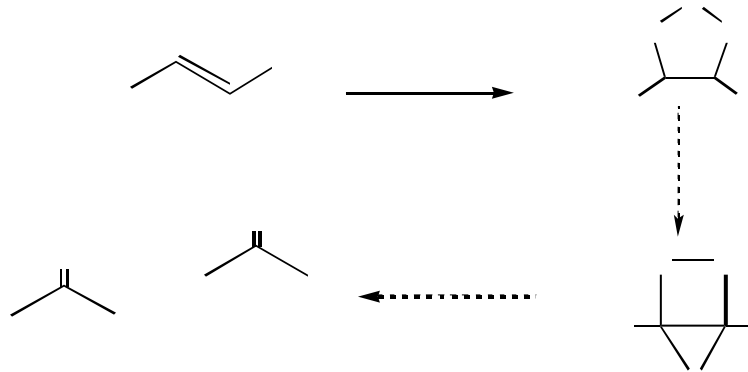
Figura 22. Ciclo de reacciones del ozono en el agua



(Long, 2002)

Cuando la concentración de ozono es elevada, se elevan las concentraciones de las especies activas del oxígeno, las cuales tienen el potencial de reaccionar en el plasmalema. Sin embargo, una buena cantidad de ozono no forma sus especies activas y reacciona de otra manera alterando al plasmalema. Las reacciones del ozono sólo, son diferentes de las reacciones de sus especies activas, reacciona sobre las dobles ligaduras presentes en los diferentes compuestos de carbono formando un ozónido, que en solución acuosa se va a hidrolizar para formar dos residuos de aldehído y uno de peróxido. Reacciones similares ocurren sobre las triples ligaduras (Figura 23) (Long, 2002):

Figura 23. Reacción del ozono sobre las dobles ligaduras de los lípidos

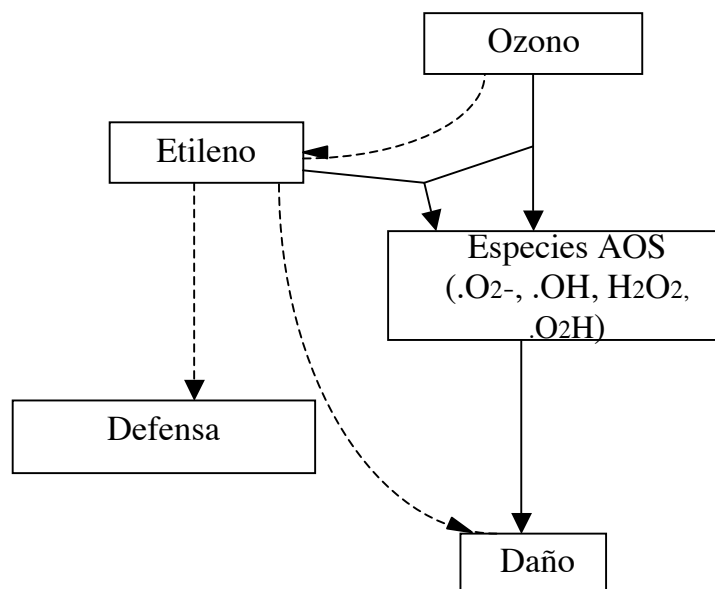


El ozono va a reaccionar sobre los lípidos insaturados, sin embargo, también son afectadas las proteínas del apoplasto y la superficie externa del plasmalema. Dentro de las proteínas, los aminoácidos afectados son el triptófano y la oxidación de los grupos (-SH) de la cisteína y la metionina para formar puentes disulfuro (-S-S-) o sulfóxidos.

Por su parte las especies activas del oxígeno, causan peroxidación de los lípidos, y el radical $\text{OH}\cdot$ va a oxidar a casi cualquier molécula orgánica. El

mayor efecto que ocasiona la presencia de ozono es el daño del plasmalema, con el cual se pierde el balance iónico y ocasiona la muerte celular. Los daños menores que se ocasionan por efectos crónicos, producen el envejecimiento prematuro al favorecer la síntesis de etileno como mecanismo de defensa (Figura 24):

Figura 24. Mecanismo de defensa del ozono en el vegetal



El etileno acelera el envejecimiento del vegetal, movilizand las reservas almacenadas o la producción de semillas de las áreas afectadas por el ozono, antes de que la hoja se muera o que pueda entrar algún patógeno oportunista que se quede con el alimento de la hoja del vegetal.

Las especies activas de oxígeno son producidas normalmente en procesos fisiológicos por reacciones fotosintéticas dependientes de luz y su producción sirve como mecanismo de defensa contra patógenos. El exceso en la producción de estas especies se logra por medio de diferentes enzimas antioxidantes, o produciendo al ascorbato.

Los estudios realizados en las diferentes especies, indican que la Rubisco al ser atacado por el ozono se altera, lo cual ocasiona que se presente pérdida de la capacidad fotosintética y se acelere el envejecimiento de la planta, por activarse los genes involucrados en la muerte celular y desactivarse los genes encargados de la fotosíntesis. Las altas concentraciones de ozono dañan las funciones de los estomas, mientras que los bajos niveles disminuyen su capacidad de apertura por una disminución de la actividad fotosintética.

La intoxicación aguda por ozono va a ocurrir a concentraciones entre 120 a 500 nmol [O₃]/mol [aire] y la intoxicación crónica se va a deber a una elevada concentración de fondo que se presenta con picos de eventos contaminantes entre 40 a 120 nmol [O₃]/mol [aire] en varios días durante la estación de crecimiento. La intoxicación aguda va a producir como consecuencia la muerte

celular no controlada en la mesofilia, que va a generar una respuesta de hipersensibilidad a los patógenos para que afecten a los vegetales. Los efectos de la exposición crónica va a producir síntomas visibles, incluyendo pequeñas necrosis y lesiones cloróticas

II.6. 4 Material particulado

El efecto del material particulado en las plantas va a depender de su composición química. Por ejemplo, las partículas inertes solamente van a producir un efecto físico por el impacto que reciban las hojas de las plantas. Sin embargo, las partículas que sean químicamente activas pueden causar un efecto fisiológico (toxicológico), tal es el caso de las partículas provenientes de los hornos de las cementeras, los cuales al reaccionar con el agua alcanzan un pH de 12, disolviendo a la hoja además de que también contienen a varios metales pesados que afectan sus funciones metabólicas. Por su parte, las partículas que provienen de emisiones vehiculares contienen a su vez varios metales pesados y pueden ser potencialmente tóxicas lo cual se ha comprobado en estudios realizados con partículas de la Ciudad de México (Alfaro et al., 2003, Osornio et al., 2002).

Las rutas de impacto de las partículas en los vegetales, son las siguientes:

- Deposición directa de las partículas en la superficie de las hojas.
- Bloqueo de los estomas de la hoja, alterando la transpiración.
- Deposición en los sustratos químicos, cambiando su composición química por presencia del agua y alterando los procesos metabólicos.

El efecto de la contaminación por partículas es importante por que va a ocasionar que la planta sea más fácilmente atacada por patógenos (Farmer, 2002).

II.6.5 Mezclas de contaminantes

Existe poca información respecto al efecto de mezclas de contaminantes en los vegetales, se ha observado que en algunos casos se producen efectos aditivos, en otros sinérgicos, en otros antagónicos, o que simplemente que cada uno actúe por su cuenta. Por ejemplo se ha observado que la mezcla de ozono con óxidos de nitrógeno va a tener efectos separados, ya que el ozono va a atacar la superficie del vegetal; mientras que los óxidos de nitrógeno van a proporcionar nutrimento a los vegetales. En el caso de la mezcla de ozono con lluvia ácida, se han observado efectos aditivos y en algunos casos antagónicos. Pero ya el estudio de los efectos de una mezcla más compleja de contaminantes va a depender de la composición y de las especies vegetales afectadas (Fangmeier et al., 2002).

V. Desarrollo Experimental

V.1 Selección de los lugares de muestreo

En la selección de las especies, se consideró que fueran especies nativas de los bosques que se encuentran a los alrededores de la Zona Metropolitana de la Ciudad de México (ZMCM). También se consideró su abundancia y que se estuvieran utilizando en las campañas de reforestación. Las especies seleccionadas fueron un pino (*Pinus patula*), un encino (*Quercus rugosa*) y un oyamel (*Abies religiosa*). Las cuales se encuentran presentes en los alrededores de la ZMCM. El pino y el oyamel son emisores de monoterpenos, pero el encino es emisor de isopreno (Kesselmeier, et al, 1999, Simpson et al., 1999, Simon et al., 2001).

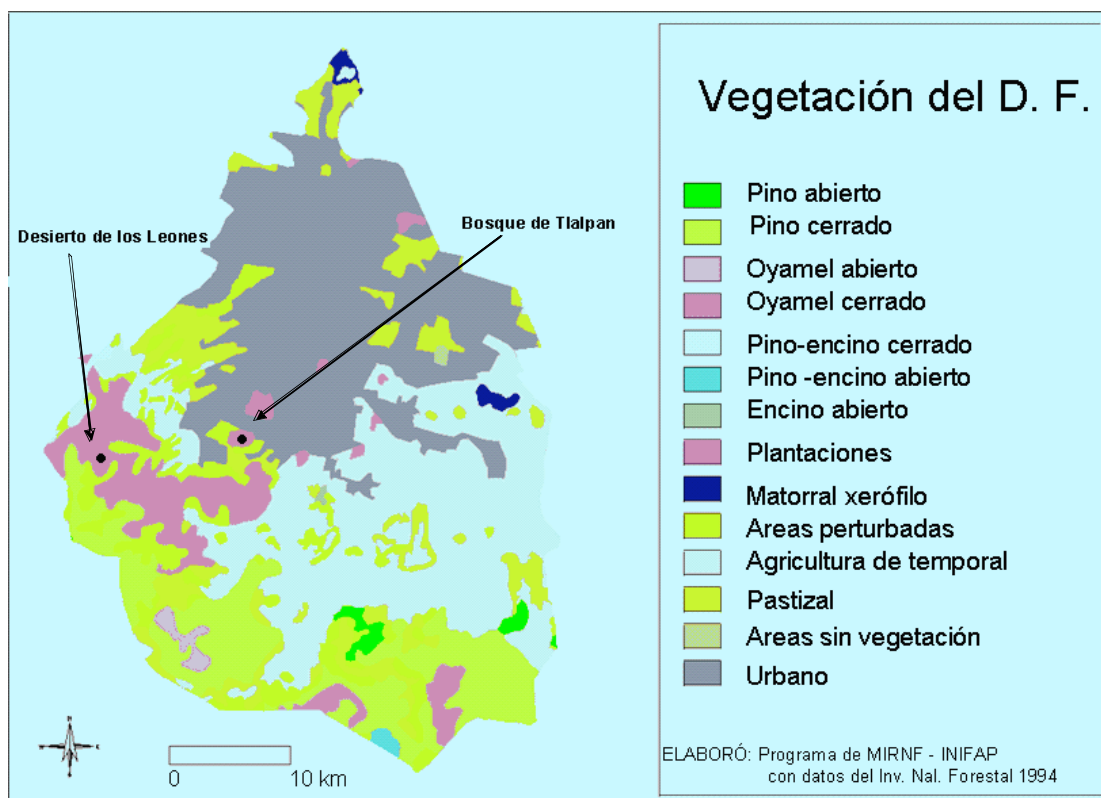
Los requisitos empleados para la selección del bosque fueron los siguientes:

1. Cercanía a la Ciudad de México
2. La población de especies de interés se hubiera utilizado en la reforestación en un periodo reciente en el lugar
3. Seguridad durante los muestreos

Los bosques seleccionados fueron el Parque Nacional Desierto de los Leones localizado en las coordenadas 99° 18' E, y 19° 19' N, su altitud se encuentra entre los 3,100 a 3,450 msnml. El parque cuenta con 1529 hectáreas. En la antigüedad se trataba de un bosque puro de oyamel, pero por las diferentes actividades humanas, se perdió parte de su vegetación y se introdujo *Cupressus lyndleyi*. El clima tiene una clasificación (Cb'(w2)(w)ig), es semifrío con verano fresco largo, sin estaciones fría y caliente bien diferenciadas, la temperatura media anual oscila entre 4.2 a 12.2°C y la precipitación media anual es de 1265 mm (García, 2004)

El otro bosque seleccionado fue el Bosque de Tlalpan, el cual tiene una extensión de 253 hectáreas y sus coordenadas son 99° 11' 30" E y 19° 17' 30" N. Se encuentra a una altura entre 2,300 a 2,470 msnml. El Bosque de Tlalpan era un bosque mixto, asociado principalmente con Pino, pero actualmente después de varias reforestaciones, cuenta con una gran diversidad de pinos, encinos y cedro blanco. El clima es templado con verano fresco y largo Cb(w²)(w)(i'), con una temperatura media anual de 12 a 18 °C y una precipitación media anual de 858 mm. (Figura 25). El pino corresponde al Parque Nacional del Desierto de los Leones y el otro árbol indica la localización del Bosque de Tlalpan, dentro de la mancha urbana de la Ciudad de México.

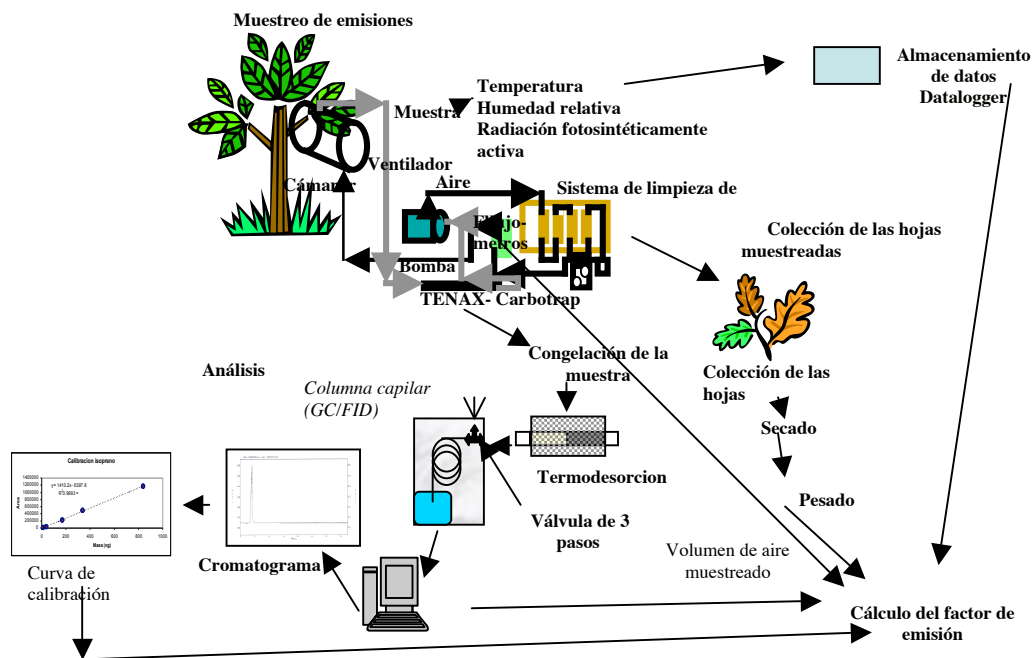
Figura 25. Mapa de localización de los sitios de estudio



V.2 Métodos de muestreo y análisis

El método de muestreo de las emisiones biogénicas de los COVs se basó en la técnica de encerramiento dinámico descrita por Tingey et al.,1991. En esta técnica, una rama de la especie vegetal a muestrear, es introducida y “encerrada” dentro de una cámara transparente a través de la cual se hace pasar un flujo constante de aire, el cual va a acarrear las emisiones hacia un cartucho empacado con materiales adsorbentes específicos para este tipo de hidrocarburos. La rama no es cortada del tronco durante el muestreo. Adicionalmente los parámetros ambientales como temperatura, humedad y el factor PAR, presenten dentro de la cámara al tiempo del muestreo, son registrados continuamente. El cartucho de captura consta de dos adsorbentes, uno para compuestos ligeros y otro para volátiles de mayor peso molecular. Una vez terminado el muestreo, las hojas de la rama colectada se cortan, se secan y se pesan. Por su parte la muestra es analizada por medio de cromatografía de gases con detector de ionización de flama. El resultado del análisis de los cartuchos, del peso de las hojas, los datos de las condiciones ambientales de la cámara y el flujo de aire circulado, son combinados mediante una serie de ecuaciones empíricas para obtener el correspondiente factor de emisión (Figura 26):

Figura 26. Procedimiento de muestreo y análisis de emisiones biogénicas de hidrocarburos



V.2.1 Cámara de muestreo

La cámara de muestreo consistió en un tubo de vidrio Schott de 47 cm de largo y 24 cm. de diámetro interno, con un volumen total de 22.45 L. Cabe señalar que se intentó hacer una cámara más ligera con una bolsa Tedlar de teflón, pero no se contó con el equipo adecuado para sellarla. Por tratarse de los primeros experimentos en campo, se prefirió usar la cámara de vidrio por que permitía un buen paso de la radiación y por ser el vidrio relativamente inerte a los compuestos a muestrear. La cámara se selló en los extremos con tapas de acrílico recubiertas de teflón. Este recubrimiento tuvo como propósito evitar posibles reacciones con las tapas.

Con el fin de recircular el aire dentro de la cámara y así asegurar un buen mezclado de las emisiones, en una de las tapas se colocó una pequeña hélice de avión de juguete, que sirvió como ventilador. La velocidad de esta hélice se controló con un eliminador de batería marca PROAM.

Durante los muestreos la cámara se suspendía de una estructura metálica empleando cuerdas para soportar el peso. La inclinación de la cámara se ajustó mediante cuerdas a los postes de soporte.

V.2.2 Muestreo de hidrocarburos biogénicos

La electricidad necesaria para los muestreos fue proporcionada por una planta eléctrica portátil marca Mc Culloch, modelo Mac Power-Pac 1500E, que generó 120 V y 1.45 KVA y a ella se conectaron los diferentes instrumentos requeridos para el muestreo. Esta planta se colocó a no menos de 20 metros de distancia viento abajo del sitio de muestreo para evitar que sus emisiones pudieran interferir con las mediciones.

El aire que se introdujo a la cámara de muestreo se generó por una bomba de vacío marca GAST, modelo DAA-V174-EB. El aire producido por la bomba era limpiado antes de entrar a la cámara pasándolo por cuatro filtros con diferentes adsorbentes, que se encontraban conectados en serie. Los filtros contenían: permanganato de potasio (para eliminar al ozono), silica gel (para eliminar humedad), malla molecular (para eliminar CO₂) y dos filtros de carbón activado (para eliminar a los diferentes hidrocarburos que pudieran encontrarse en el aire).

Una vez limpio el aire, se hacía pasar a través de un rotámetro, que fue calibrado previamente con un gasómetro a las condiciones de temperatura y presión de la Ciudad de México. El flujo de aire de entrada varió entre 5 a 20 L min⁻¹.

La muestra se colectó en tubos de vidrio Pyrex de 1/4 de pulgada y 16.5 cm de largo, los cuales estaban empacados con fibra de vidrio y material adsorbente. Los adsorbentes seleccionados fueron Tenax TA (polímero de resina de 2,6-diphenylene-oxido), y Carbotrap (carbón activado grafitizado), en una relación 50:50. El Tenax TA fue seleccionado para el muestreo de los monoterpenos, mientras que el Carbotrap se escogió para el muestreo de compuestos de bajo peso molecular, como el isopreno (Ruiz-Suarez, 1999).

Estos tubos de muestreo tuvieron un tratamiento previo a 300°C de temperatura con el paso simultáneo de nitrógeno durante toda la noche del día previo al muestreo. Este tratamiento permitió eliminar los contaminantes volátiles que pudieron estar atrapados en los adsorbentes. Se comprobó la limpieza de los tubos, revisando su contenido por cromatografía de gases con detector de ionización de flama y por cromatografía de gases con detector de masas. Después los tubos acondicionados se guardaron envueltos en papel de aluminio en un desecador hasta el momento del muestreo.

La muestra de las emisiones biogénicas se capturó utilizando el vacío generado por la bomba a la salida de la cámara. La toma de la muestra se realizó a flujos entre 50 a 80 ml min⁻¹.

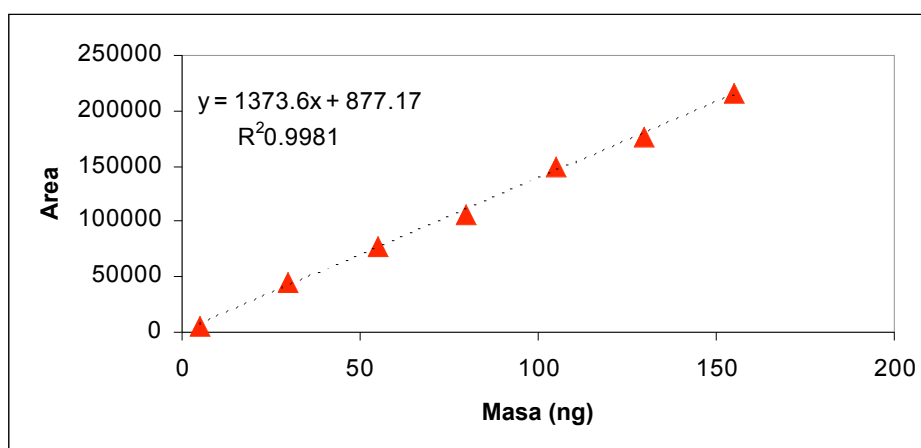
V.2.3 Análisis de hidrocarburos biogénicos

El análisis se realizó con un cromatógrafo de gases marca Tracor modelo 540 con una columna megaboro DB624 conectada a un detector de ionización de flama (Ruiz, et al. 1999). La temperatura inicial de cada corrida en el

cromatógrafo fue de 40°C por 6.15 minutos, luego continuó una rampa de 5°C/min hasta 140°C, en donde se mantuvo a condiciones isotérmicas por 12 minutos y posteriormente siguió una rampa de 15°C/min hasta 200°C. La muestra se introdujo por termodesorción a 280°C por 5 minutos y el detector se mantuvo a 200°C durante todo el análisis.

La curva de calibración se realizó a partir de estándares líquidos (marca SIGMA, Fluka y Aldrich) disueltos en hexanol con concentraciones de 1 a 150 ng/inyección. Los monoterpenos que se utilizaron fueron: α -pineno, β -pineno, Δ^3 -careno, limoneno, linalool y γ -terpineno (Figura 27). Por tratarse de isómeros, los monoterpenos tuvieron el mismo comportamiento en la curva de calibración, de ahí que en la gráfica se presente solamente un punto, aunque se partió de una mezcla de los mismos.

Figura 27. Curva de calibración de Monoterpenos

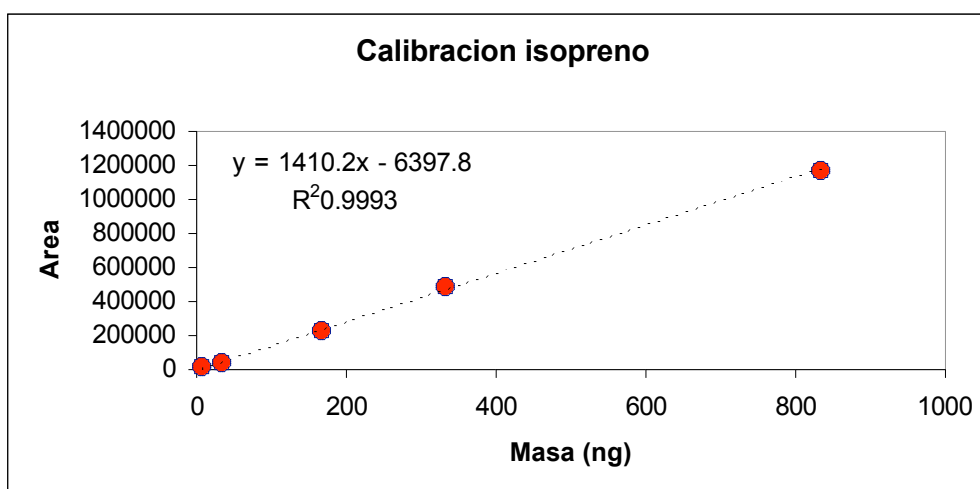


En el caso del isopreno, se preparó un estándar gaseoso en un bulbo con nitrógeno a partir de un estándar líquido. Con concentraciones de 5 a 500 ng/inyección. Cada vez que se finalizaba una campaña se realizó una curva de calibración nueva (Tabla 7 y Figura 28). Para verificar los tiempos de retención y condiciones de los estándares, se desorbió un punto de cada curva diariamente.

Tabla 7. Curva de Calibración de isopreno

Volumen inyectado del bulbo (µl)	Masa (ng)	Área bajo la curva
5	8.35989253	7437
20	33.4395701	31114
100	167.197851	222918
200	334.395701	485872
500	835.989253	1165934

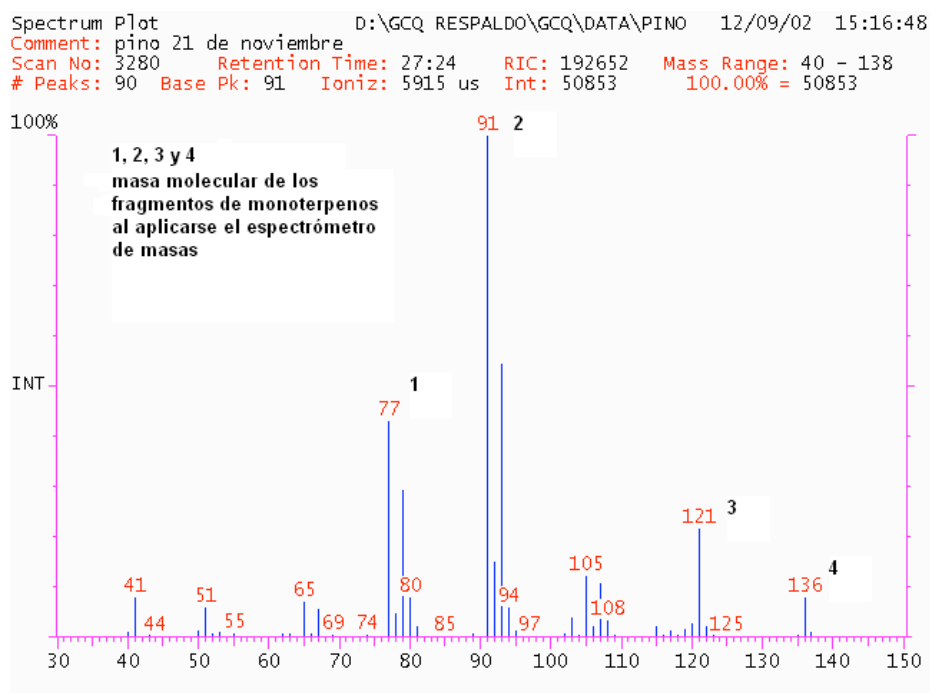
Figura 28. Curva de calibración de isopreno



Para confirmar que los compuestos obtenidos se trataban de monoterpenos, una muestra de cada día se termodesorbió en un cromatógrafo de gases Finnigan 9001 conectado a un detector de masas Finnigan MAT. En este cromatógrafo se utilizó una columna DB-1 de 60 m x 0.25 mm x 0.25 μ m. La temperatura inicial fue de 0°C durante 6.15 minutos, la cual se alcanzó con nitrógeno líquido y luego una rampa de 5°C/min hasta los 200°C.

Los picos de los monoterpenos se analizaron por espectrometría de masas para comprobar que contenía las masas moleculares de los fragmentos característicos que se producen al ser tratados los monoterpenos por ésta técnica. Ya que todos son isómeros, los picos característicos de los fragmentos formados en el espectro de masas fueron por lo general los mismos (Figura 29).

Figura 29. Espectro de masas de un monoterpeno



Un ejemplo de los cromatogramas obtenidos se observa en las figuras 30 y 31:

Figura 30. Cromatograma de una muestra de isopreno tomada en mayo 13 del 2003 a las 12:00

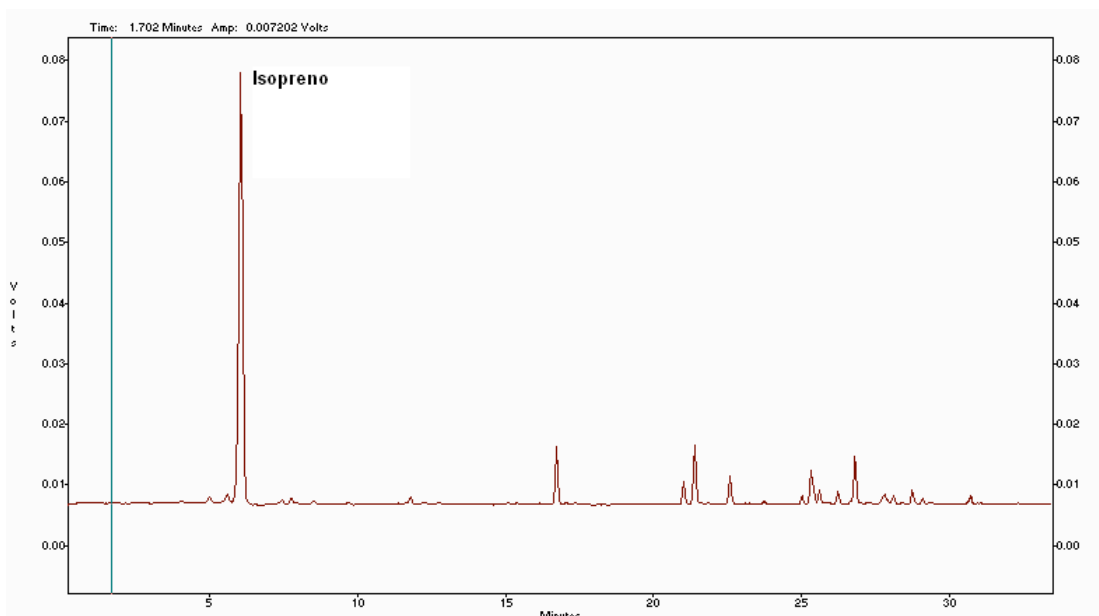
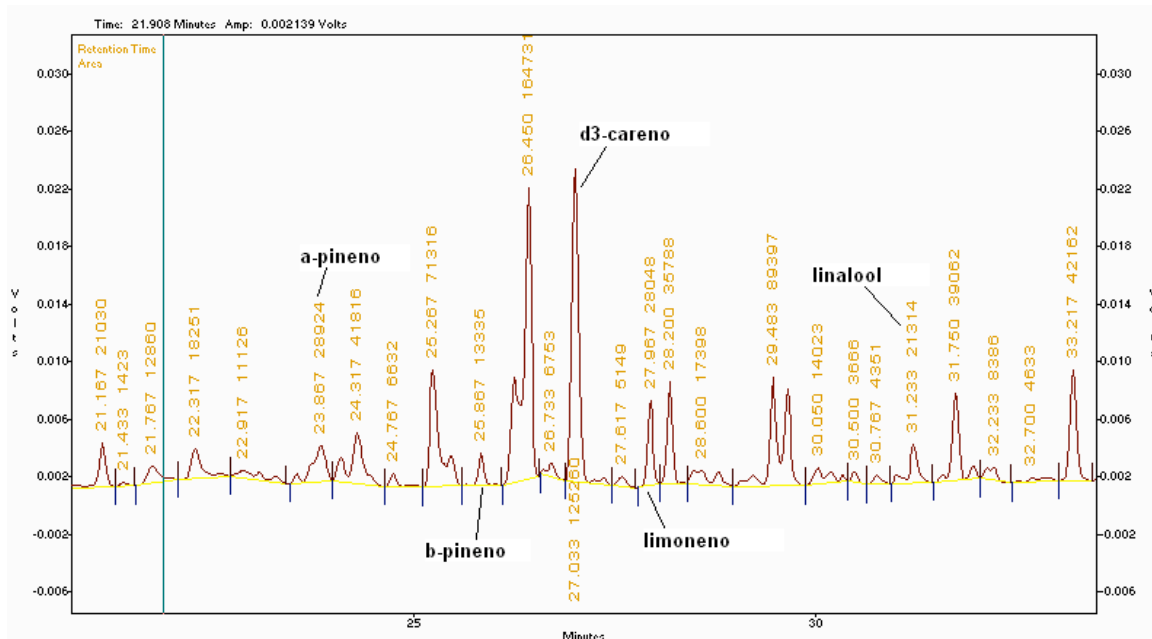


Figura 31. Cromatograma de una muestra de *Abies religiosa* del 17 de octubre a las 12:30 del 2002



V.2.4 Consideraciones especiales en el manejo de la muestra

Las muestras de hidrocarburos biogénicos son muy sensibles a la luz y a la temperatura, además de que a lo largo del tiempo se pueden ir degradando. Por lo tanto durante el muestreo los tubos adsorbentes se mantuvieron forrados con papel de aluminio. De la misma manera, una vez terminado el muestreo los cartuchos se taparon con tapones de cobre tipo swagelok con férulas de teflón para prevenir el ingreso de algún contaminante. Durante el trayecto de ida y regreso al sitio de muestreo, los tubos se mantuvieron en un desecador. Una vez que las muestras tomadas fueron regresadas al laboratorio, estas se guardaron en un desecador en refrigeración a 4°C hasta el momento de su análisis, el cual se realizó lo más rápidamente posible.

Para evitar la pérdida de la muestra, el muestreo y análisis se realizaron con cada especie de forma inmediata, esto con el fin de asegurar que no quedaran muestras almacenadas que se pudieran degradar.

V.3 Protocolo de muestreo

La rama seleccionada para el muestreo se introdujo con cuidado a la cámara para no dañarla, la tarde anterior o muy temprano en la mañana del día de muestreo (2 horas antes). Una vez montado todo el tren de muestreo se inició este ajustando el flujo de la muestra entre 50 a 80 ml min⁻¹. La cámara por contener un régimen dinámico, tenía una salida de aire entre las tapas por donde entraba la rama. El tiempo de muestreo de los cartuchos con los adsorbentes varió entre 30 a 60 minutos, y esto dependió a la temporada del

año y desarrollo que tuviera la hoja en el momento de muestreo, por ejemplo el tiempo de muestreo en el caso del isopreno fue mayor en invierno que en primavera, mientras que para los monoterpenos, en otoño el tiempo de muestreo fue menor que en primavera.

Durante el muestreo se midieron las condiciones ambientales utilizando un sensor para la radiación fotosintéticamente activa (PAR) Kipp and Zonen modelo L1190SB. La temperatura y humedad relativa (RH) se midieron con un sensor Vaisala HMP 45D. La temperatura dentro y fuera de la cámara se midió con dos termopares tipo J.

Todos los sensores se conectaron a una datalogger CR10 y los datos se registraron cada 10 segundos obteniendo un promedio cada minuto que se guardó en un módulo de memoria SM 192.

Una vez tomada la muestra, la parte de la rama muestreada se cortó y se envolvió en papel de aluminio y se regresó al laboratorio para secarla a 40°C, para posteriormente determinar el peso seco de la masa foliar en una balanza analítica marca Sartorius, modelo Analytic A-200S.

Los cartuchos se guardaron envueltos en papel de aluminio, en congelación, dentro de un desecador hasta el momento de su análisis.

V.4 Protocolo de cálculo de factores de emisión

Una vez que se tenía la masa de cada compuesto en nanogramos; el peso seco de la masa foliar y el flujo de aire pasado a través de los cartuchos, se obtuvo la emisión utilizando la siguiente fórmula:

$$Emisión = \frac{\mu g_{emitidos} \times \frac{F_T}{F_M}}{g_{masafoliar} \times h}$$

En donde

F_T = Flujo total de aire que entra en la cámara de muestreo en $m^3 h^{-1}$

F_M = Flujo del cartucho de muestreo en $m^3 h^{-1}$

Esta fórmula se obtuvo a partir del siguiente análisis:

$$Emisión = \frac{\mu g_{cartucho} \times \frac{\frac{V_T}{T_M}}{\frac{V_M}{T_M}}}{g_{masafoliar} \times T_M}$$

En donde:

V_T = Volumen total del muestreo en m^3

T_M = Tiempo de muestreo en h

V_M = Volumen del cartucho en m^3

Simplificando la fórmula se tiene:

$$Emision = \frac{C_{cartucho} \times V_T}{g_{masafoliar} \times T_M}$$

Obteniéndose al final:

$$Emisión = \frac{C_{cartucho} \times F_T}{g_{masafoliar}}$$

(Komenda, et al. 2001)

$$Emisión = ng \ g^{-1} \ ps \ h^{-1}$$

Posteriormente, la emisión se transformó a factor de emisión empleando dos algoritmos que estandarizan a las emisiones encontradas a la temperatura de 30°C, la cual es en la que se presenta una máxima emisión. Dichos algoritmos fueron previamente descritos en las secciones II.3 y II.4.

A cada valor se le calculó la incertidumbre asociado mediante el método de la propagación de errores de Doerffel (Millar, et al. 1990):

$$U = \sqrt{\left(\frac{\sigma_{gca}}{gca}\right)^2 + \left(\frac{\sigma_{sfl}}{sfl}\right)^2 + \left(\frac{\sigma_{stime}}{stime}\right)^2 + \left(\frac{\sigma_{lt}}{lt}\right)^2 + \left(\frac{\sigma_{lm}}{lm}\right)^2 + \left(\frac{\sigma_{emft}}{emft}\right)^2}$$

En donde la U corresponde a la incertidumbre resultante en porcentaje, del análisis cromatográfico (gca), de la medición de los flujos (sfl), del tiempo de (stime), de la temperatura de la hoja (lt), del peso de la masa foliar (lm) y del factor de emisión (emft).

VI. Resultados y discusión

Las fechas y sitios en las que se desarrollaron los muestreos de cada especie fueron los siguientes:

Tabla 8. Lugar donde se muestrearon las diferentes especies

Especie	Bosque	Fecha
<i>Abies religiosa</i>	Desierto de los Leones	15 al 18 de octubre 2002 y 28 de abril al 1° de mayo del 2003
<i>Quercus rugosa</i>	Bosque de Tlalpan	5 al 11 de noviembre 2002, 13 y 14 de mayo y 3 al 11 de julio 2003
<i>Pinus pátula</i>	Bosque de Tlalpan	22 al 15 de octubre del 2002 y 28 de junio al 2 de julio del 2003

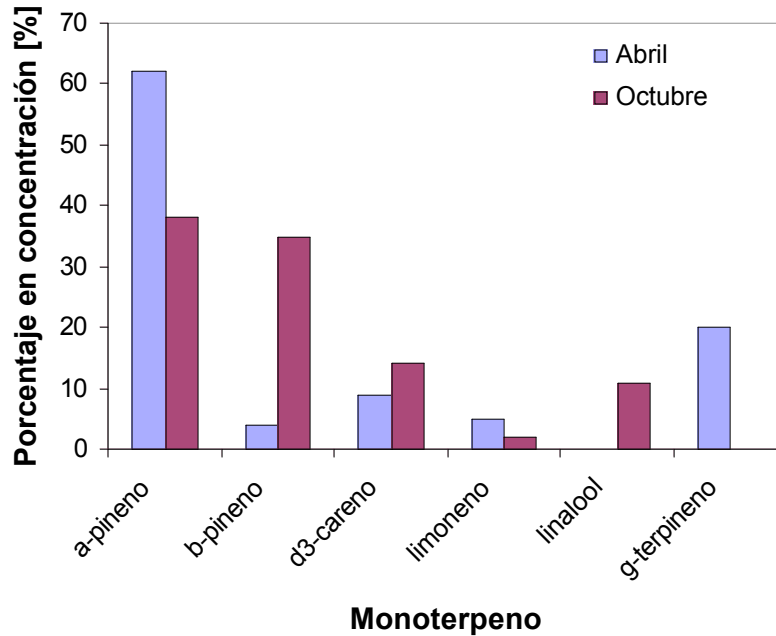
A continuación se proporciona la explicación de los resultados encontrados en cada especie según se fueron realizando los muestreos:

VI.1 *Abies religiosa*

La especie de *Abies religiosa* se muestreó en el vivero El Pantano, perteneciente a la Comisión de Recursos Naturales del Departamento del Distrito Federal. Este vivero se encuentra ubicado dentro de las instalaciones del Parque Nacional Desierto de los Leones. Los árboles seleccionados estaban plantados en los alrededores del vivero y contaban con edades entre 3 a 7 años, se muestrearon un total de 4 árboles seleccionados al azar.

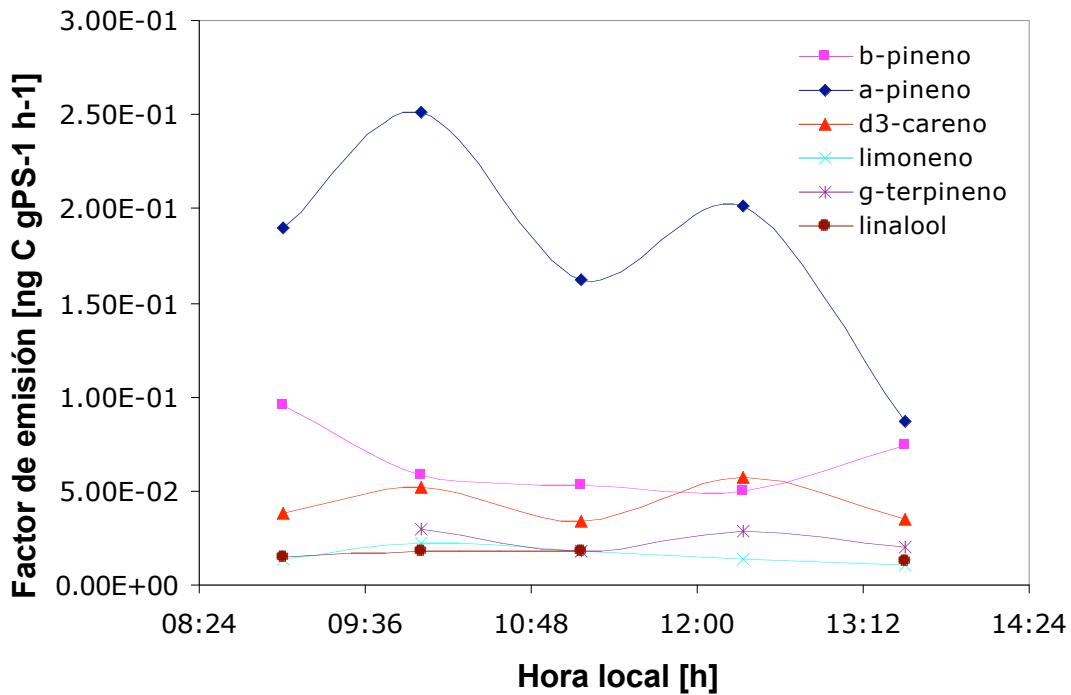
Los monoterpenos encontrados emitidos por esta especie fueron α -pineno, β -pineno, Δ^3 -careno, limoneno y linalool. Las emisiones observadas variaron en los compuestos emitidos y en sus concentraciones en las dos estaciones del año estudiados, encontrando que los porcentajes de emisión de cada monoterpeno varió de la siguiente manera (Figura 32): en abril se encontró 62% de α -pineno, 4% de β -pineno, 9% de Δ^3 -careno, 5% de limoneno y 20% de γ -terpineno; en octubre se encontró 62% de α -pineno, 4% de β -pineno, 9% de Δ^3 -careno, 5% de limoneno y 20% de γ -terpineno; mientras que en octubre se encontró con 38% de α -pineno, 35% de β -pineno, 14% de Δ^3 -careno, 11% de linalool y 2% de limoneno, siendo las principales diferencias en los porcentajes encontrados en el β -pineno (de 4 a 35%) y el α -pineno (de 62% a 35%). Se observó que la composición de los compuestos emitidos fue diferente en ambos meses, ya que mientras en abril se encontró γ -terpineno, no se presentaron rastros de linalool, y en octubre se observó linalool, pero no γ -terpineno. En ninguna muestra se observó isopreno.

Figura 32. Porcentajes de los monoterpenos encontrados en *Abies religiosa*



En las muestras correspondientes al mes de Abril se obtuvieron cromatogramas con áreas en los picos correspondientes a los monoterpenos cercanos al límite de detección del equipo que no se diferenciaban de la línea base. Aunque algunas de las temperaturas registradas se encontraban por arriba de los 30°C, las emisiones fueron muy bajas (Figura 33). Es posible que esta gran diferencia pueda estar asociada a la edad de las hojas, ya que en el mes de abril, las hojas nuevas apenas acababan de salir de las yemas que las protegen durante todo el invierno, estas hojas tiernas todavía no tenían maduro su sistema de canales de resina, ni habían tenido tiempo de almacenar a los monoterpenos (Ewers, 1982), ya que las plantas solamente producen a los monoterpenos cuando tienen un exceso de alimento y pueden gastar el exceso de energía en su síntesis. Las emisiones que se calcularon a partir de las concentraciones de monoterpenos a lo largo de un día de muestreo fueron muy bajas, encontrándose aún por debajo de los $\text{ng C g}^{-1} \text{PS h}^{-1}$ (Figura 34).

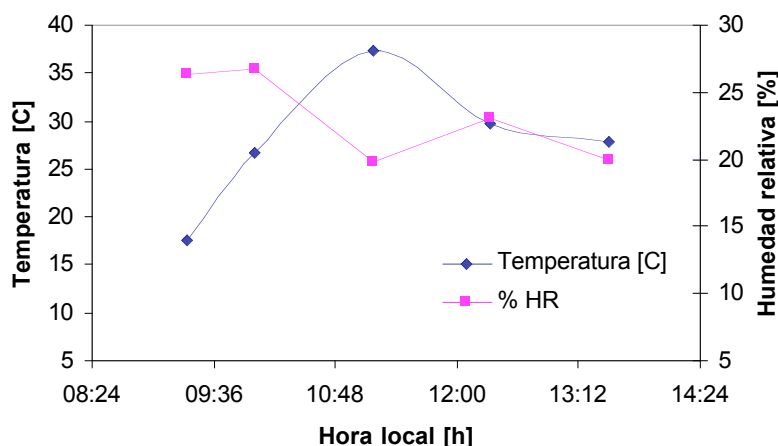
Figura 33. Emisión de monoterpenos el 28 de Abril del 2003 por *Abies religiosa*



Las altas concentraciones de α -pineno observadas durante Abril se pueden deber a que este compuesto lo emplean las plantas como defensa para evitar que los depredadores se alimenten de sus hojas nuevas (Steinbrecher y Ziegler 1997).

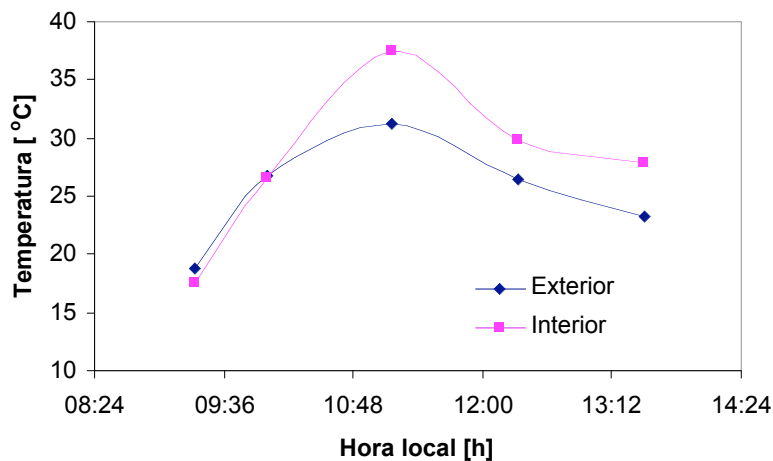
Las condiciones ambientales dentro de la cámara en el mes de Abril, que es un mes relativamente caluroso, se muestran en la figura 30. En esta época del año la planta por lo general se encuentra bajo estrés hídrico y la humedad relativa también es baja. Por esta razón pueden ocurrir incendios forestales.

Figura 34. Condiciones ambientales de la cámara del 28 de abril del 2003



La temperatura en el interior y en el exterior de la cámara de muestreo también presentó diferencias. En abril, es posible que la combinación de la baja humedad relativa asociada a la planta y el material de la cámara, haya ocasionado que a lo largo del día la temperatura en el interior de la cámara haya aumentando hasta llegar a ser mayor que en el exterior. Sin embargo también se observó una disminución de la temperatura interna al disminuir la del exterior (Figura 35):

Figura 35. Temperaturas registradas en el interior y exterior de la cámara del 28 de abril del 2003



Por otra parte, en octubre se obtuvieron grandes picos en los cromatogramas de las emisiones considerando un tiempo de muestreo entre 30 a 45 minutos, comparando los resultados con los encontrados en el mes de Abril. Aunque en algunos de los casos, este tiempo de muestreo fue mayor porque las temperaturas registradas en la mañana en este lugar fueron bajas, encontrándose hasta por debajo de los 14°C (Figura 33). Sin embargo en todas las muestras, las áreas de

los picos correspondientes a cada monoterpeno fueron grandes, observando claramente que se encontraban por arriba del límite de detección.

En el mes de octubre las hojas ya tuvieron varios meses para sintetizar y almacenar a los monoterpenos en sus canales de resina (Ewers, 1982), lo que podría justificar la detección de valores de emisión mayores. Los flujos de emisión de los monoterpenos en los diferentes horarios en un día de muestreo de Octubre del 2002, se presentan en la Figura 36 en unidades de $\mu\text{g g}^{-1} \text{PS h}^{-1}$ y las condiciones en el interior de la cámara en la Figura 37 y las temperaturas en el interior y el exterior en la Figura 38.

Figura 36. Emisión de monoterpenos el 18 de Octubre del 2002 por *Abies religiosa*

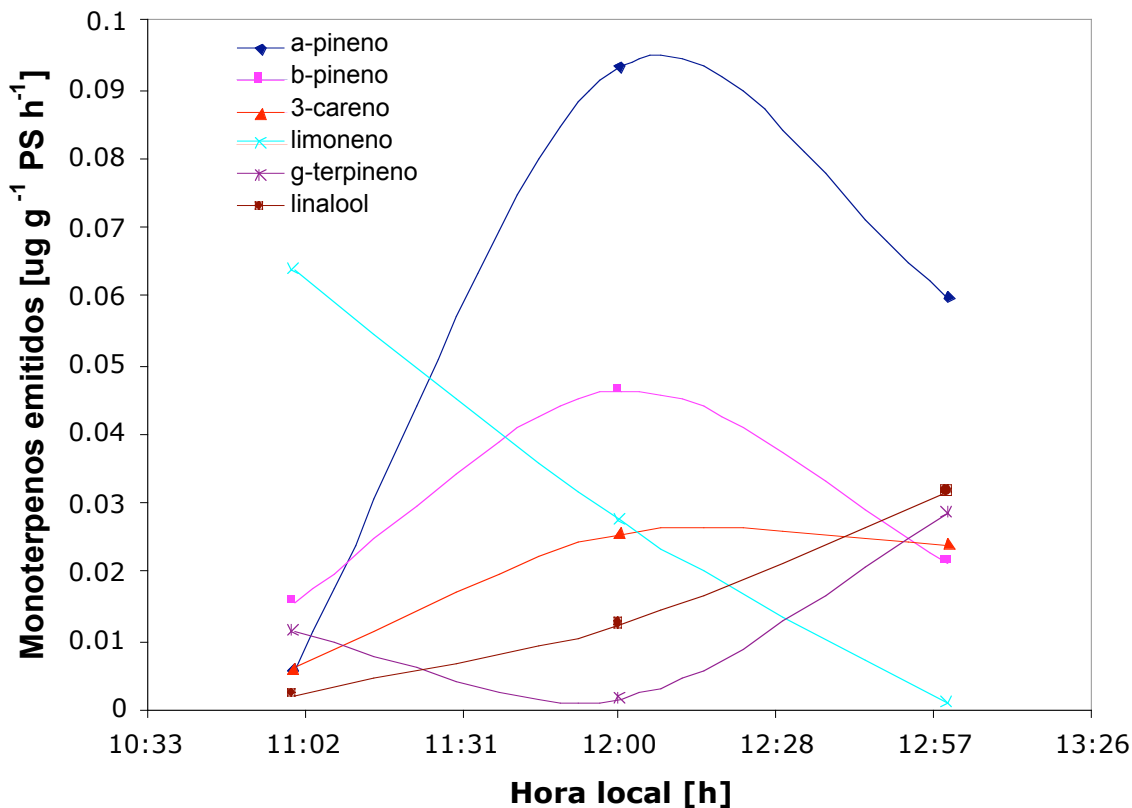
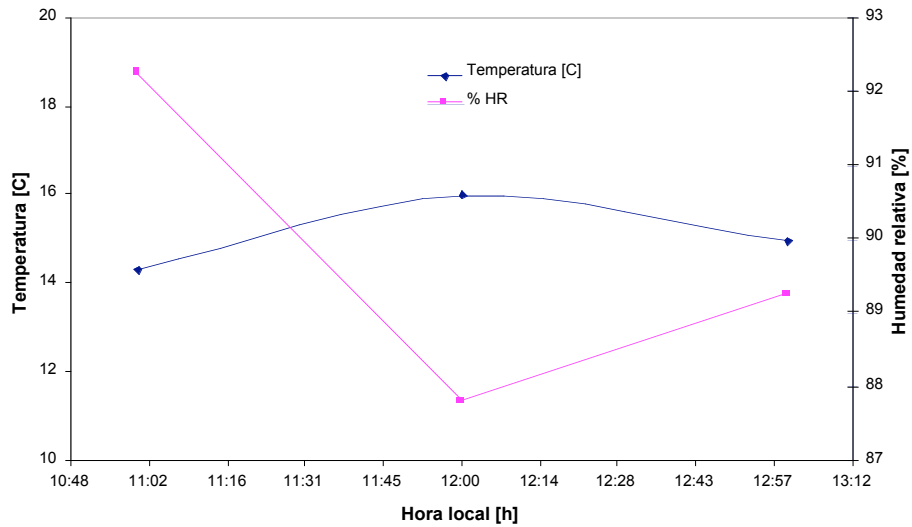
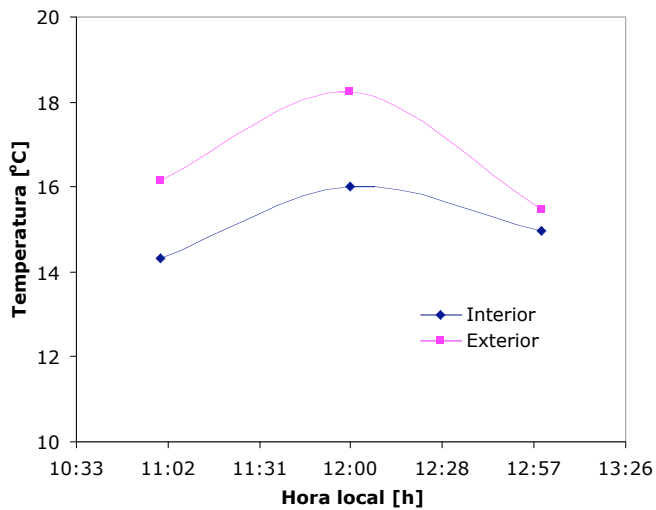


Figura 37. Condiciones ambientales dentro de la cámara del 18 de octubre del 2002



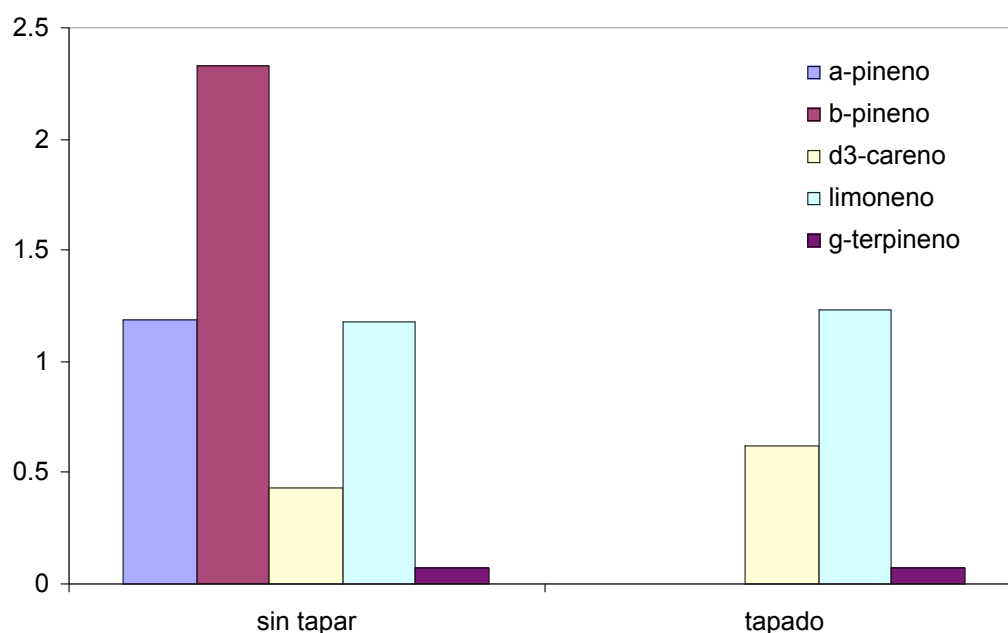
En otoño, el bosque de *Abies religiosa* presentó temperaturas bajas, como se puede observar en la Figura 38. La temperatura en algunos casos, como en el del ejemplo mostrado no llegó a ser superior de los 20°C. Una característica que tuvo el muestreo de *Abies* en esta época del año, es que debido a la alta humedad relativa observada, la temperatura en el interior y del exterior de la cámara fueron relativamente cercanas:

Figura 38. Temperaturas registradas en el interior y exterior de la cámara del día de muestreo del 18 de octubre del 2002



En algunos casos se obtuvieron los resultados en los que el α -pineno presentaba una concentración mucho mayor que los demás compuestos que forman la mezcla (Apéndice I). Esta diferencia, sugirió la posibilidad de que la emisión de α -pineno pudiera depender de la radiación fotosintéticamente activa (PAR) y por lo tanto de ser emitido de forma enzimática. Para evaluar esta posible situación, se realizó un experimento (en el mes de Mayo) de confirmación en el cual se regresó al bosque y se montó el equipo en una rama de *Abies*. Se realizó un muestreo después de dos horas de haber montado el equipo, y posteriormente se cubrió de la luz del sol la rama muestreada, dejando pasar una hora, después de la cual se volvió a tomar una muestra. Los resultados encontrados confirmaron que las emisiones de α -pineno y β -pineno se suspendieron, por lo que se supone que son enzimáticas (Figura 39). En cuanto a los demás monoterpenos, éstos permanecieron sin cambio en su emisión.

Figura 39. Experimento de emisiones de monoterpeno enzimáticos en *Abies religiosa*



Sin tapar = muestreo después de 1 hora de haber colocado la cámara en una rama
 Tapado = muestreo después de 1 hora de haber tapado completamente del sol la rama.

Sin embargo, cabe destacar que el estudio de los monoterpenos enzimáticos se realizó después de que las hojas nuevas habían salido de las yemas, sin que se encontraran maduras. En estudios recientes realizados en otros países, se ha observado que estas emisiones enzimáticas pueden ocurrir en hojas jóvenes para evitar a los depredadores, pero en las hojas maduras la emisión depende solamente por los monoterpenos almacenados en los órganos especializados de

las plantas (Kuhn, et al. 2004). Por lo tanto una recomendación preliminar es que se debe estudiar en detalle las características de las emisiones en diferentes estaciones del año a fin de dar una explicación a este fenómeno.

Después de contar con los flujos de las emisiones de los monoterpenos, se procedió a realizar los cálculos de los factores de emisión de monoterpenos a 30°C (esta es la temperatura a la cual la enzima presenta su mayor actividad). Para el cálculo de las emisiones de los monoterpenos que no se vieron alterados por la ausencia de la luz, se empleó el algoritmo propuesto por Tingey et al. en 1980, en el cual solamente interviene la temperatura, siendo los resultados en los dos meses estudiados los mostrados en la Tabla 9, con sus incertidumbres:

Tabla 9. Factor de emisión promedio de los diferentes monoterpenos en *Abies religiosa*

Monoterpenos	Factor de emisión a 30°C ($\mu\text{g g}^{-1}_{\text{PS}} \text{h}^{-1}$)	
	Octubre 2002 (12 muestras)	Abril 2003 (14 muestras)
Δ^3 -careno	0.839 \pm 0.053	0.0013 \pm 0.0001
Limoneno	0.014 \pm 0.056	< LD
γ -terpineno	ND	< LD
Linalool	0.651 \pm 0.066	ND

<LD por debajo del límite de detección

ND = No Detectado

Los factores de emisión estimados para los monoterpenos por lo que no se observó emisión bajo condiciones de ausencia de luz se estandarizaron a 30°C y 1000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ utilizando el algoritmo propuesto por Guenther y colaboradores en 1993, en el cual intervienen en los cálculos la radiación fotosintéticamente activa y la temperatura se presentan en la Tabla 10:

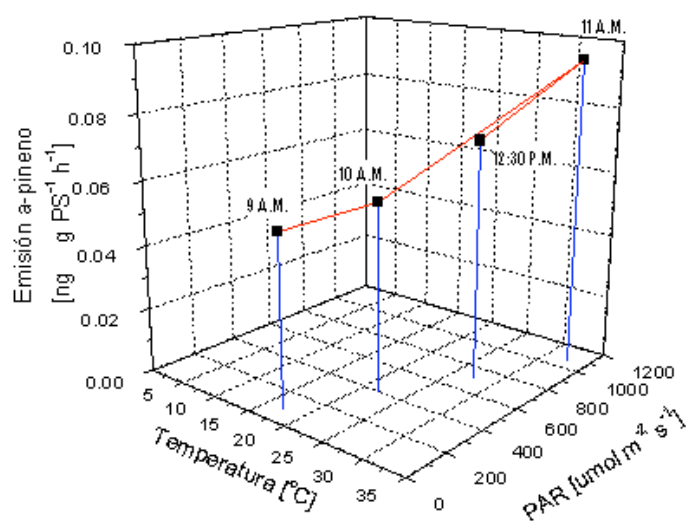
Tabla 10. Factores de emisión promedio del α y β -pineno en *Abies religiosa*

Monoterpenos	Factor de emisión a 30°C ($\mu\text{g g}^{-1}_{\text{PS}} \text{h}^{-1}$)	
	Octubre 2002 (12 muestras)	Abril 2003 (15 muestras)
α -pineno	2.23 \pm 0.053	0.0094 \pm 0.0002
β -pineno	2.08 \pm 0.045	< LD

Para los monoterpenos que presentaron emisiones enzimáticas, se estudió su comportamiento al graficar las emisiones contra la temperatura y la radiación fotosintéticamente activa (PAR). Las Figuras 40, 41 y 42 muestran el perfil de emisiones estimadas de α -pineno para los días seleccionados de Abril y Octubre, y de β -pineno para un día de Octubre respectivamente. En el mes de Abril como el

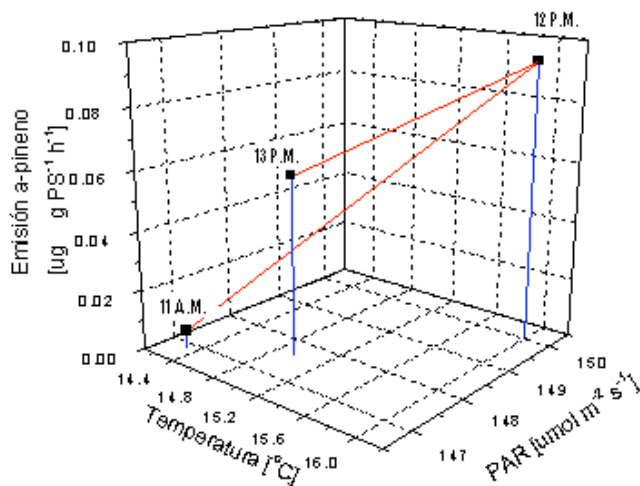
_pineno fue menor al límite de cuantificación del equipo, no se pudo graficar en estas condiciones.

Figura 40. Emisiones de α -pineno el 28 de Abril de 2003 en *Abies religiosa* en el Desierto de los Leones



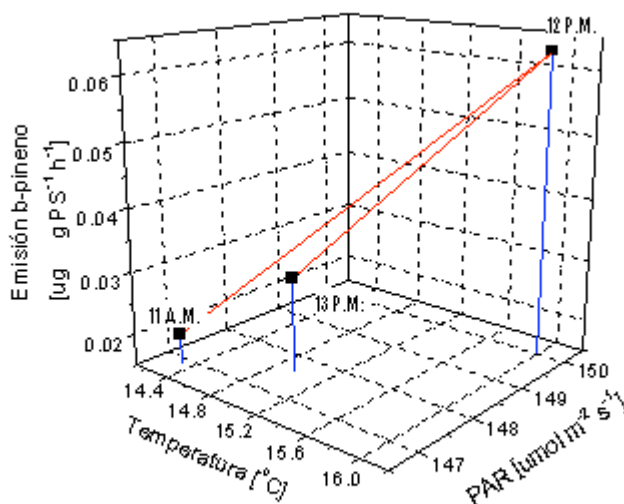
Para Octubre se observaron los siguientes resultados en el caso del α y β -pineno:

Figura 41. Emisiones de α -pineno el 18 de Octubre de 2002 en *Abies religiosa* en el Desierto de los Leones



Se puede apreciar que al aumentar la temperatura y la radiación fotosintéticamente activa (PAR) se da un aumento en la emisión. En cuanto al β -pineno, los resultados encontrados fueron los siguientes:

Figura 42. Emisiones de β -pineno el 18 de Octubre de 2002 en *Abies religiosa* en el Desierto de los Leones



Al igual que en el α -pineno, el aumento de la emisión de β -pineno es más pronunciada al elevarse la temperatura y la radiación fotosintéticamente activa.

La suma de los factores de emisión promedio de monoterpenos muestreados incluidos en las tablas 9 y 10 fueron de $5.81 \mu\text{g g}^{-1}_{\text{PS}} \text{h}^{-1}$ para Octubre y de $0.0107 \mu\text{g g}^{-1}_{\text{PS}} \text{h}^{-1}$ para el mes de Abril, la emisión de α -pineno es la que predomina. La diferencia encontrada entre los dos factores de emisión, se considera que se debe a que las hojas en abril son recientes, y no tienen sus canales de resina completamente desarrollados; mientras que las hojas en octubre ya están maduras, cuentan con sus canales completos y por lo tanto ya cuentan con monoterpenos almacenados. Por lo que se espera que las emisiones cambien durante todo el año, y este cambio se va a deber al desarrollo que vaya presentando la hoja durante su maduración (Kuhn et al., 2004).

Por otro lado, la emisión de monoterpenos de forma enzimática en *Abies*, es un tanto similares a los reportados en *Picea abies* (Fischbach et al, 2000). Según la información morfológica encontrada, ambas especies son similares (comunicación con el Mtro. Víctor Corona, Jardín Botánico, UNAM). Los valores de emisión de monoterpenos almacenados encontrados en la especie de estudio fueron ligeramente mayores que los que se indican en la literatura, ya que los se reportan van de 0.1 a $3 \mu\text{g g}^{-1}_{\text{PS}} \text{h}^{-1}$ (Simpson et al, 1999, Simon et al., 2001, Kesselmeier, et al. 1999).

De los resultados obtenidos en todos los muestreos realizados durante los dos meses, se calculó el valor de $_$ (que se encuentra dentro del algoritmo de Tingey)

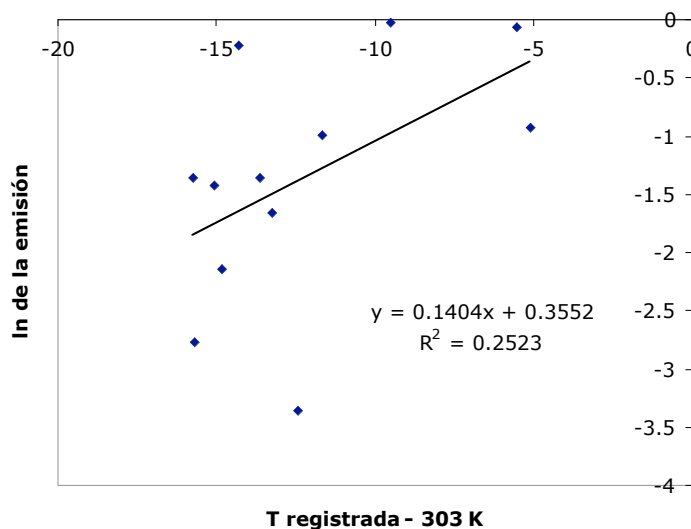
para los monoterpenos no enzimáticos, con el fin de compararlo con los valores experimentales reportados por la bibliografía (entre 0.057 a 0.144 K⁻¹). Este valor de β se obtuvo a partir de la pendiente que resulta de graficar el logaritmo natural de la emisión de todos los datos obtenidos contra la diferencia entre las temperaturas registradas menos la temperatura estándar (30°C) en Kelvin (Figura 43):

$$E = E_s \times \exp \beta^{(T-T_s)}$$

$$\beta = \frac{\ln(E)}{(T - T_s)}$$

El parámetro E_s , que corresponde al Factor de emisión a 30°C, es la ordenada al origen de la fórmula. Un resultado del cálculo se presenta en la Figura del Δ^3 -careno, en el cual se observa que existe muy poca correlación entre los resultados de octubre del 2002, lo cual se puede deber a que los muestreos se realizaron en el campo, mientras que los valores de β reportados en la bibliografía provienen de experimentos realizados en plantas que crecieron en cámaras de muestreo con todas las condiciones controladas:

Figura 43. Obtención del valor teórico de β para el Δ^3 -careno muestreado en Octubre del 2002



Lo mismo se realizó en los monoterpenos encontrados en ambos meses en *Abies*, siendo los resultados los siguientes (Tabla 11):

Tabla 11. Valor β obtenido de los muestreos del oyamel

Monoterpeno	Octubre β (K ⁻¹)	Abril β (K ⁻¹)
Δ^3 -careno	0.1404	0.1941
Limoneno	0.2771	-----
γ -terpineno	-----	-----
Linalool	0.2073	-----

Los valores del factor empírico fueron muy variados en octubre, encontrando valores desde 0.14 para el Δ^3 -careno, hasta 0.27 para el limoneno, en cambio en abril solamente se pudo obtener el valor del monoterpeno que no se presentó por debajo del límite de detección, el cual fue el Δ^3 -careno. Esta variabilidad se debió a la gran cantidad de variables que afectan las emisiones de monoterpenos y a que al realizar los muestreos en el campo no se pudieron controlar.

Aunque los resultados de los factores de emisión son ligeramente elevadas para los monoterpenos, al ser comparados con lo reportado en la literatura, es importante señalar que en diferentes estudios realizados en el Desierto de los Leones, se observa que los árboles han visto afectados por la contaminación de la Ciudad de México. Hasta ahora todos los estudios en esta área, se han enfocado a los efectos causados en los árboles por el ozono (Alvarado et al, 1993, Skelly et al., 1997, Alvarez et al, 1998, Lopez et al., 1998, Alvarado-Rosales, y Hernández-Tejeda, 2002). Entre los principales daños se encuentran los efectos causados en la parte adaxial de la hoja, los cuales van a crear necrosis, clorosis y daño por ataque de depredadores. Los resultados que se producen son que el daño empieza en las hojas durante el primer año de vida, y cuando las hojas llegan a los tres años, ya se encuentran tan dañadas que se ponen amarillas y mueren, lo que crea que los árboles tengan gran pérdida de hojas y de ramas. Durante el proceso, los conductos de resina no se ven dañados, pero las hojas mueren dos años antes de su tiempo de vida normal. Aunque no se realizaron estudios morfológicos en las hojas, se pudo observar que los árboles del bosque presentaban pocas hojas en las ramas, muchas de las cuales ya tenían una coloración amarilla.

Debido a la dirección de vientos que se presenta en la Ciudad de México, los estudios de modelación indican que los contaminantes generados en la atmósfera tienden a depositarse en los bosques de las montañas de los alrededores de la Ciudad (Comunicación con el Dr. Aarón Jazcilevich, investigador del Centro de Ciencias de la Atmósfera, UNAM), siendo los árboles de este lugar los principales afectados.

Otro de los contaminantes que posiblemente afecte a los árboles del bosque, son las partículas. En la literatura se indica que el impacto del depósito de las partículas en la superficie de las hojas puede dañar a los estomas (Fowler, 2002). De la misma forma en estudios realizados con las partículas de la Ciudad de México se ha observado que son potencialmente tóxicas para la salud humana, y

que su toxicidad depende de la zona de la Ciudad de donde provienen, sin embargo, estos estudios se han realizado en cultivos celulares y hasta la fecha no se cuenta con estudios en vegetales (Alfaro et al., 2002, Osornio-Vargas et al., 2003).

VI.2 *Pinus patula*

El *Pinus patula* es una de las 32 especies de pino de México, que actualmente se está usando en las campañas de reforestación por ser una especie resistente mas a la contaminación y por tener un crecimiento rápido, aunque cabe señalar que no se trata de una especie originaria de los bosques de los alrededores de la Ciudad de México. Sin embargo las especies empleadas en la reforestación del bosque, son las que reciben de regalo de la Comisión de Recursos Naturales, y con ellas mantienen el bosque en buen estado.

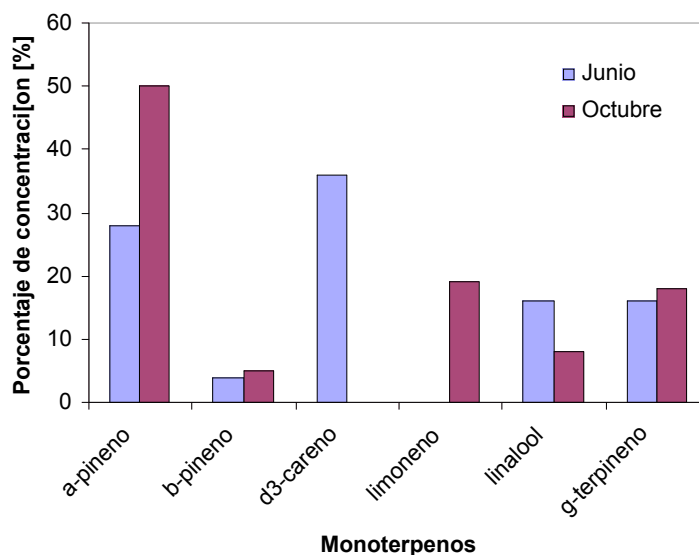
Esta especie se muestreó en el bosque de Tlalpan, el cual es un bosque que antes se encontraba afuera de la Ciudad, pero ahora con el crecimiento de esta, el bosque se encuentra rodeada por ella. Esta zona de la Ciudad es la que presenta elevados niveles de ozono. Entre las especies que se encontraban como flora nativa en el bosque se estaban: principalmente los encinos, dominando el *Quercus rugosa*, existía un poco de *Pinus ayacahuite* y era común otras especies de la zona como la *Dodonea viscosa* y el *Buddleia cordata*. La especie de *Pinus patula* se muestreó durante octubre del 2002 y a finales de junio del 2003 en una zona reforestada del parque.

Al igual que todas las especies pertenecientes a la familia *Pinaceae*, el *Pinus patula* es un emisor de monoterpenos que provienen de su almacenamiento en los canales de resina (Benjamin et al., 1996, Simpson et al., 1999, Owen et al, 2001).

Los promedios de los porcentajes que componen la emisión encontrada fueron diferentes en los dos meses muestreados. En junio se encontró una composición formada por 28% de α -pineno, 4% de β -pineno, 36% de Δ^3 -careno, 16% de γ -terpinene y de linalool. Mientras que en octubre, los porcentajes encontrados fueron los siguientes: 50% de α -pineno, 5% de β -pineno, 19% de limoneno, 18% de γ -terpineno y 8% de linalool (Figura 44). Al igual que en *Abies religiosa*, por tratarse de una especie conífera no se encontró isopreno. En este caso se observó un cambio importante en la composición de la emisión, ya que en octubre no se observó Δ^3 -careno, pero sí limoneno, mientras que en junio la concentración de Δ^3 -careno encontrada fue mayor que la de los demás compuestos, pero no se observaron trazas de limoneno. Esta diferencia se puede deber a los diferentes usos de éstos compuestos en la defensa de la planta. El limoneno se emplea en la defensa directa, indirecta, alelopatía y polinización de las plantas; mientras que el Δ^3 -careno se emplea solamente en la defensa directa contra hervíboros y patógenos, la cual debe ser más importante en esta época por

que las hojas son más jóvenes. 28% de α -pineno, 4% de β -pineno, 36% de Δ^3 -careno, 16% de γ -terpinene y de linalool

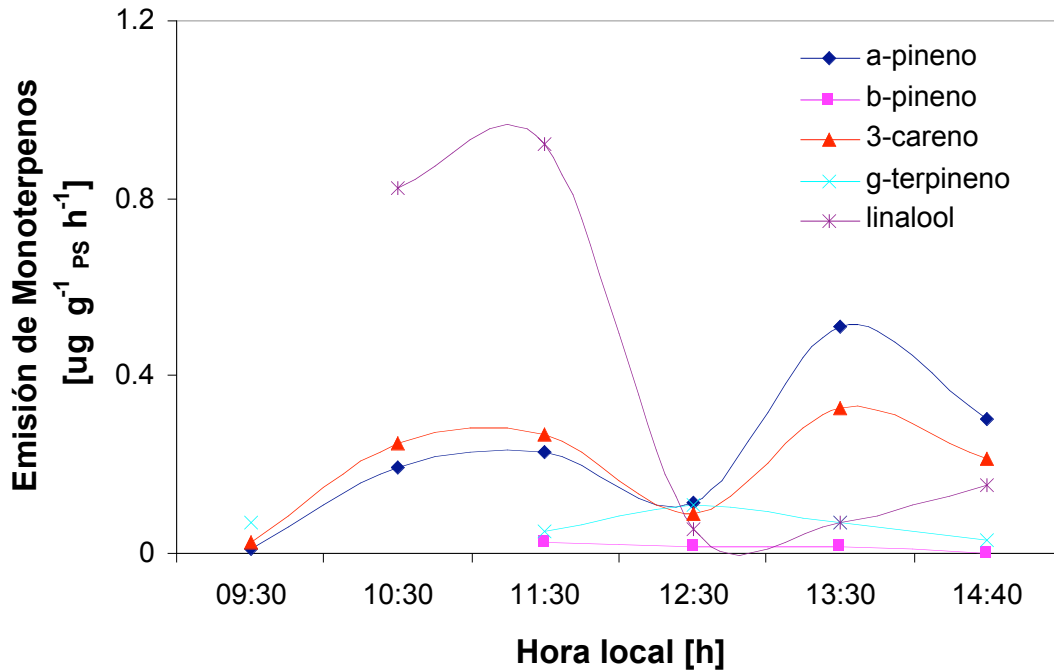
Figura 44. Porcentajes de los monoterpenos encontrados en *Pinus patula* en el Sitio Bosque del Pedregal



Al igual que lo encontrado con *Abies religiosa*, los factores de emisión estimados para los monoterpenos variaron entre los dos meses, siendo mayor las concentraciones en octubre, cuando las hojas se encuentran completamente desarrolladas y maduras en comparación con junio.

Un ejemplo de las emisiones encontradas en junio, se puede observar en la Figura 45:

Figura 45. Emisión de monoterpenos el 25 de Junio del 2003 en *Pinus patula*



En este caso, se presentaron días nublados, con un gran movimiento de nubes, los cuales ocasionaron un baja en la temperatura y frecuentes reducciones de la radiación solar, lo cual pudo afectar en la emisión de estos. Al igual que en *Abies religiosa*, las hojas de pino nacen entre los meses de noviembre y diciembre, pero permanecen guardadas en las yemas que los protegen y en primavera se rompe la yema y las hojas son liberadas. Como el caso anterior, las hojas nuevas no tienen sus canales de resina completamente desarrollados (Ewers, 1982, Apple et al., 2002) y no han tenido tiempo de almacenar a los monoterpenos. Por lo tanto, en junio se puede observar una emisión menor que en octubre.

En cuanto a la temperatura y humedad relativa encontrada en el interior de la cámara se observaron los perfiles mostrados en la Figura 46, mientras que las temperaturas dentro y fuera de la cámara presentaron un comportamiento indicado en la Figura 47:

Figura 46. Condiciones ambientales en el interior de la cámara del 25 de junio del 2003

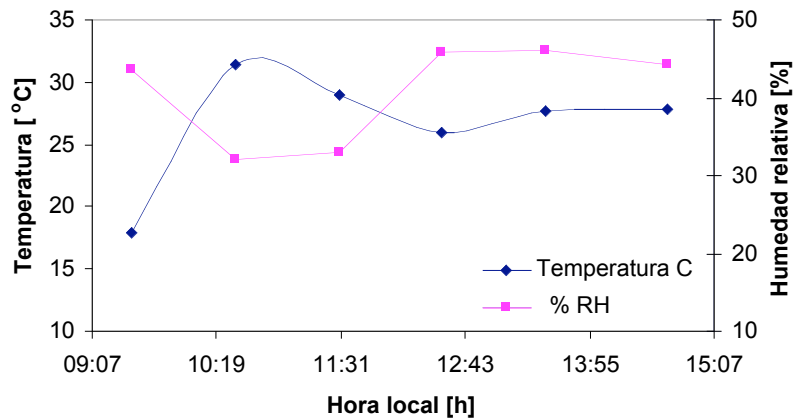
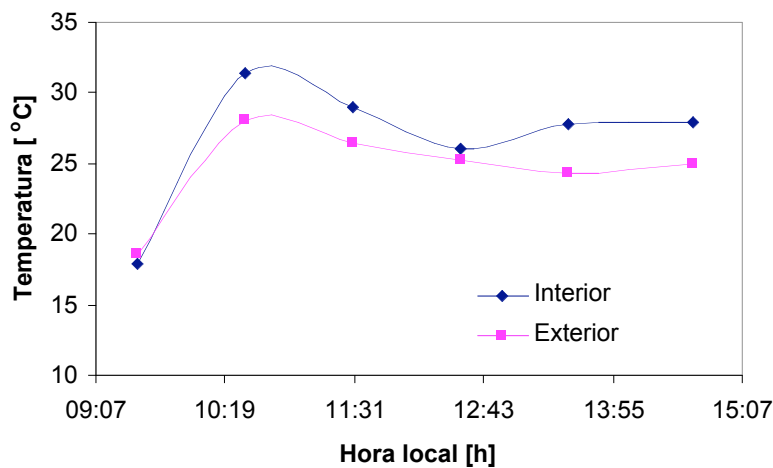
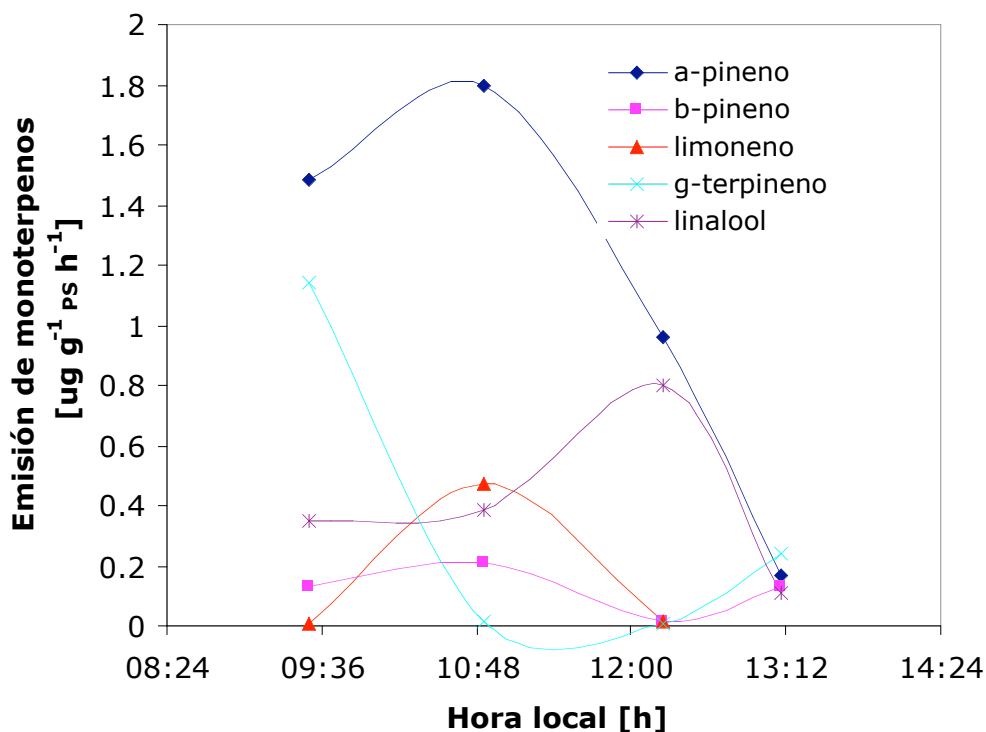


Figura 47. Temperaturas registradas en el interior y exterior de la cámara el 25 de junio del 2003



En esta época del año se observa que las temperaturas interna y externa presentaron menos diferencia que en octubre (ver Figura 45). Esto pudo deberse a que la nubosidad no sobrecalentará la cámara por la radiación solar recibida. Las emisiones encontradas en este pino en un día seleccionado de octubre se presentan en la Figura 48.

Figura 48. Emisión de monoterpenos el 22 de Octubre del 2002 en *Pinus patula*



La emisión de γ -terpineno sufrió una caída y luego se volvió a estabilizar. Esto indica que aunque se dejó que el árbol se estabilizara por casi dos horas, parece que todavía no alcanzaba su estado de reposo, o que su emisión cesó para emitir compuestos que le sirvieran de defensa. Un problema que hubo en este bosque es que por cuestiones de seguridad no se pudo colocar un día antes la cámara en el árbol. El perfil de las condiciones ambientales reportadas dentro de la cámara para el 22 de Octubre de 2002 se muestra en la Figura 49, mientras que el perfil de las temperaturas en el interior y el exterior de la cámara se presentan en la Figura 50.

Figura 49. Condiciones ambientales en el interior de la cámara del 22 de octubre del 2002

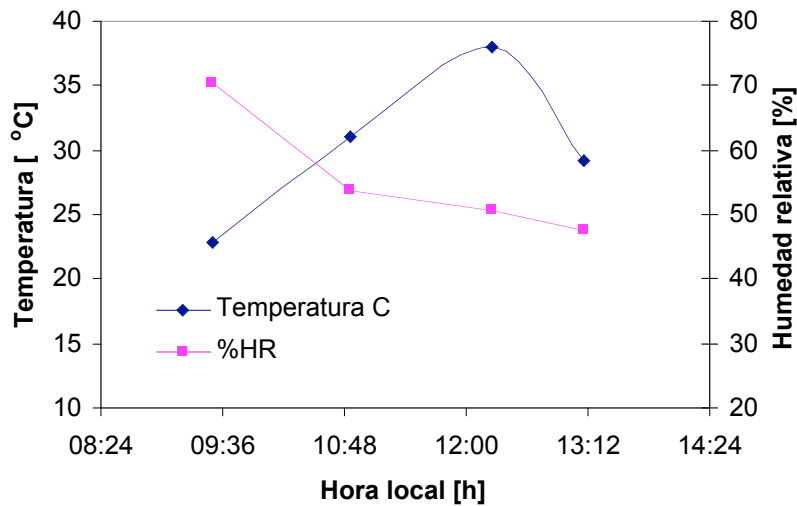
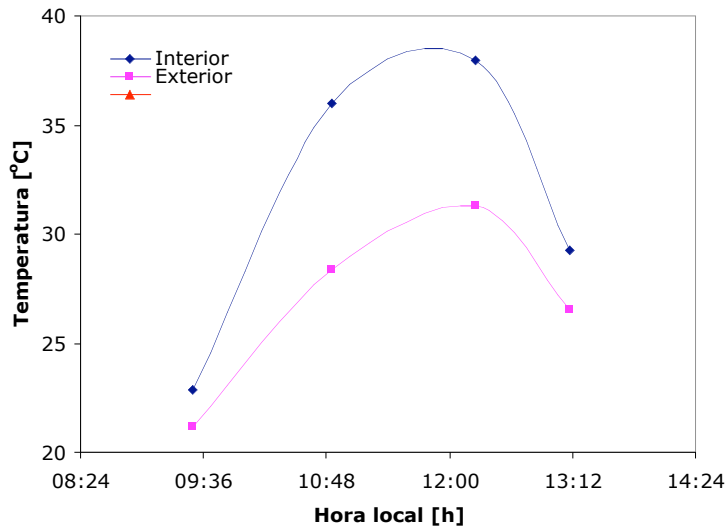


Figura 50. Temperaturas registradas en el interior y exterior de la cámara del 22 de octubre del 2002



Los días de muestreo en otoño fueron días soleados con intensa radiación solar en las mañanas, lo cual se reflejó en las temperaturas registradas en el interior de la cámara, pero en las tardes se empezó a nublar y los muestreos se terminaron antes de que iniciara la lluvia. De la misma manera, los árboles seleccionados no recibían la sombra de los árboles de sus alrededores, recibiendo una radiación solar de forma directa. En cuanto a la temperatura en el interior fue mucho mayor que la temperatura externa, ya que como en el caso de *Abies religiosa*, la cámara tuvo un calentamiento interno, que en el caso de este pino fue una diferencia importante. Esta diferencia se debió al material con que está construida la cámara,

en el cual la intensa radiación creó el aumento de la temperatura, por lo que para volver a emplear en futuros estudios a la cámara se debe de contar con más ventiladores en su interior, o con otra forma de control de temperatura, como el recircular agua en sus paredes.

Los flujos de emisión obtenidos se normalizaron a 30°C utilizando el algoritmo propuesto por Tingey (Tabla 12), ya que se observó que los compuestos emitidos solamente dependían de la temperatura y no interviene en su emisión la radiación, lo cual se comprobó al realizar el mismo experimento que en el caso de *Abies*, tapando una rama de un árbol de pino de los rayos del sol y muestreando después su emisión. Los resultados tienen sus incertidumbres inherentes durante todo el manejo y análisis de la muestra.

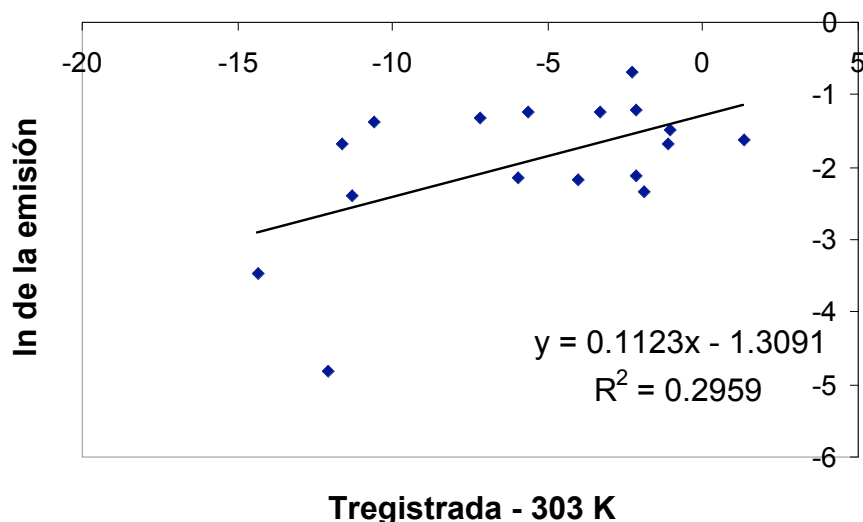
Tabla 12. Valores de emisión promedio de los monoterpenos encontrados en *Pinus patula*

Monoterpenos	Factor de Emisión a 30°C $\mu\text{g g}^{-1} \text{PS h}^{-1}$	
	Octubre 2002 (doce muestras)	Junio 2003 (doce muestras)
α -pineno	1.758 \pm 0.038	0.308 \pm 0.026
β -pineno	0.193 \pm 0.010	0.048 \pm 0.021
Δ^3 -careno	-----	0.405 \pm 0.024
Limoneno	0.688 \pm 0.032	-----
γ -terpineno	0.632 \pm 0.069	0.175 \pm 0.025
Linalool	0.279 \pm 0.011	0.178 \pm 0.023
Total	3.5533	1.115

Los factores de emisión normalizados encontrados en esta especie de pino, fueron similares a otras especies de pino que han sido reportadas en la literatura y que van de 0.04 a 12.1 $\mu\text{g g}^{-1} \text{PS h}^{-1}$ (Simpson et al., 1999; Kim, 2001, Benjamin et al., 1996; Owen et al., 2001).

Al igual que con *Abies*, se obtuvo el valor del factor empírico β que se obtiene de la pendiente del logaritmo natural de la emisión y la diferencia entre la temperatura registrada y la temperatura estándar. Un ejemplo de la gráfica de α -pineno, que se obtuvo de los resultados del muestreo de todas las emisiones realizadas en la primavera se encuentra en la Figura 51.

Figura 51. Obtención del valor teórico de β para el α -pineno muestreado el 25 de Junio del 2003



Al igual que en *Abies religiosa* no existe una importante correlación entre los resultados, ya que el estudio se realizó en el campo, sin contar con el control de las diferentes variables. Los valores de β obtenidos de las pendientes de las diferentes gráficas, para cada monoterpeno se encuentran en la tabla 13:

Tabla 13. Valores β encontrados para cada monoterpeno en *Pinus patula* en K^{-1}

Monoterpenos	β valor K^{-1}	
	Octubre 2002	Junio 2003
α -pineno	0.0424	0.1123
β -pineno	0.0531	0.0816
Δ 3-careno	0.0530	0.1751
Limoneno	0.0563	-----
γ -terpineno	-----	0.1575
Linalool	0.0662	0.1939

En el caso del pino, los valores del factor empírico β son muy similares a los valores teóricos que se reportan en la literatura (0.057 a $0.144 K^{-1}$) (Benjamín et al., 1999).

Para esta especie de pino, existen pocos estudios sobre efectos que le produce la contaminación, sin embargo por la resistencia que presenta la especie y su rápido crecimiento es probable que se vea poco afectada por el ozono y las partículas atmosféricas de la Cd. de México, o a que ya los árboles jóvenes se han hecho resistentes a ella (Millar, 2004). Sin embargo se requieren realizar estudios sobre la salud en que se encuentran las especies vegetales del bosque.

VI.3 *Quercus rugosa*

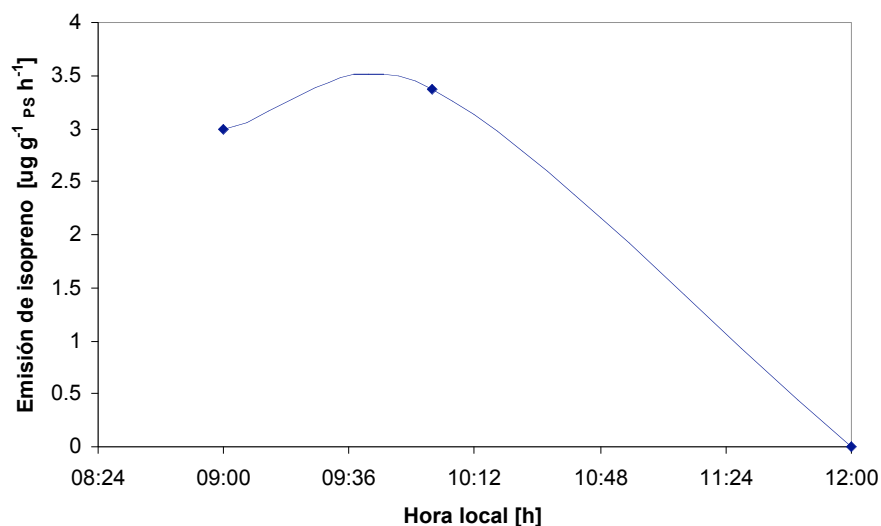
La especie *Quercus rugosa* constituye una de las principales especies vegetales que se encuentran en los bosques de los alrededores de la Ciudad de México. Esta especie es el encino más importante del centro del país

Al igual que el pino, esta especie se muestreó en el bosque de Tlalpan. En este caso los árboles de estudio se localizaban en un lugar llamado Valle de los Encinos, el cual se trataba de un helipuerto que se eliminó y se sembraron diversas especies de encinos. Los muestreos se realizaron en noviembre, mayo y julio de 2003, con 4 árboles de la especie con edades entre los 3 a 7 años. Esta especie es nativa del bosque, sin embargo uno de los principales problemas del encino es su lento crecimiento, aunque se trata de una especie resistente que no requiere de grandes cantidades de agua.

En el estudio de *Quercus rugosa*, se pudo observar que emitía en su gran mayoría isopreno, pero también se encontró la presencia de monoterpenos en trazas como el α -pineno, el cual no se pudo cuantificar debido a que la baja concentración que se encontraba cerca del límite de detección del equipo. Además por no contar el vegetal, con órganos especializados para el almacenamiento de los monoterpenos, parece que no gasta su energía en sintetizarlos.

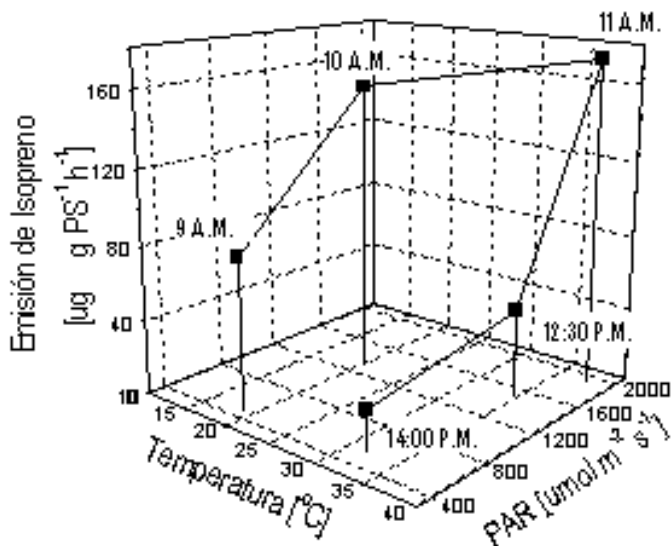
Se realizó un estudio para comprobar si la emisión del isopreno era enzimática, por lo que a un árbol con el equipo montado en una de sus ramas se le tapó de la radiación de sol (a las 11:00 de la mañana), se le dejó una hora tapado, después de la cual se procedió a tomar otra muestra (12:00 horas). Al analizar los resultados por duplicado en el laboratorio se pudo observar que la emisión de isopreno después de encontrarse tapado el árbol fue nula (Figura 52).

Figura 52. Estudio de la emisión enzimática de isopreno



Los resultados que se realizaron el 13 de Mayo del 2003 (primavera), se presentan en la Figura 53 mientras que las condiciones ambientales asociadas al experimento en las Figuras 54 y 55.

Figura 53. Emisión de isopreno el 13 de Mayo del 2003 en *Quercus rugosa*



Se encontró que en la primavera la especie *Quercus rugosa* fue una alta emisora de isopreno, siendo más importante la radiación que la temperatura, ya que mientras la radiación fuera elevada, aunque la temperatura disminuyó, la emisión fue elevada. La emisión es 10 veces más que la presentada en el mes de noviembre (Apéndice I y II). En Mayo las hojas nuevas ya nacieron y las viejas se están terminando de caer.

Figura 54. Condiciones ambientales en el interior de la cámara el 13 de mayo del 2003

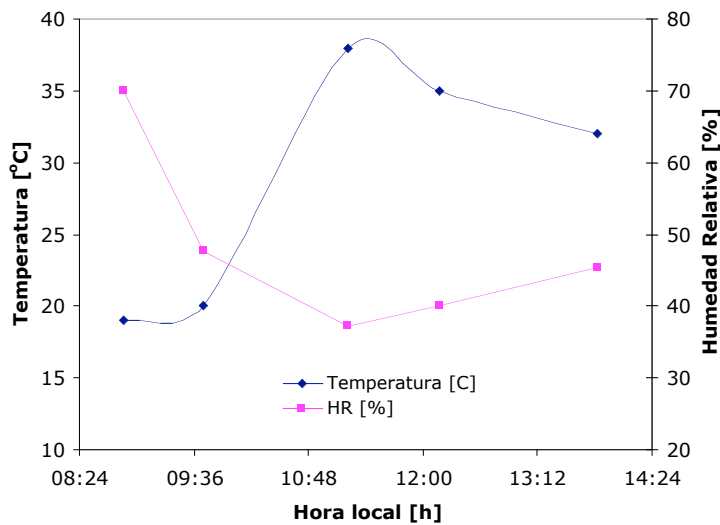
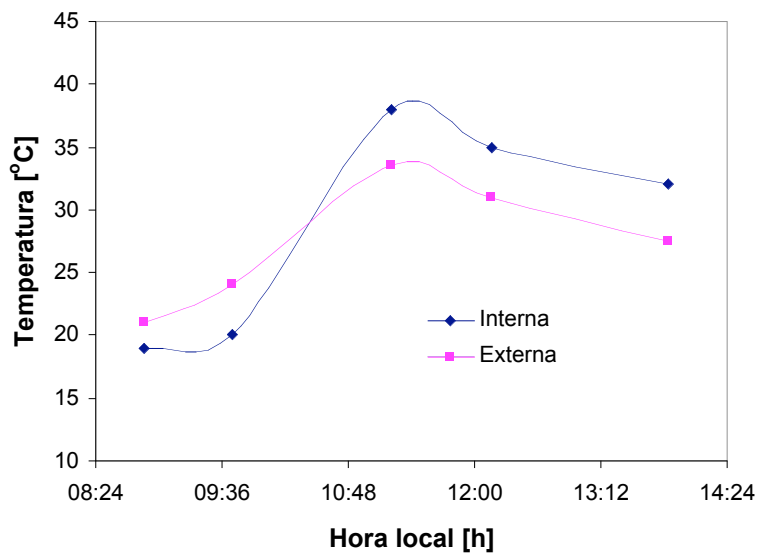


Figura 55. Temperaturas registradas en el interior y exterior de la cámara del 13 de mayo del 2003



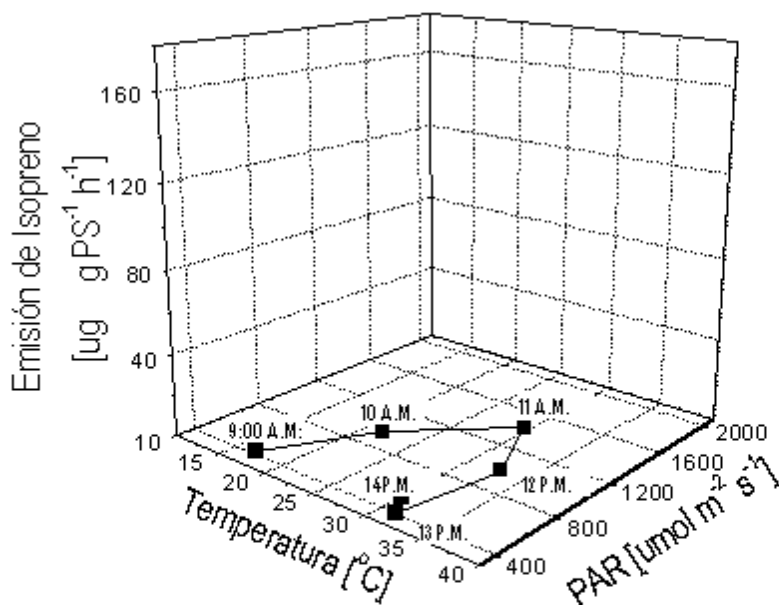
En primavera es la temporada del año en que se presentan las mayores temperaturas en México (García, 2004), en este caso en el interior de la cámara se llegaron a registrar hasta 38°C, la radiación también fue elevada en algunos casos fue cerca de los 2000 $\text{umol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Cuando se observó la mayor radiación y

la mayor temperatura fue que se encontró la emisión más elevada. En este caso, al igual que los anteriores, la temperatura en el interior de la cámara fue mayor que en el exterior, pero la temperatura en el exterior también fue elevada, observando que no se creó un microambiente que pudo haber estresado a la planta e interferir en la emisión del isopreno.

El tercer muestreo realizado en *Quercus rugosa* fue en verano del 2003, los resultados del muestreo corresponden al 4 de Julio del 2003, y se presentan en la Figura 56.

Las condiciones ambientales en el interior de la cámara se encuentran en la figura 57 y la comparación entre la temperatura en el interior y en el exterior en la Figura 58:

Figura 56. Emisión de isopreno el 4 de Julio del 2003 en *Quercus rugosa*



En verano la emisión cayó y se observó una baja emisión de isopreno en la especie *Quercus rugosa*. La emisión registrada fue baja, siendo la máxima radiación fotosintéticamente activa registrada mayor de $1200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. No

obstante, en esta estación del año se pueden observar radiaciones mucho menores que en los otros meses de muestreo.

Figura 57. Condiciones meteorológicas en el interior de la cámara el 4 de Julio del 2003

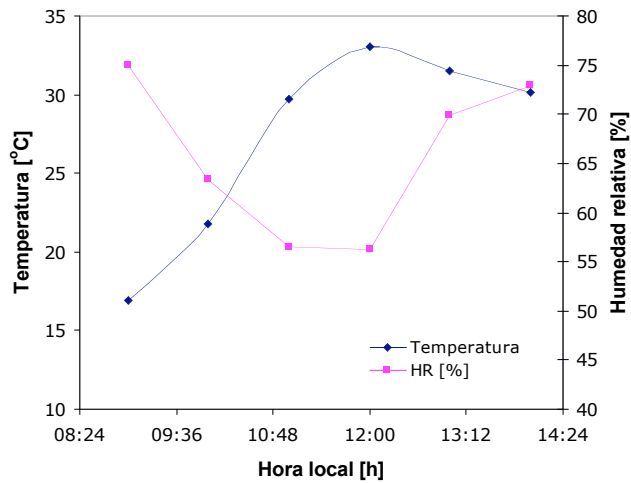
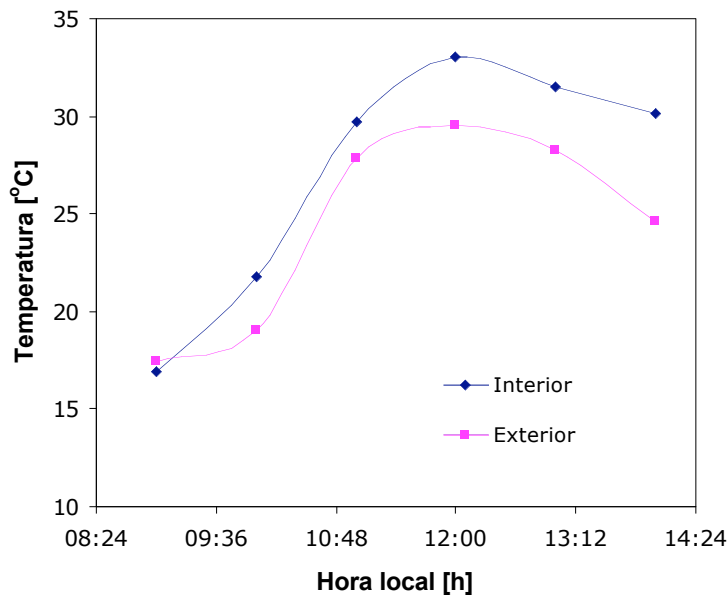


Figura 58. Temperaturas registradas en el interior y exterior de la cámara el 4 de julio de 2003

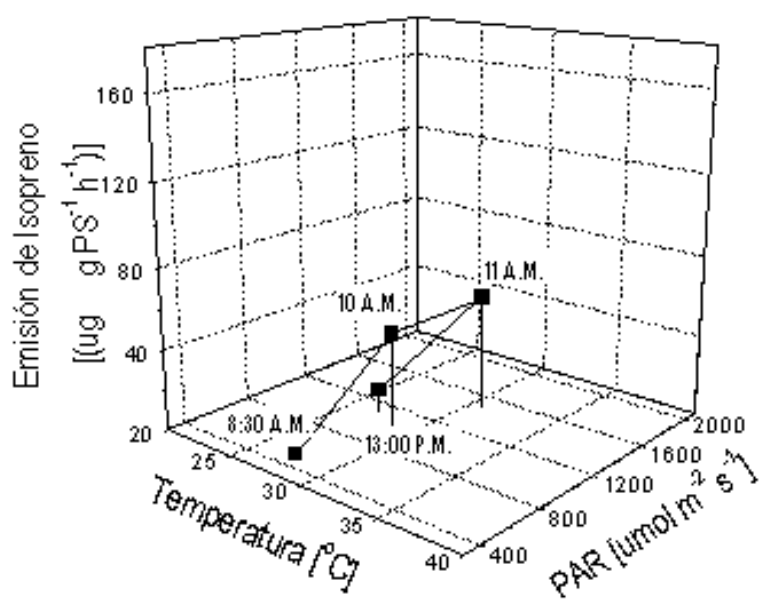


En junio se registraron temperaturas menores que en el mes de mayo, en este mes ya ha comenzado la temporada de lluvias en la Ciudad de México y por la tarde empieza a nublarse el cielo y luego cuando se acerca la noche llueve. Se considera que la baja emisión registrada en parte se debe a que ya finalizó la

temporada de sequía, el aire está más limpio y los árboles se encuentran bajo un menor estrés.

Los resultados del muestreo realizado durante otoño, el día 8 de 2002 se presentan en la Figura 59, mientras que las condiciones ambientales en el interior de la cámara y la comparación entre la temperatura interna y externa se encuentran en las Figuras 60 y 61, respectivamente.

Figura 59. Emisión de isopreno el 8 de Noviembre del 2002 en *Quercus rugosa*



En este caso la emisión de isopreno fue entre media y baja, aunque se presentaron valores radiación fotosintéticamente activa (PAR) con valores mayores de los $1600 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y temperaturas internas mayores de los 31°C . En otoño las hojas que tiene el árbol ya son maduras y la cantidad de enzima pudo haber disminuido y por esta razón la emisión esperada fue baja.

Figura 60. Condiciones ambientales en el interior de la cámara el día del 8 de noviembre del 2002

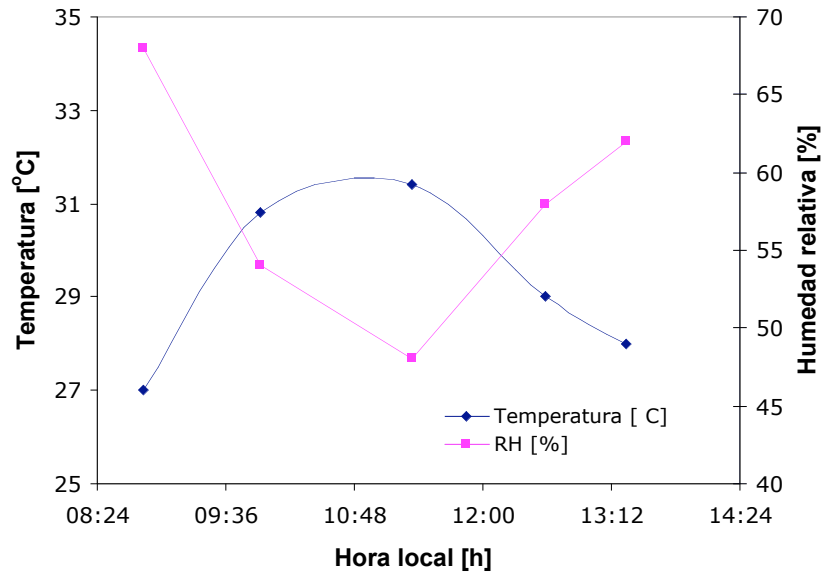
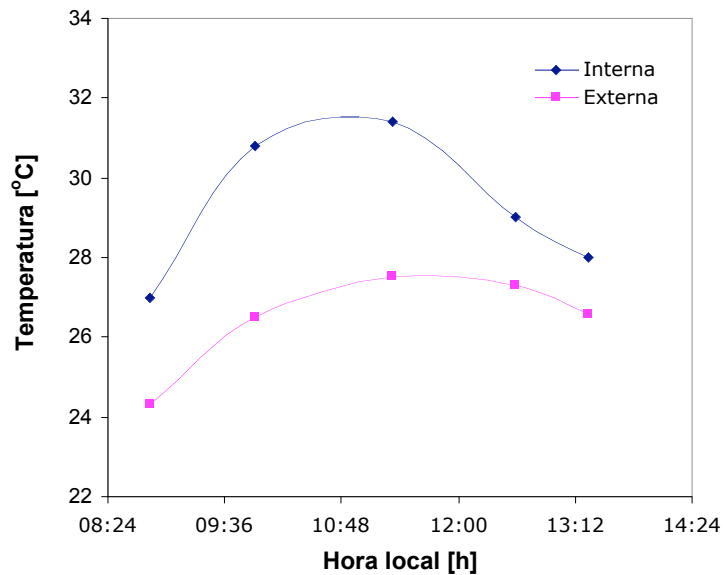


Figura 61. Temperaturas registradas en el interior y exterior de la cámara del 8 de Noviembre del 2002



La temperatura en el interior de la cámara, comparándola con la externa también presentó una diferencia, la cual no fue tan marcada como en el caso del pino. En este día de muestreo, al igual que en el caso del pino, la radiación solar fue intensa, pero las temperaturas en noviembre, al ser menores que en octubre, lograron que no se contara con una diferencia mayor.

Los promedios de los factores de emisión estandarizados de isopreno, con sus incertidumbres del método de muestreo y análisis para *Quercus rugosa*, según el algoritmo de Guenther et al. (1993), a 30°C y 1000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ se presentan en la tabla 15. En esta especie se encontró solamente al α -pineno pero en cantidades por debajo de los límites de detección de la técnica de análisis.

Tabla 14. Factores promedio de emisión del Isopreno en *Quercus rugosa*

Mes	Factor emisión a 30°C $\mu\text{g g}^{-1}_{\text{PS}} \text{h}^{-1}$	C.V.
Mayo 2003	126.50 \pm 0.47	2.15 %
Julio 2003	1.191 \pm 0.23	1.99 %
Noviembre 2002	17.175 \pm 0.96	5.61 %

Como se puede observar existe una gran diferencia entre las concentraciones encontradas en los tres meses del año, encontrando una variación de diez veces el valor entre noviembre y mayo, y entre julio y noviembre. En gran medida se debe a que después de que nació la hoja es cuando se presenta la mayor emisión por que la concentración de la enzima isoprén sintetasa es mayor, es cuando el árbol elimina las hojas viejas. En primavera se presentan las mayores temperaturas en el año y existe influencia por estrés hídrico. En otoño el árbol solamente tiene hojas ya maduras, cuyo sistema enzimático se encuentra ya disminuido, pero en el mes de Julio, la disminución en las emisiones se puede deber a que se acaba el estrés hídrico al que se encuentra sujeto el vegetal y a que la lluvia "limpia" de los contaminantes atmosféricos (Loreto et al., 2001 y Loreto, 2001). Estudios recientes muestran una relación entre la emisión de isopreno y la capacidad fotosintética durante la maduración de las hojas, y durante las condiciones de estrés hídrico, la cual crea que las emisiones tengan una variación tan grande (Kuhn et al. 2004).

En cuanto a los valores de los factores de emisión encontrados para la especie *Quercus rugosa*, fueron similares en mayo a los valores reportados por otros autores como Csiky y Seufert en 1999. (111 \pm 78.1 $\mu\text{g C g}^{-1}_{\text{PS}} \text{h}^{-1}$ para *Q. faginea*), Geron, et al. en 2001 (151 $\mu\text{g C g}^{-1}_{\text{PS}} \text{h}^{-1}$ para *Q. lavéís* y *Q. velutina*), y Kesselmeier, et al. en 1999 (con valores de 50 a 120 $\mu\text{g C g}^{-1}_{\text{PS}} \text{h}^{-1}$). Sin embargo en el presente trabajo, las diferencias encontradas entre las diferentes épocas del año fueron mayores, parecidas a lo reportado por Kuhn et al. en donde los resultados en la emisión de isopreno de la especie *Hymenaea courbaril* fueron en aumento de 0.7 a 111.5 $\mu\text{g C g}^{-1}_{\text{PS}} \text{h}^{-1}$, pero en el caso de *Quercus rugosa* la

emisión aumentó y en la época de lluvias sufrió una gran disminución, la cual fue mucho menor que en la época de invierno. En este trabajo se propone la hipótesis de que esta diferencia se debió tanto a la madurez que presentaba la hoja, la radiación fotosintéticamente activa del día de muestreo, y posiblemente al efecto indirecto de la contaminación de la Ciudad de México. Por lo general en primavera se presentan elevadas las concentraciones de ozono, partículas y óxido de azufre para esta zona, mientras que en el verano las concentraciones son menores por la presencia de lluvias.

VII. Conclusiones

Este trabajo presenta los factores de emisión preliminares de tres especies arbóreas de importancia para los bosques de los alrededores de la Ciudad de México.

Este es el primer trabajo en que se obtienen factores de emisión aproximados para especies vegetales mexicanas en dos y tres meses diferentes del año.

Por tratarse del primer trabajo experimental al respecto aún se deben hacer mejoras en los equipos de muestreo, principalmente en la cámara, para contar con muestras con la temperatura real sin crear microambiente, así como en el análisis de las muestras, con el fin de agilizar la toma de la muestra y el tiempo de análisis de las mismas.

Los resultados indicaron que la medición de las emisiones de las plantas es compleja, ocurriendo gran cantidad de variables que la afectan. Por lo tanto, se requieren de estudios más profundos para observar las variaciones de acuerdo al desarrollo y edad de las hojas, el estrés hídrico, las concentraciones enzimáticas, los depredadores, los nutrimentos del suelo, la contaminación atmosférica y las condiciones meteorológicas a las que se encuentra sujeto el vegetal.

VII.1 *Abies religiosa*

En esta especie se observó que es de gran importancia la edad de la hoja, ya que en hojas jóvenes las emisiones son mucho menores que en las maduras, porque éstas ya tuvieron tiempo para almacenar a los monoterpenos en sus canales de resina. Esto se concluye debido a que en ambos muestreos la radiación y la temperatura fueron similares y lo único que varió fue la edad de las hojas, por lo que pudiera presentarse el caso de que las emisiones fueran tanto enzimáticas como del almacenamiento de los canales de resina (Kuhn et al., 2004). La confirmación indirecta del proceso enzimático solamente se realizó a finales de mayo y es necesario llevarlos a cabo en octubre para confirmar la procedencia enzimática o de almacenamiento para el α y β -pineno, o de ambos.

VII.2 *Pinus patula*

Las emisiones de monoterpenos observadas en *Pinus patula* fueron parecidas a lo reportado en la literatura para otros pinos.

Estas emisiones dependieron en gran medida del almacenamiento de los monoterpenos en los canales de resina, lo cual se ve influenciado por la edad de las hojas.

Se pudo comprobar la dependencia de las emisiones a la temperatura, siendo mayor la emisión a mayor temperatura.

VII.3 *Quercus rugosa*

En el caso de *Quercus rugosa* se encontró un amplio rango de valores en los factores de emisión para isopreno, lo cual se considera que se debe a la capacidad fotosintética durante el desarrollo de la hoja y las condiciones ambientales (Kuhn et al., 2004). Sin embargo al igual que lo reportado por Loreto 2002 y Loreto et al., 2001, en los árboles de los alrededores de la Ciudad de México la emisión también se puede deber tanto a la protección de las hojas contra las altas temperaturas, como a la protección contra el daño que podría causarles la alta temperatura y posiblemente el ozono. Lo cual se hace patente cuando la emisión cae drásticamente en el mes de lluvia, en el cual la contaminación se limpia del aire.

En el caso de isopreno, se observó que su emisión es mayor cuanto más joven es la hoja (primavera) por contar con mayor concentración de la enzima isoprén sintetasa, mientras que en las hojas viejas (invierno) la emisión es menor por que las hojas contienen una menor concentración de enzima (Sharkey y Yeh, 2001).

En cuanto a la influencia de las condiciones meteorológicas, se observa un cambio drástico entre las emisiones registradas entre mayo y julio. En el mes de Mayo es cuando se presentan las temperaturas más elevadas, el estrés hídrico y la mayor concentración de contaminantes atmosféricos; en el verano, empieza la lluvia y el vegetal se encuentra menos estresado por que bajan las temperaturas, no presentan estrés hídrico y el aire se encuentra relativamente libre de contaminantes; mientras que en noviembre, ya empezó la temporada de secas, la hoja ya se encuentra madura y con menos concentración de enzima, y la concentración de contaminantes atmosféricos.

En el caso de las tres especies estudiadas, los resultados demuestran que no se puede obtener solamente un factor de emisión a partir de una sola medición, y que la emisión resultante es la combinación de diversos factores tanto propios de las plantas como del ambiente, observándose que las tasas de emisión fueron diferentes en los diferentes meses del año, lo cual ya antes fue propuesto por diferentes investigadores en la literatura especializada (Kuhn et al., 2004, Schaab et al., 2003, Staudt et al., 1997, Yokouchi et al., 1983). Por lo tanto, si se quiere contar con factores de emisión reales y consistentes, se requiere se realizar mayor cantidad de estudios, aún en las especies reportadas en el presente estudio.

Apéndice I. Factor encontrado en la emisión

Abies religiosa

15 de octubre del 2002

	12:25	14:20	15:00
α-pineno	0.5100	0.4214	0.486
β-pineno	0.3978	0.3298	0.6049
Δ3-careno	1.0695	1.1535	1.0185
Limoneno	N.D.	N.D.	N.D.
γ-terpineno	0.7455	0.8353	0.7100
Linalool	0.3352	0.8781	0.3193

16 de Octubre del 2002

	10:00	11:30	12:00
α-pineno	1.0224	0.0540	0.0630
β-pineno	0.5541	0.3211	0.0982
Δ3-careno	0.125	0.2626	0.0386
Limoneno	N.D.	N.D.	N.D.
γ-terpineno	ND	0.0771	0.8751
Linalool	0.1110	0.5444	0.0471

17 de Octubre del 2002

	11:00	12:00	13:00
α-pineno	0.1620	0.1189	0.7727
β-pineno	0.2266	0.2340	0.3732
Δ3-careno	0.2848	0.4111	0.7986
Limoneno	<LD	0.0639	0.0366
γ-terpineno	1.7260	0.3298	2.4755
Linalool	0.6047	0.1633	0.4433

18 de Octubre del 2002

	11:00	12:00	13:00
α-pineno	0.764	0.1266	0.0830
β-pineno	0.0199	0.0630	0.0302
Δ3-careno	0.0783	0.3475	0.3351
Limoneno	0.0800	0.0373	0.0013
γ-terpineno	0.0144	0.0372	0.0013
Linalool	0.0029	0.0167	0.0441

28 de Abril del 2003

	9:00	10:05	11:10	12:20	13:30
α-pineno	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
β-pineno	0.0001	0.0002	0.0001	.0002	<LD
Δ3-careno	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
Limoneno	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
γ-terpineno	ND	<LD	<LD	<LD	<LD
Linalool	<LD	<LD	<LD	ND	<LD

29 de Abril del 2003

	9:30	10:40	11:50	14:00
α-pineno	0.0190	<LD	<LD	<LD
β-pineno	ND	<LD	ND	<LD
Δ3-careno	0.0050	ND	ND	<LD
Limoneno	0.0031	ND	ND	<LD
γ-terpineno	0.0117	<LD	0.0001	<LD
Linalool	ND	ND	ND	ND

2 de mayo del 2003

	10:00	11:40	13:50
α-pineno	0.0009	0.0002	0.0001
β-pineno	0.0004	0.0002	<LD
Δ3-careno	0.0001	0.0004	<LD
Limoneno	0.0002	0.0010	0.0003
γ-terpineno	ND	ND	ND
Linalool	0.0001	ND	<LD

Pinus patula

22 de Octubre del 2002

	9:30	10:51	12:15	13:15
α-pineno	1.484	1.795	0.963	0.165
β-pineno	0.134	0.210	<LD	0.129
Limoneno	<LD	0.474	0.013	ND
γ-terpineno	1.141	<LD	0.009	0.242
Linalool	0.347	0.383	0.801	0.108

23 de Octubre del 2002

	9:10	10:30	12:10	13:30
α-pineno	0.261	0.228	0.305	0.338
β-pineno	0.019	0.166	0.174	0.151
Limoneno	0.226	<LD	<LD	0.409
γ-terpineno	0.288	0.224	0.877	2.728
Linalool	0.085	0.128	0.503	1.176

24 de Octubre del 2002

	9:30	11:30	13:50
α-pineno	1.852	3.179	0.831
β-pineno	0.060	0.114	0.028
Limoneno	<LD	1.017	<LD
γ-terpineno	0.312	0.105	0.175
Linalool	0.148	0.027	0.100

25 de junio del 2003

	9:30	10:30	11:30	12:20	13:35	14:30
α-pineno	0.008	0.195	0.223	0.110	0.509	0.300
β-pineno	ND	ND	0.026	0.015	0.016	0.002
Δ^3-careno	0.027	0.247	0.266	0.090	0.327	0.215
γ-terpineno	0.068	ND	0.050	0.110	0.071	0.031
Linalool	ND	0.082	0.922	0.056	0.070	0.155

26 de junio del 2003

	9:00	10:00	11:00	12:00	13:50
α-pineno	0.090	0.255	0.120	0.289	0.184
β-pineno	0.077	0.021	0.004	0.022	<LD
Δ3-careno	0.019	0.218	0.496	0.939	1.165
γ-terpineno	0.016	0.044	0.044	ND	ND
Linalool	0.029	0.0665	0.266	0.439	1.363

2 de julio del 2003

	9:15	10:15	11:15	13:00	13:50	14:30
α-pineno	0.031	0.185	0.270	0.117	0.293	0.097
β-pineno	ND	0.007	0.016	0.017	0.162	0.074
Δ3-careno	ND	0.077	0.187	0.109	0.268	0.129
γ-terpineno	0.006	0.026	0.049	0.029	0.109	0.034
Linalool	0.005	0.012	0.020	0.032	0.109	0.012

Quercus rugosa

8 de Noviembre del 2002

8:50	11.827
9:55	57.373
11:20	53.089
12:35	47.990
13:20	3.567

11 de Noviembre del 2002

8:40	16.641
9:30	20.976
10:30	21.969
13:10	19.673

21 de Noviembre de 2002

9:00	4.268
9:30	2.611
10:00	2.359
10:30	4.723

13 de Mayo de 2003

8:40	17.6711196
9:45	45.0414046
11:10	84.921862
12:10	33.113061
13:10	19.8651809

14 de Mayo de 2003

9:15	120.537294
10:20	92.4837505
12:13	55.3460594
13:10	119.056878
13:55	102.684693

3 de Julio de 2003

9:00	0.39963817
10:00	0.56796505
11:00	0.97726412
12:00	0.45913929
14:00	0.16988114

4 de Julio de 2003

9:00	0.51737108
10:00	0.74490535
11:15	0.82939936
12:15	1.03080749
13:00	0.12746412

14:00	0.07266391
-------	------------

11 de Julio de 2003

9:45	0.32453954
10:45	0.26767773
11:30	0.35587089
12:15	0.14024103

Apéndice II. Factor normalizado a 30°C y 1000 PAR

Abies religiosa

15 de octubre del 2002

	12:25	14:20	15:00
α-pineno	1.2454	0.7726	6.9103
β-pineno	0.9715	0.6048	5.3873
Δ3-careno	0.3931	0.9351	0.9685
Limoneno	N.D.	N.D.	N.D.
γ-terpineno	0.2846	0.6519	0.6752
Linalool	0.2992	0.2931	0.3036

16 de Octubre del 2002

	10:00	11:30	12:00
α-pineno	1.0224	0.5689	0.3496
β-pineno	5.543	3.3830	0.5451
Δ3-careno	0.1171	0.2568	0.0348
Limoneno	N.D.	N.D.	N.D.
γ-terpineno	0	0.0754	0.7885
Linalool	0.1040	0.5324	0.0424

17 de Octubre del 2002

	11:00	12:00	13:00
α-pineno	0.9188	0.5710	8.0830
β-pineno	1.2851	1.1240	3.9041
Δ3-careno	0.0627	0.2566	0.2406
Limoneno	0.0640	0.0275	0.0009
γ-terpineno	0.0115	0	0.0286
Linalool	0.0024	0.0123	0.0316

18 de Octubre del 2002

	11:00	12:00	13:00
α-pineno	14.6347	2.5890	1.4491
β-pineno	0.3821	1.2899	0.5267
Δ3-careno	0.0063	0.0256	0.0240
Limoneno	0.0640	0.0275	0.0009
γ-terpineno	0.0115	0.0016	0.0286
Linalool	0.0024	0.0123	0.0316

28 de Abril del 2003

	9:00	10:05	11:10	12:20	13:30
α-pineno	.002194	.000111	.000028	.00005428	.00001744
β-pineno	.004375	0.000484	<LD	.0002177	.00020673
Δ3-careno	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
Limoneno	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
γ-terpineno	ND	<LD	<LD		
Linalool	<LD	<LD	<LD	ND	<LD

29 de Abril del 2003

	9:30	10:40	11:50	14:00
α-pineno	.08822	<LD	<LD	<LD
β-pineno	ND	<LD	ND	<LD
Δ3-careno	.01532	ND	ND	<LD
Limoneno	.00937	ND	ND	<LD
γ-terpineno	0.00356	<LD	0.0001779	<LD
Linalool	ND	ND	ND	ND

2 de mayo del 2003

	10:00	11:40	13:50
α-pineno	.000436	.000190	<LD
β-pineno	.000961	.000107	<LD
Δ3-careno	.000160	<LD	<LD
Limoneno	.000195	<LD	.000202
γ-terpineno	ND	ND	ND
Linalool	.000105	ND	<LD

Pinus patula

22 de Octubre del 2002

	9:30	10:51	12:15	13:15
α-pineno	2.815	1.049	0.470	0.177
β-pineno	0.254	0.123	<LD	0.138
Limoneno	<LD	0.277	0.006	ND
γ-terpineno	2.163	<LD	0.004	0.259
Linalool	0.658	0.224	0.391	0.116

23 de Octubre del 2002

	9:10	10:30	12:10	13:30
α-pineno	0.887	0.235	0.216	0.389
β-pineno	0.067	0.172	0.123	0.173
Limoneno	0.770	<LD	<LD	0.471
γ-terpineno	0.983	0.231	0.621	3.139
Linalool	0.292	0.132	0.356	1.354

24 de Octubre del 2002

	9:30	11:30	13:50
α-pineno	5.949	4.699	5.403
β-pineno	0.193	0.169	0.194
Limoneno	<LD	1.503	1.729
γ-terpineno	1.003	0.156	0.179
Linalool	0.476	0.041	0.047

25 de junio del 2003

	9:30	10:30	11:30	12:20	13:35	14:30
α-pineno	0.024	0.172	0.253	0.161	0.624	0.364
β-pineno	0.001	ND	0.029	0.021	0.019	0.002
Δ^3-careno	0.080	0.218	0.296	0.123	0.401	0.261
γ-terpineno	0.202	0.072	0.056	0.158	0.087	0.037
Linalool	ND	0.072	1.024	0.081	0.086	0.189

26 de junio del 2003

	9:00	10:00	11:00	12:00	13:50
α-pineno	0.248	0.664	0.146	0.389	0.204
β-pineno	0.213	0.056	0.005	0.029	ND
Δ3-careno	0.054	0.568	0.602	1.262	1.289
γ-terpineno	0.044	0.116	0.053	ND	1.508
Linalool	0.082	0.173	0.323	0.590	ND

2 de julio del 2003

	9:15	10:15	11:15	13:00	13:50	14:30
α-pineno	0.248	0.664	0.146	0.388	0.204	0.248
β-pineno	0.213	0.056	0.005	0.029	ND	0.213
Δ3-careno	0.054	0.568	0.602	1.262	1.289	0.054
γ-terpineno	0.044	0.116	0.053	ND	1.508	0.044
Linalool	0.082	0.172	0.323	0.590	ND	0.082

Quercus rugosa

8 de Noviembre de 2002

8:50	9.136
9:55	29.401
11:20	27.251
12:35	27.587
13:20	3.1534

11 de Noviembre de 2002

8:40	28.253
9:30	13.232
10:30	7.3555
13:10	13.756

21 de Noviembre de 2002

9:00	39.544
9:30	4.316
10:00	3.625
10:30	33.833

13 de Mayo de 2003

8:40	82.404
9:45	155.586
11:10	83.474
12:10	22.897
13:10	13.130

14 de Mayo de 2003

9:15	872.305
10:20	79.139
12:13	38.669
13:10	61.068
13:55	60.095

3 de Julio de 2003

9:00	2.169
10:00	1.791
11:00	3.509
12:00	0.936
14:00	0.159

4 de Julio de 2003

9:00	3.440
10:00	2.077
11:15	0.829
12:15	0.591
13:00	0.138
14:00	0.081

11 de Julio de 2003

9:45	0.421
10:45	0.687
11:30	0.718
12:15	0.324

Glosario

ATP adenosin trifosfato, molécula encargada de suministrar energía.

Canales de resina.- órganos especializados de las plantas que se encargan de la producción y almacenamiento de los monoterpenos.

Citoplasma .- región dentro de la célula que se encuentra afuera del núcleo

Citosol.- parte del citoplasma que no contiene organelos

Cloroplasto.- organelo encargado de la fotosíntesis. Consta de dos membranas, una interna y la otra externa separadas por un espacio intermembranar, contiene en su interior al aparato fotosintético.

DMAPP .- dimetil alil pirofosfato, molécula precursora del isopreno y de los monoterpenos.

DOXP.- vía metabólica del 1-deosoxi, xilulosa-5-fosfato

Estoma.- aperturas que se encuentran en la epidermis, en la parte inferior de la superficie de la hoja de la planta y que se encargan de regular el intercambio gaseoso. Se encuentran formadas por dos células guardia, las cuales regulan el diámetro del poro.

Estroma.- parte interna del cloroplasto es rodeada por la membrana interna y que contiene las enzimas solubles y a los tilacoides.

GPP.- geranil pirofosfato, molécula intermediaria de los monoterpenos.

MVA.- vía metabólica del ácido mevalónico

Mesófilo.- células del parénquima encargadas de la producción de comida y del almacenamiento.

PAR.- radiación fotosintéticamente activa, única parte del espectro de la radiación que pueden ocupar las plantas para la fotosíntesis.

Plasmalema.- Tejido vegetal que se encuentra por debajo de la cutícula, la epidermis y el del compartimiento que contiene al fluido apoplástico.

Rubisco.- enzima (ribulosa-1.5-bifosfato carboxilasa) que cataliza la reacción entre una molécula de CO₂ y la ribulosa-1,5-bifosfato y que se encuentra localizada en la cara de las membranas tilacoides que da el estroma.

Tilacoides.- sacos aplanados que se encuentran en el interior de los cloroplastos y que contienen a la maquinaria transductora de energía: las enzimas captadoras de luz, los centro de reacción, las cadenas de transporte electrónico y a la ATP sintasa.

Vacuola.- organelo con membrana muy larga y sencilla, que ocupa cerca del 90% del volumen celular y sirve para la digestión celular.

VIII. Bibliografía

1. Affek, H., Yakir, D. 2003. Natural abundance carbon isotope composition of isoprene coupling between isoprene synthesis and photosynthetic carbon flow. *Plant Physiology* 131, 1727 – 1736.
2. Alfaro, E., Martínez, L., García-Cuellar, C., Bonner, J.C., Murray, J.C., Rosas, I., Ponce de León, S., Osornio-Vargas, A. 2002. Biologic effects induced in Vitro by PM10 from three different zones of Mexico City. *Environmental Health Perspectives* 110, 715-720.
3. Alvarado, D. R., de Bauer, L.I., Galindo, J.A. 1993. Decline of sacred fir (*Abies religiosa*) in a forest park south of Mexico City. *Environmental Pollution* 80, 115-121.
4. Alvarado, A., Arey, J., Atkinson, R. 1998. Kinetics of the gas-phase reactions of OH, and NO₃ radicals and O₃ with monoterpene reaction products pinonaldehyde, caronaldehyde and sabinaketone. *J. Atmospheric Chemistry*, 31, 281-297.
5. Alvarado-Rosales, D., Hernández-Tejeda, T. 2002. Decline of Sacred Fir in the Desierto de los Leones National Park. In: *Urban air pollution and forests. Resources at risk in the Mexico City air basin. Ecological Studies*. Fenn, M.E., de Bauer L.I., Hernández-Tejeda T (Eds). Springer. U.S.A.
6. Alvarez, D., Laguna, G., Rosas, I. 1998. Macroscopic and microscopic symptoms in *Abies religiosa* exposed to ozone in a forest near Mexico City. *Environmental Pollution* 103, 251-259.
7. Apple, M., Tiekotter, K., Snow, M., Young, J., Soeldner, A., Phillips, D., Tingey, D., Bond, B.J. 2002. Needle anatomy changes with increasing tree age in Douglas-fir. *Tree Physiology* 22, 129-136.
8. Atkinson, R. 2000. Atmospheric chemistry of VOC's and NO_x. *Atmospheric Environment* 34, 2063-2101.
9. Benjamin, M. T., Sudol, M., Bloch, L., Winer, A.M. 1996. Low emitting urban forests: a taxonomic methodology for assining isoprene and monoterpene emission rates. *Atmospheric Environment* 30, 1437-1452.
10. Bouvier, F., d'Harlingue, A., Suire, C., Backhaus, R., Camara, B. 1998. Dedicated roles of plastids transketolases during early onset of isoprenoid biogenesis in pepper fruit. *Plant Physiology* 117, 1423 - 1431
11. Calogirou, A., Larse, B.R., Kotzias, D. 1999. Gas-phase terpene oxidation products: a review. *Atmospheric Environment* 33, 1423-1439.

12. Caléis, M., Wang, W., Ion, A.C., Kourtchev, I., Gelencser, A., Maenhaut, W. 2004. Formation of secondary organic aerosols from isoprene and its gas-phase oxidation products through reaction with hydrogen peroxide. *Atmospheric Pollution* 38, 4093-4098.
13. Carter, W.P.L. 1996. Condensed atmospheric photooxidation mechanisms for isoprene, *Atmospheric Environment*, 30 (24): 4275 – 4290.
14. Carter, W.P.L., Atkinson, R. 1996. Development and evaluation of detailed mechanism for atmospheric reactions of Isoprene and Nox. *Int. J. Chemical Kinetics*.
15. Chappell, J. Biochemistry and molecular biology of the isoprenoid biosynthetic pathway in plants. *Annu. Rev. 1995. Plant. Phys. Mol. Biol.* 46: 521 - 547.
16. Csiki, O., Seufert, G. 1999. Terpenoid emissions of mediterranean oaks and their relation to taxonomy. *Ecological Applications* 9, 1138-1146.
17. Dement, W., Tyson, B., Mooney, H. 1975. Mechanism of monoterpene volatilization in *Salvia mellifera*. *Phytochemistry*. 14: 2555 - 2557.
18. Ewers, F. W. 1982. Secondary growth in needle leaves of *Pinus longaeva* (Bristlecone pine) and other conifers: Quantitative data. *American Journal of Botany* 69, 1552-1559.
19. Fall, R., Wildermuth, M. 1998. Isoprene synthase: from biochemical mechanism to emission algorithm. *J. Geo. Res.* 103 (D19): 25,599 - 25,609.
20. Fangmeier, A., Bender, J., Weigel, H-J., Jäger, H.J. 2002. Effects of pollutant mixtures. J. Bell, Treshow, M (Eds). *Air pollution and plant life*. London, John Wiley & Sons.
21. Farmer, A. 2002. Effects of particulates. J. Bell, Treshow, M (Eds). *Air pollution and plant life*. London, John Wiley & Sons.
22. Fischbach, R. J., Zimmer, I., Steinbrecher, R., Pfichner, A., Schnitzler, J.P. 2000. Monoterpene synthase activities in leaves of *Picea abies* (L.) Karts. and *Quercus ilex* L. *Phytochemistry* 54, 257-265.
23. Fowler, D. 2002. Pollutant deposition and uptake by vegetation. J. Bell, Treshow, M (Eds). *Air pollution and plant life*. London, John Wiley & Sons.
24. García, E. 2004. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Copen. Instituto de Geografía, UNAM. Serie de Libros num. 6.

25. Geron, C., Harley, P., Guenther, A. 2001. Isoprene emission capacity for US tree species. *Atmospheric Environment* 35, 3341 - 3352.
26. Goldstein, A. H., Goulden, M.L., Munger, J.W., Wofsy, S.C., Geron, C.D. 1998. Seasonal course of isoprene emissions from midlatitude deciduous forest. *Journal of Geophysical Research* 103, 31,045 - 31,056.
27. Gray, J. 1987. Control of isoprenoid biosynthesis in higher plants. *Adv. Bot. Res.* 14: 25 - 80.
28. Guenther, A., Baugh, W., Davis, K., Hampton, G., Harley, P., Klinger, L., Vierling, L., Zimmerman, P., Allwine, E. Dilts, S., Lamb, B., Westberg, H., Baldocchi, D., Geron, C., Pierce, T. 1996. Isoprene fluxes measured by enclosure, relaxed eddy accumulation, surface layer gradient, mixed layer gradient and mixed layer mass balance techniques. *Journal of Geophysical Research* 101, 18,555 - 18,567.
29. Guenther, A.B., Hewitt, C.N., Erickson, D., Fall, R.R., Geron, C.D., Graedel, T., Harley, P.C., Klinger, L., Lerdau, M., Mckay, W.A., Pierce, T., Scholes, B., Steinbrecher, R., Tallamraju, R., Taylor, J., Zimmerman, P. 1995. A global model of natural volatile organic compound emissions. *Journal of Geophysical Research-Atmospheres* 100, D5, 8873-8892.
30. Guenther, A., Geron, C., Pierce, T., Lamb, B., Harley, P., Fall, R. 2000. Natural emissions of non-methane volatile organic compounds, carbon monoxide, and oxides of nitrogen from North America. *Atmospheric Environment* 34, 2205-2230.
31. Guenther, A., Greenberg, J., Harley, P., Helmig, D., Klinger, L., Vierling, L., Zimmerman, P., Geron, C. 1996. Leaf, branch, stand and landscape scale measurements of volatile organic compound fluxes from U.S. woodlands. *Tree Physiology* 16, 17-24.
32. Guenther, A. B., Zimmerman, P.R., Harley, P.C., Monson, R., Fall, R. 1993. Isoprene and monoterpene emission rate variability: model evaluations and sensitivity analyses. *Journal of Geophysical Research* 98, 12,609 - 12,617.
33. Harley, P.C., Litvak, M.E., Sharkey, T.D., Monson, R.K., 1999. Isoprene emission from velvet bean leaves-interactions among nitrogen availability, growth photon flux density, and leaf development. *Plant Physiology* 105 (1), 279-285.
34. Hoffmann, T., Odum, J.R., Bowman, F., Collins, D., Klowkow, D., Flagan, R.C., Seinfeld, J.H. 1997. Formation of organic aerosols from the oxidation of biogenic Hydrocarbons. *J. Atmos. Chem.* 26,189-222.
35. Karl, T., Rosenstiel, T.N. Prazeller, P., Larsen, B., Seufert, G., Lindinger, W. 2002. On-line analysis of the ¹³CO₂ labeling of leaf isoprene suggest

- multiple subcellular origins of isoprene precursors. *Planta*. 215, 894 - 905.
36. Karlik, J. F., Winer, A.M. 2001. Measured isoprene rates of plants in California Landscapes: comparison to estimates from taxonomic relationships. *Atmospheric Environment* 35.
 37. Kim, J.C. 2001. Factors controlling natural VOC emissions in a southeastern US pine forest. *Atmospheric Environment* 35, 3279 – 3292.
 38. Kesselmeir, J., Staudt, M. 1999. Biogenic volatile organic compounds (VOC): an overview on emission, physiology and ecology. *Journal of Atmospheric Chemistry* 33, 28-88.
 39. Kreuzwieser, J., Schnitzler, J.-P., Steinbrecher, R. 1999. Biosynthesis of organic compounds emitted by plants. *Plant Biology* 1, 149-159.
 40. Kuhn, U., Rottenberger, S., Biesenthal, T., Wolf, A., Schebeske, G., Cicciolo, P., Kesselmeier, J. 2004. Strong correlation between isoprene emission and gross photosynthetic capacity during leaf phenology of the tropical tree species *Hymenaea courvaril* with fundamental changes in volatile organic compounds emission composition during early leaf development. *Plant Cell and Environment*, 27, 12, 1469-1485.
 41. Komenda, M., Parusel, E., Wedel, A., and Koppmann, R. 2001. Measurements of biogenic VOC emissions: sampling, analysis and calibration. *Atmospheric Environment*, 35, 2069 – 2080.
 42. Langenheim, J. 1994. Higher plant terpenoids: a phytocentric overview of their ecological roles. *J. Chem. Ecol.* 20 (6), 1223 - 1280.
 43. Ler dau, M., Guenther, A., Monson, R. 1997. Plant production and emission of volatile organic compounds. *BioScience* 47, 373-383.
 44. Lewinsohn, E., Gijzan, M., Savage, T.J., Croteau, R. 1991. Defense mechanisms of conifers: Relationship of monoterpene cyclase activity to anatomical specialization and oleoresin monoterpene content. *Plant Physiology* 96, 38-43.
 45. Lewinsohn, E., Gijzan, M., T.J., Croteau, R. 1991. Differences in constitutive and wound-induced monoterpene biosynthesis among species. *Plant Physiology* 96, 44-49.
 46. Lichtenthaler, H., Schwender, J., Disch, A., Rohmer, M. 1997. Biosynthesis of isoprenoids in higher plant chloroplasts proceeds via mevalonate-independent pathway. *FEBS Letters*. 400, 271 – 274.
 47. Lichtenthaler, H.K. 2000. Sterols and Isoprenoids. *Biochemical Society*, 28 (6), 785 – 789.

48. Llusia, J., Peñuelas, J., Gimeno, B.S. 2002. Seasonal and species-specific response of VOC emissions by Mediterranean woody plant to elevated ozone concentrations. *Atmospheric Environment* 36, 3931-3938.
49. Legge, A.H., Krupa, S.V. 2002. Effects of sulphur dioxide. J. Bell, Treshow, M (Eds). *Air pollution and plant life*. London, John Wiley & Sons.
50. Lerda, M.T. 1991. Plant function and biogenic terpene emission. Sharkey, T.D., Holland, E.A., Mooney, H.A.(Eds). *Trace gas emissions by plants*. London. Academic Press.
51. Logan, B.A., Monson, R.K., 1999. Thermotolerance of leaf discs from four isoprene emitting species is not enhanced by exposure to exogenous isoprene. *Plant Physiology*. 120, 821-825.
52. Long, S.P. 2002. Effects of oxidants at the biochemical, cell and physiological levels, with particular reference to ozone. J. Bell, Treshow, M (Eds). *Air pollution and plant life*. London, John Wiley & Sons.
53. Lopez, L. M. A., Velázquez, J., González, A.V., Cetina, V.M. 1998. Estado nutricional de *Abies religiosa* en un área con problemas de contaminación ambiental. *Agrociencia*. 32, 53-59.
54. Loreto, F., Sharkey, T. 1993. On the relationship between isoprene emission and photosynthetic metabolites under different environmental conditions. *Planta*. 189: 420 - 424.
55. Loreto, F., Foster, A., Durr, M., Csiky, O., Seufert, G. 1998. On the monoterpene emission under heat stress and on the increase thermotolerance of leaves of *Quercus ilex* L. fumigated with selected monoterpenes. *Plant, Cell Env.* 21: 101 - 107.
56. Loreto, F., Fischbach, R., Schnitzler, J.P., Ciccioli, P., Brancaleoni, E., Calafapietra, C., Seufert G. 2001a. Monoterpene emission and monoterpene synthase activities in the Mediterranean evergreen oak *Quercus ilex* L. grown at elevated CO₂ concentrations. *Global Change Biology* 7, 709-717.
57. Loreto, F., Michela, M., Maris, C., Nascetti, P., Ferranti, F., Pasqualini, S. 2001b. Ozone Quenching Properties of isoprene and its antioxidant role in leaves. *Plant Physiology* 126, 993-1000.
58. Loreto, F. V., V. 2001c. Isoprene produced by leaves protects the photosynthetic apparatus against ozone damage, quenches ozone products, and reduces lipid peroxidation of cellular membranes. *Plant Physiology* 127, 1781-1787.
59. Martínez, M. 1957. *Las Pináceas Mexicanas*. Ediciones Botas. México.

60. Mansfield, T.A. 2002. Nitrogen oxides: old problems and new challenges. J. Bell, Treshow, M (Eds). Air pollution and plant life. London, John Wiley & Sons.
61. McGarvey, D. Croteau, R. 1995. Terpenoid metabolism. *Plant Cell*. 7, 1015 - 1026.
62. Miller, J.C., Miller, J.N. 1990. Estadística para química analítica. Addison-Wesley. Iberoamericana. México.
63. Miller, R.P., de Bauer, L.I., Hernández-Tejeda, T. 2002 Oxidant exposure and effects on pines in forests in the Mexico City and Los Angeles, California, air basin. In: Urban air pollution and forests. Resources at risk in the Mexico City air basin. Ecological Studies. Fenn, M.E., de Bauer L.I., Hernández-Tejeda T (Eds). Springer. U.S.A.
64. Monson, R.K., Harley, P.C., Litvak, M.E., Wildermuth, M., Guenther, A.B., Zimmerman, P.R., Fall, R. 1994. Environmental and developmental controls over the seasonal pattern of isoprene emission from aspen leaves. *Oecologia*. 99, 260-270.
65. Monson, R.K., Lerdau, M.L., Sharkey, T.D., Schimel, D.S., Fall, R. 1995. Biological aspects of constructing volatile organic compound emission inventories. *Atmospheric Environment*. 29, 2989-3002.
66. Núñez, L., Plaza, J., Pérez-Pastor, R., Pujadas, M., Gimeno, B.S., Bermejo, V., García-Alonso, S. 2002. High water pressure deficit influence on *Quercus ilex* and *Pinus pinea* field monoterpene emission in the central Iberian Peninsula (Spain). *Atmospheric Environment* 36, 4441-4452.
67. Osornio-Vargas, A., Bonner, J., Alfaro-Moreno, E., Martínez, L., García-Cuellas, C., Ponce de León, S., Rosas, I. 2003. Proinflammatory and cytotoxic effects of Mexico City air pollution particulate matter in Vitro are dependent on particule size and composition. *Environmental Health Perspectives* 111, 1289 - 1293.
68. Owen, S. M., Boissard, C., Hewitt, C.N. 2001. Volatile organic compounds (VOCs) emitted from 40 Mediterranean plant species: VOC speciation and extrapolation to habitat scale. *Atmospheric Environment* 35, 5393-5409.
69. Paulson, S. E., Flagan, R.C., Seinfeld, J.H. 1992a. Atmospheric photo oxidation of isoprene. Part I: The hydroxyl radical and ground state atomic oxygen reactions. *International Journal of Chemical Kinetics* 24, 79-101.

70. Paulson, S. E., Flagan, R.C., Seinfeld, J.H. 1992b. Atmospheric photooxidation of isoprene. Part II: The ozone-isoprene reaction. *International Journal of Chemical Kinetics* 24, 103-125.
71. Pedogaro, E., Rey, A., Greenberg, J., Harley, P., Grace, J., Malhi, Y., Guenther, A. 2004. Effect of drought on isoprene emission rates from leaves of *Quercus virginiana* Mill. *Atmospheric Environment* 38, 6149 – 6156.
72. Rohmer, M., Knani, M., Simonin, P., Sutter, B., Sahn, H. 1993. Isoprenoid biosynthesis in bacteria: a novel pathway for the easy steps leading to isopentenyl diphosphate. *Biochem J.* 295, 517 - 524.
73. Rosentiel, T.N., Postosnak, M.J. Griffin, K.L. Fall, R.m Monson, R.K. 2003. Increased CO₂ uncouples growth from isoprene emission in an agriforest ecosystem. *Nature* 421: 256 – 259.
74. Ruiz-Suarez, L. G., Hernández-Solis, J.M., Reyes-Villegas, F. (1999). Factores de emisión de hidrocarburos biogénicos de algunas coníferas empleadas en las campañas de reforestación en el Centro de México. México, Universidad Nacional Autónoma de México: 34.
75. Rzedowski, J. (1981). Vegetación de México. México, Limusa.
76. Schaab, G., Steinbrecher, R., Lacaza, B. 2003. Influence of seasonality, canopy light extinction, and terrain on potential isoprenoid emission from Mediterranean-type ecosystem in France. *Journal of Geophysical Research* 108, ACL8-1 - 8-14.
77. Schnitzler, J. P., Steinbrecher, R., Zimmer, I., Steigner, D., Fladung, M. 2004. Hybridization of European oaks (*Quercus ilex* x *Q. robur*) results in a mixed isoprenoid emitter type. *Plant, Cell and Environment* 27, 585-593.
78. Schonwitz, R., Kloos, M., Merl, L., Ziegler, H., 1990. Patterns of monoterpenes stored in the needles of *Picea abies* (L.) Karts. from several locations in mountainous regions of southern Germany. *Trees* 4, 27-33.
79. Sharkey, T., Yeh, S. 2001. Isoprene emission from plants. *Annu. Rev. Physiol. Plant Mol. Biol.* 52, 407 – 436.
80. Silver, G., Fall, R. 1991. Enzymatic synthesis of isoprene from dimethylallyl diphosphate in aspen leaf extracts. *Plant Phys.* 97, 1588 - 1591.
81. Singaas, E., Lerdau, M., Winter, K., Sharkey, T. 1997. Isoprene increases thermotolerance of isoprene- emitting species. *Plant Phys.* 115, 1413 - 1420

82. Simon, V., Luchetta, L., Torres, L. 2001. Estimating the emission of volatile organic compounds (VOC) from the French forest ecosystem. *Atmospheric Environment* 35, S115-S126.
83. Simpson, D., Winiwarter, W., Borjesson, G., Cinderby, S., Ferreiro, A., Guenther, A., Hewitt, N., Janson, R., Khalil, M.A.K., Owen, S., Pierce, T.E., Puxbaum, H., Shearer, M., Skiba, U., Steinbrecher, R., Tarrason, L., Oquist, M.G. 1999. Inventorying emissions from nature in Europe. *Journal of Geophysical Research* 104, 8113-8152.
84. Skelly, J. M., Savage, J.E., de Bauer, M.L., Alvarado, D. 1997. Observations of ozone-induced foliar injury on Black cherry (*Prunus serotina*, Var. *Capuli*) within the Desierto de los Leones National Park, Mexico City. *Environmental Pollution* 95, 155-158.
85. Staudt, M., Bertin, N., Hansen, U., Seufert, G., Ciccioli, P., Foster, P., Frenzel, B., Fugit, J.L. 1997. Seasonal and dournal patterns of monoterpene emissions from *Pinus pinea* (L.) under field conditions. *Atmospheric Environment* 31, 145-156.
86. Steinbrecher, R. 1997. Isoprene: production by plants and ecosystem-level estimates. G. Helas, Slanina, J., Steinbrecher, R. Biogenic volatile hydrocarbons compounds in the atmosphere. Amsterdam, SPF Academic Publishing. 101-104.
87. Steinbrecher, R., Ziegler, H. 1997. Monoterpenes production by trees. H. Rennenberg, Eschrich, W., Ziegler, H. Trees - Contribution to modern tree physiology. Leiden, Backhuys Publishers: 119-138.
88. Steinbrecher, R., Hauff, K., Hakola H., Rossler, J. 1999. A revised parameterisation for emission modelling of isoprenoids for boreal plants, in Biogenic VOC Emission and Photochemistry in the Boreal Regionas of Europe. L. V. Laurila Th., European Communities, 29-43.
89. Steinbrecher, R. 2002. Biogenic volatile organic compounds (BVOC) emission of european forests under future CO₂ levels: influence on compounds composition and source strength. Garmisch-Partenkirchen, Forschungszentrum Karlsruhe, Institut fur Meteorologie und Klimaforschung, 49.
90. Stevens, P., L`esperance, D., Choung, B., Martin, G. 1999. Measurements of the kinetics of the OH-initisted oxidation of isoprene: radical propagation in the OH + Isoprene + O₂ + NO reaction system. *International Journal of Chemical Kinetics* 31, 637-643.
91. Tingey, D. T., Manning, M., Grothaus, L.C., Burns, W.F. 1980. Influence of light and temperature on monoterpene emission rates from slash pine. *Plant Physiology* 65, 797-801.

92. Tingey, D.T., Turner, D.P., Weber, J.A. 1991. Factors controlling the emissions of monoterpenes and other volatile organic compounds. In: Trace gas emissions by plants. Sharkey, T.D., Holland, E.A., Mooney, H.A. Academic Press. London.
93. Tollsten, L., Müller, P.M. 1996. Volatile organic compounds emitted from beech leaves. *Phytochemistry* 43, 759-762.
94. Yokouchi, Y., Okaniwa, M., Ambe, Y., Fuwa, K. 1983. Seasonal variation of monoterpenes in the atmosphere of a pine forest. *Atmospheric Environment* 17, 743-750.