

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS GEOLOGÍA SISTEMÁTICA

POLEN COMO BIOINDICADOR DE CONTAMINACIÓN AMBIENTAL DEL MUNICIPIO DE TLALNEPANTLA DE BAZ, ESTADO DE MÉXICO Y SUS EFECTOS EN LA SALUD.

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

JOSÉ JUAN ALCIVAR SALDAÑA

TUTORA PRINCIPAL DE TESIS: DRA. MARÍA DEL CARMEN LETICIA

CALDERÓN EZQUERRO

CENTRO DE CIENCIAS DE LA ATMÓSFERA, UNAM

COMITÉ TUTOR: DRA. MARÍA AMPARO MARTÍNEZ ARROYO

CENTRO DE CIENCIAS DE LA ATMÓSFERA, UNAM

DRA. MARÍA SUSANA SOSA NÁJERA

INSTITUTO DE GEOLOGÍA, UNAM

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX. MARZO, 2018





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.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS GEOLOGÍA SISTEMÁTICA

POLEN COMO BIOINDICADOR DE CONTAMINACIÓN AMBIENTAL DEL MUNICIPIO DE TLALNEPANTLA DE BAZ, ESTADO DE MÉXICO Y SUS EFECTOS EN LA SALUD.

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

JOSÉ JUAN ALCIVAR SALDAÑA

TUTORA PRINCIPAL DE TESIS: DRA. MARÍA DEL CARMEN LETICIA

CALDERÓN EZQUERRO

CENTRO DE CIENCIAS DE LA ATMÓSFERA, UNAM

COMITÉ TUTOR: DRA. MARÍA AMPARO MARTÍNEZ ARROYO

CENTRO DE CIENCIAS DE LA ATMÓSFERA, UNAM

DRA. MARÍA SUSANA SOSA NÁJERA

INSTITUTO DE GEOLOGÍA, UNAM

MÉXICO, CD. MX. MARZO, 2018



Lic. Ivonne Ramirez Wence Directora General de Administración Escolar, UNAM Presente

Me permito informar a usted, que el Subcomité de Biologia Evolutiva y Sistemática del Posgrado en Ciencias Biológicas, en su sesión ordinaria del día 30 de octubre de 2017, aprobó el jurado para la presentación de su examen para obtener el grado de MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS del alumno ALCÍVAR SALDAÑA JOSÉ JUAN con número de cuenta 95131032 con la tesis titulada "POLEN COMO BIOINDICADOR DE CONTAMINACIÓN AMBIENTAL DEL MUNICIPIO DE TLALNEPANTLA DE BAZ, ESTADO DE MÉXICO Y SUS EFECTOS EN LA SALUD", realizada bajo la dirección de la DRA. MARÍA DEL CARMEN LETICIA CALDERÓN EZQUERRO:

Presidente: DRA SANDRA LUZ GÓMEZ ARROYO

Vocal: DR RODOLFO SOSA ECHEVERRÍA

Secretario: DRA MARÍA SUSANÁ SOSA NÁJERA

Suplente: DR. CÉSAR GUERRERO GUERRA

Suplente: DR. DANIEL IGNACIO PIÑERO DALMAU

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo

A T E N T A M E N T E
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cd. Universitaria, Cd. Mx., a 23 de febrero de 2018.

DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGUENZA COORDINADOR DEL PROGRAMA



Unidad de Posgrado - Coordinación del Posgrado en Ciencias Biológicas Edificio D, Ier. Piso, Circuito de Posgrados Cd. Universitaria
Delegación Coyoacan C.P. 04510 México, D.F. Tel. 5623 7002 http://pcbiol.posgrado.unam.mx

Agradecimientos institucionales

Al posgrado de ciencias biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México por la oportunidad que me ha brindado de continuar mis estudios y formar parte fundamental de mi formación académica y superación personal.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo brindado mediante una beca de estudios de posgrado (CVU 631329), al fondo Sectorial de Investigación Ambiental SERMARNAT-CONACIT por el apoyo concedido bajo la clave SERMARNAT -2015-1-262680; así también a la Secretaría de Ciencia Tecnología e Innovación de la Ciudad de México por los apoyos brindados con las claves SECITI-PICS012-100 y SECITI-050-2016 ya que gracias a su intervención se alcanzó este logro, así como al Centro de Ciencias de la Atmósfera por brindarme la oportunidad de llevar a cabo este proyecto y finalizarlo por mediante una beca de apoyo económico para concluir mis estudios.

A mi tutora M. del Carmen Leticia calderón por darme esta oportunidad, por ser la guía y apoyo que fueron esenciales en la elaboración de esta tesis, agradeciendo especialmente por todos los consejos, horas de trabajo y todas aquellas experiencias compartidas. Agradezco además a los miembros del Comité Totoral Dra. M. Amparo Martínez Arroyo y la Dra. M. Susana Sosa Nájera por su valiosa asesoría consejos y apoyo durante la realización de este trabajo.

Agradecimientos a título personal

A la Red mexicana de aerobiología por darme la oportunidad de continuar mis estudios ofreciéndome la visión de un mundo hasta este momento desconocido para mí.

Al Dr. Cesar Guerrero Guerra por todo el apoyo, interés, horas de trabajo, comprensión y sobre todo a su calidad como ser humano al ofrecerme todo lo que estuvo a su alcance para llevar a término este proyecto.

A la Bióloga. Ivon Santiago, porque sin su conocimiento, consejos, prácticas y enseñanzas reconocer este gran universo que es la aerobiología hubiera sido una tarea ardua y cansada y que sin embargo por su paciencia y dedicación fue un camino sencillo y fácil de recorrer lleno de grandes experiencias.

A la M en C. M. Berenit Mendoza Garfias del instituto de biología de la UNAM, por todo su apoyo brindado en el análisis de muestras al microscopio electrónico, que, gracias a su ayuda, experiencia y dedicación, obtuve estas impresionantes imágenes.

A mi muy estimada y querida secretaria de Posgrado de Ciencias Biológicas María Rodríguez Jiménez por todo su apoyo y dedicación al llevarme paso a paso por todo este trayecto permitiéndome llegar a la culminación de este trabajo.

A mi querida amiga la bióloga Sandra Belem Ramírez Valdés por todo ese apoyo desmedido, confianza, consejos y toda su calidad de ser humano que me brindo durante la realización de este trabajo, porque sin ti, el esfuerzo hubiera sido doble y no hubiera tenido tan bella y agradable amistad y compañía.

A mis amigos el LAE. Sergio Ortega Albarrán y Lic. Griselda Maribel García Barajas por todo su apoyo desmedido, aventuras y confianza que me permitieron llegar a la culminación de este proyecto, así como mi amiga en este mundo y en el plano astral cazadora de unicornios Nicte-Ha Palomino García por todo lo que eres y como eres.

Y por último y no menos importante a mi muy amado compañero de vida el Psicólogo Víctor Sánchez Juárez quien nunca ha dudado ni un solo día en mis capacidades, quien me ha brindado todo su apoyo incondicional y que ha estado presente en todas las formas posibles en este trabajo, de tal forma que si la tesis anterior te convirtió en cuasibiólogo hoy por hoy te conviertes conmigo en cuasimaestro en ciencias, gracias por todo.

Índ	lice	1
Res	sumen	1
1.	Introducción	4
2.	Marco teórico	8
2	2.1. Atmósfera	9
2	2.2. Partículas en la atmósfera	12
2	2.3. Análisis de microscopia electrónica	13
	2.3.1 Partículas de origen antropogénico	
	2.3.2. Partículas de origen natural	
	2.3.3. Partículas de origen biológico	14
2	2.4. Análisis de X-EDS	15
2	2.5. Contaminación atmosférica	16
	2.5.1. Fuentes de contaminación de aire	16
	2.5.2. Tipos de contaminantes	16
	2.5.2.1 Gases	16
	2.5.2.2 Aerosoles	16
	2.5.2.3. Aeroalérgenos	17
2	2.6. Aerobiología	17
	2.6.1. Proceso aerobiológico	
	2.6.1.1. Origen	
	2.6.1.2. Liberación	
	2.6.1.3. Dispersión	
	2.6.1.4. Depositación	
	2.6.1.5. Impacto	
	2.6.2 Aeropalinología	
	2.6.3. Tipos de muestreadores	
2	2.7. Polen	22
	2.7.1 Estructura del grano de polen	
	2.7.1.1. Estratificación del grano de polen	
	2.7.1.1.1 Paredes	
	2.7.1.1.2 Capas	24
	2.7.1.1.3 Estratos	
	2.7.2 Aperturas	25
	2.7.3. Polinosis	27
	2.7.3.1 Reacción alérgica	28
2	2.8. Viabilidad del grano de polen	29
2	2.9 Sistemática	30
2	2.10. Bioindicadores	31

3.	Antecedentes	. 34
	3.1 Aerobiología en México	. 35
	3.2. Relación de contaminantes y granos de pólenes	. 38
	3.3. Bioindicadores de la calidad del aire	. 39
4.	Justificación	. 41
5.	Hipótesis	. 41
	Objetivo	
	1. Importancia del proyecto y Justificación	
4.		
	5.1. Hipótesis	
	6.1. Objetivo	
	6.1.1. Objetivos particulares	
7.	Área de estudio	. 44
	7.1. Área de estudio	
	7.1.1. Orografía	
	7.1.2. Vegetación	
	7.1.3. Hidrografía	
	7.1.4. Estación de muestreo	
	7.1.5. Datos climáticos y de contaminantes atmosféricos	
	7.1.5.1 Clima	
	7.1.5.2 Precipitación	47
8.	Método	. 48
	8.1. Monitoreo aerobiológico	. 49
	8.1.1. Preparación de las laminillas	50
	8.1.2. Análisis cuantitativo y cualitativo por microscopia óptica	50
	8.2. Factores Meteorológicos	. 52
	8.3. Obtención de polen	. 52
	8.3.1. Muestreo de polen de anteras y estróbilos	54
	8.3.2. Muestreo de polvo del aire con Jet sampler	56
	8.4. Microscopia Electrónica de Barrido (MEB) y análisis X-EDS	. 56
	8.5. Análisis de Viabilidad	. 57
	8.5.1. Montaje de las muestras	59
	8.5.2. Análisis de las muestras de viabilidad	59
	8.5.2.1. Escala de tinción en Angiospermas	60
	8.5.2.2 Escala de tinción en Gimnospermas	
	8.5.3. Análisis y porcentaje de viabilidad	61
	8.6. Germinación	. 61

9. Resultados	62
9.1 Monitoreo aerobiológico	64
9.2. Variación estacional	68
9.2.1 Variación estacional de pólenes totales	68
9.2.2. Variación estacional por periodo anual de los principales grupos (árboles y herbáceas)	
9.2.3. Variación estacional de los principales tipos polínicos <i>Fraxinus, Cupressus y Pinus</i>	
9.2.3.1. Variación estacional del tipo polínico Fraxinus	70
9.2.3.2. Variación estacional periodo del tipo polínico Cupressaceae	70
9.2.3.3. Variación estacional del tipo polínico Pinus	71
9.3. Variación intradiaria	71
9.3.1 Variación intradiaria del tipo polínico Fraxinus	71
9.3.2. Variación intradiaria del tipo polínico Cupressaceae	
9.3.3. Variación intradiaria del tipo polínico Pinus	74
9.4. Factores meteorológicos	75
9.4.1. Precipitación Pluvial (pp)	75
9.4.2. Humedad relativa.	75
9.4.3. Temperatura	75
9.4.4. Vientos	77
9.5. Contaminantes atmosféricos	78
9.5.2. Monóxido de Nitrógeno (NO)	81
9.5.3. Dióxido de Nitrógeno (NO ₂)	82
9.5.4. Ozono (O₃)	83
9.5.5. Dióxido de Azufre (SO ₂)	84
9.5.6. Partículas menores de 10 μ m (PM $_{10}$)	85
9.6. Descripción de los principales tipos polínicos	87
9.6.1. Fraxinus uhdei	87
9.6.1.1. Identificación	87
9.6.1.2. Descripción morfológica de la especie Fraxinus uhdei (Wenz.) Lingelsheim	89
9.6.1.3. Requerimientos ecológicos	91
9.6.1.4. Morfología polínica Fraxinus uhdei (Wenz.) Lingelsh	92
9.6.1.5. Alergenicidad	
9.6.2. Cupressus lusitanica Mill	94
9.6.2.1 Identificación	
9.6.2.2. Descripción morfológica de la especie Cupressus lusitanica Mill	96
9.6.2.3. Requerimientos ecológicos	
9.6.2.4. Morfología polínica de la Familia Cupressaceae	
9.6.2.5. Alergenicidad	
9.6.3. Pinus. pseudostrobus Lindl	
9.6.3.1 Identificación	
9.6.3.2. Descripción morfológica de la especie Pinus pseudostrobus lindl	
9.6.3.3. Requerimientos ecológicos	
9.6.3.4. Morfología polínica del género Pinus	
9.6.3.5. Alergenicidad	109

9.7. Viabilidad de los tipos polínicos Fraxinus, Cupressus lusitanica y Pinus	110
9.7.1 Viabilidad <i>Fraxinus uhdei</i>	110
9.7.1.1. Análisis estadístico	110
9.7.2. Viabilidad de <i>Cupressus lusitanica</i>	111
9.7.3. Viabilidad de tipo Pinus	112
9.7.3.1. Análisis estadístico	113
9.8. Germinación	114
9.8.1 Germinación de <i>Fraxinus uhdei</i>	114
9.8.1.1. Análisis estadístico	114
9.8.2. Germinación de <i>Cupressaceae</i>	115
9.8.2.1 Análisis estadístico	
9.8.3. Germinación del tipo Pinus	
9.8.2.1 Análisis estadístico	117
9.9. Análisis MEB y X-EDS	118
9.9.1. Microscopia electrónica de barrido.	118
9.9.2.1. Composición de los granos de polen de polen colectados de las anteras	140
9.9.2.2. Composición de los granos de polen colectados del aire	140
9.9.2.3. Composición de partículas sobre granos de polen	141
9.9.2.4. Composición de conglomerados	
9.9.2.6.2. Composición de conglomerados, como principal componente Si	142
10. Discusión	143
10.1. Discusión	144
10.2. Relación con la vegetación	145
10.3. Variación estacional	145
10.4. Variación intradiaria	146
10.5. Relación con los parámetros meteorológicos	147
10.6. Relación con contaminantes	148
10.7. Viabilidad	150
10.8. Germinación	151
10.5. Microscopia electrónica	152
10.6. Análisis por Espectrometría de Dispersión de Energía de rayos X, X-EDS	153
10.7. Efectos en la salud.	156
11. Conclusiones	157
11.1. Conclusiones	158
11.2 Recomendaciones	159
12. Bibliografía	

12. Bibliografía 1	61
. Anexos	<i>75</i>
Anexo 1: Proceso para el cálculo del factor de corrección. (Fuentes 2012, Olive 2012) 1	76
Anexo 2: Calculo de Índice Polínico Anual (IPA)1	76
Anexo 3: Delimitación del periodo principal de polinización	
Anexo 4: Variación intradiaria1	78
Anexo 5: Cálculo del Índice de Distribución Intradiaria (IDI)1	78
Anexo 6: Registro de identificación de especies1	78

Resumen

Los problemas de contaminación atmosférica ocasionan diversos efectos en la salud de la población, debido a la inhalación de gases y partículas que promueven enfermedades. Las partículas presentes en la atmósfera pueden ser de origen antropogénico (Producto de la combustión de hidrocarburos) o natural (producto de la erosión y procesos biológicos) en las que se incluyen: fragmentos de animales (por ejemplo insectos), bacterias, hongos, virus y granos de polen, siendo éstos últimos uno de los más estudiados por la aerobiología, la cual ha desarrollado un área especializada conocida como aeropalinología que se encarga del estudio de los granos de polen aerotransportados.

La aeropalinología, entre otros aspectos, estudia las concentraciones, dispersión y tipos polínicos presentes en la atmósfera, en especial de tipos polínicos que se han reportado como alergénicos, los cuales causan en determinadas temporadas brotes de fiebre del heno (Polinosis), es decir, la alergia al polen que es provocada por los alérgenos presentes en el polen, la cual afecta a más del 20% de la población y está aumentando con los años. También se ha reportado que factores externos, como la contaminación, pueden alterar los granos de polen, potenciar sus propiedades alergénicas y se ha sugerido que pueden ser utilizados como bioindicadores de contaminación ambiental. Debido a esto, diversas instancias se han dado a la tarea de crear redes de monitoreo que lleven a cabo la vigilancia de los parámetros polínicos en el aire y un ejemplo de ellas es la Red Mexicana de Aerobiología que se encarga de analizar las condiciones aeropolínicas en la Ciudad de México, pero aún existen regiones no estudiadas de gran interés como la zona conurbada al norte de la Ciudad de México y además aún no se ha establecido la utilidad de los granos de polen como bioindicadores de contaminación ambiental en México.

Por ello, en el presente estudio se llevó a cabo el monitoreo continuo de aire de la atmósfera del municipio de Tlalnepantla de Baz Estado de México, debido a que en esta zona se tienen altos niveles de contaminación atmosférica, y además convergen tanto zonas industriales como habitacionales.

Se realizó un monitoreo de 2 años (2014-2016) en que se determinaron los tipos polínicos presentes en el aire, así como sus concentraciones y se correlacionaron con parámetros climáticos y concentraciones de contaminantes principales CO₂, NO, NO₂, O₃, SO₂ y PM₁₀. También se hicieron pruebas de viabilidad de granos de polen colectados de zonas con contaminación diferente y se hizo un análisis mediante microscopia electrónica de barrido para determinar la presencia de alteraciones morfológicas, así como la composición química de las partículas

adheridas mediante la técnica de espectrometría por dispersión de energías de rayos X (X-EDS).

Los resultados mostraron que el principal tipo polínico presente en la atmósfera del municipio de Tlalnepantla de Baz fue *Fraxinus uhdei*, representando el 41.7 % del total del Índice Polínico Anual (IPA) del periodo de monitoreo, seguido de la familia **Cupressaceae** que representó el 24.2 % de IPA para el mismo periodo. Ambos tipos polínicos se han reportado como altamente alergénicos, por lo que representan un riesgo para la población. Además, estos tipos polínicos al ser analizados al microscopio electrónico mostraron la adherencia de diversas partículas de composición química variada y alteraciones morfológicas que podrían estar incrementado su potencial alergénico.

En cuanto a las pruebas de viabilidad, se determinó que el polen de *Fraxinus uhdei* fue más sensible a ambientes contaminados, ya que su viabilidad descendió en zonas con contaminación elevada respecto a las otras zonas con contaminación menor. Los otros 2 tipos analizados, *Cupressaceae* y *Pinus*, también presentaron disminuciones en su viabilidad, pero en menor grado.

Por lo anterior, se considera que el grano de polen de *Fraxinus uhdei* puede ser utilizado como buen indicador de contaminación atmosférica.

Abstract.

The problems of air pollution cause various effects on the health of the population, due to the inhalation of gases and particles that promote diseases. The particles present in the atmosphere can be of anthropogenic origin (Product of the combustion of hydrocarbons) or natural (product of erosion and biological processes) in which are included: fragments of animals (for example insects), bacteria, fungi, viruses and pollen grains, the latter being one of the most studied by aerobiology, which has developed a specialized area known as aeropalinology that is responsible for the study of airborne pollen grains.

Aeropalinology, among other aspects, studies the concentrations, dispersion and pollen types present in the atmosphere, especially of pollen types that have been reported as allergens, which cause in certain seasons outbreaks of hay fever (Pollinosis), that is, the allergy to pollen that is caused by the allergens present in pollen, which affects more than 20% of the population and is increasing over the years. It has also been reported that external factors, such as pollution, can alter pollen grains, enhance their allergenic properties and it has been suggested that they can be used as bioindicators of environmental contamination. Due to this, several instances have been given the task of creating monitoring networks that carry out the monitoring of the pollen parameters in the air and an example of them is the Mexican Network of Aerobiology that is in charge of analyzing the aeropolic conditions in Mexico City, but there are still unexamined regions of great interest such as the metropolitan area north of Mexico City, and the usefulness of pollen grains as bioindicators of environmental pollution in Mexico has not yet been established.

Therefore, in the present study continuous air monitoring of the atmosphere of the municipality of Tlalnepantla de Baz State of Mexico was carried out, because in this zone there are high levels of air pollution, and converge both industrial zones and housing.

A 2-year monitoring was carried out (2014-2016) in which the pollen types present in the air were determined, as well as their concentrations and correlated with climatic parameters and concentrations of main pollutants CO₂, NO, NO₂, O₃, SO₂ and PM₁₀. Feasibility tests were also carried out on pollen grains collected from areas with different contamination and an analysis was carried out by scanning electron microscopy to determine the presence of morphological alterations, as well as the chemical composition of the particles adhered by the dispersion spectrometry technique. of X-ray energies (X-EDS).

The results showed that the main pollen type present in the atmosphere of the municipality of Tlalnepantla de Baz was Fraxinus uhdei, representing 41.7% of the total Annual Pollen Index (IPA) of the monitoring period, followed by the Cupressaceae family, which represented 24.2% of IPA for the same period. Both pollen types have been reported as highly allergenic, so they represent a risk to the population. In addition, these pollen types when analyzed by electron microscopy showed the adherence of various particles of varying

chemical composition and morphological alterations that could increase their allergenic potential.

As for the feasibility tests, it was determined that the pollen of Fraxinus uhdei was more sensitive to contaminated environments since its viability decreased in areas with high contamination with respect to the other zones with minor contamination. The other 2 analyzed types, Cupressaceae and Pinus, also showed decreases in their viability, but to a lesser degree.

Therefore, it is considered that the pollen grain of Fraxinus uhdei can be used as a good indicator of air pollution.

Introducción

La contaminación atmosférica es uno de los problemas que afectan a ciudades de países en vías de desarrollo como lo es la Ciudad de México (CDMX), donde el crecimiento demográfico demanda el uso de un gran parque vehicular, que aunado a las grandes zonas industriales ubicadas regularmente al noroeste de la CDMX, promueven la emisión de una gran cantidad de contaminantes en forma de gases y partículas, que por medio de la acción de los vientos son dispersadas a través de la atmósfera hacia distintas delegaciones de la CDMX, así como municipios del Estado de México e Hidalgo, siendo ésta una de las razones que ha llevado a acuñar el término de Zona Metropolitana del Valle de México (ZMVM), que integra tanto la CDMX, así como 60 municipios del Estado de México y un municipio del estado de Hidalgo. A su vez esta zona es una de las aglomeraciones urbanas más pobladas del mundo, donde frecuentemente se sobrepasan los límites de calidad del aire establecidos en la normatividad ambiental vigente NOM-020, 021, 022, 023 y 025 (González *et al.*, 1999; Miguel *et al.*, 2013).

El monitoreo de la calidad del aire en la ZMVM es llevado a cabo por parte del Sistema de Monitoreo Atmosférico de la Ciudad de México (SIMAT-CDMX), instancia que monitorea las concentraciones de diversos contaminantes presentes en la atmósfera, entre los que se encuentran partículas de diversos tamaños como PM_{2.5} y PM₁₀; tales partículas al estar suspendidas en la atmósfera reciben el nombre de aerosoles, los cuales son un coloide de partículas tanto solidas como liquidas que se encuentran suspendidas en un determinad o gas, estos a su vez pueden ser tanto antropogénico como de origen natural, siendo este último el que presenta mayores concentraciones, llegando a alcanzar hasta un 90% del total en la atmósfera, porcentaje que incluye partículas con actividad biológica como son esporas de hongos, bacterias, virus y granos de polen, entre otras (Salazar *et al.*, 2009).

En la actualidad el estudio de las partículas suspendidas ha cobrado especial interés, debido a que el análisis tanto de las partículas de origen natural como antropogénico, ha mostrado diversos tipos de afecciones en la salud de la población, esto debido a que dichas partículas en su travesía por la atmósfera están en contacto unas con otras, tendiendo a la formación de partículas mayores que conforman aglomerados y conglomerados, los cuales incorporan distintos elementos en los que se incluyen agregados de partículas del mismo origen o diferente, convirtiendo éstas estructuras en un factor de riesgo, ya que al ser inaladas se incrementa la posibilidad de presentar diversos padecimientos que afectan la salud de la población (Amador *et al.*, 2011).

De los dos tipos de partículas suspendidas (natural y antropogénica), las de origen natural en especial las que presentan actividad biológica como hongos, bacterias, virus y granos de polen, son estudiadas y analizadas por la aerobiología, ciencia interdisciplinaria que conjunta el conocimiento de varias disciplinas para el estudio y monitoreo de éstas partículas, mostrando un gran interés en aerosoles como los granos de polen de tipo anemófilo, debido a la gran diversidad de tipos polínicos con distintos niveles de alergenicidad, que promueven

diversas afecciones en la salud de la población expuesta, por lo que el monitoreo de éstos es muy importante para alertar a la población sobre los niveles de concentración de los diferentes tipos polínicos presentes en la zona (Bravo y Torres, 2002; López *et al.*, 2009; Terán *et al.*, 2009; Calderón *et al.*, 2016).

La principal actividad biológica de los granos de polen (gameto masculino de las plantas superiores) es el de transportar material genético de la parte masculina de la flor (estambres) a la parte femenina (gineceo) valiéndose de distintos modos de transporte, siendo los principales entomófilo y anemófilo, que han intervenido para definir diferentes tipos de ornamentación, así como estructuras que aligeran o empaquetan los granos de polen y permiten he identificación de los diversos tipos polínicos en especial de aquellos que son transportados por el viento, los cuales pueden llegar a presentar altas concentraciones en la atmosfera (Pla-Dalmau, 1961; Thérese *et al.*, 1991; Lijteroff *et al.*, 2009).

En general los granos de polen se estructuran en capas que le confieren resistencia a las condiciones adversas en las que se encontrará en su recorrido hacia el gineceo de la flor, de tal forma que la capa más externa de dicha estructura llamada exina es muy resistente, debido a que está constituida principalmente de esporopolenina, uno de los materiales más resistentes en el reino vegetal, por lo cual el grano de polen queda protegido mecánicamente de la mayoría de los agentes externos que pudieran comprometer la carga genética, sin embargo la constitución proteica de diversas partes del grano de polen, tanto al interior como al exterior del mismo puede llegar a conferirle características alergénicas causando polinosis, rinitis alérgica, conjuntivitis o asma, perjudicando considerablemente la salud de individuos ya sensibles y expuestos a dichos alérgenos (Thérese *et al.*, 1991; Lijteroff *et al.*, 2009).

Este tipo de aerosoles al ser transportados por el viento contribuyen al aumento de afecciones respiratorias y alérgicas en la población, ya que por medio de las corrientes convectivas tanto verticales como horizontales, dispersan diferentes tipos polínicos desde su fuente hasta grandes distancias, sin embargo dependiendo el grado de contaminación de la atmósfera se puede activar o exacerbar el potencial alergénico de los granos de polen, debido a la adherencia de material particulado, el cual modifica su morfología y composición química, promoviendo reacciones adversas en las vías respiratorias al ser inhalados, al mismo tiempo éstos cambios disminuyen e imposibilitan el reconocimiento del grano de polen por parte del estigma del gineceo de la flor, observándose de igual forma una reducción en el porcentaje de viabilidad, reflejándose en un menor potencial de germinación de granos de polen (Knox *et al.*, 1997; Bravo y Torres 2002; Chehregani *et al.*, 2004; Guidos y Almeida, 2005; López *et al.*,2009; Calderón *et al.*, 2016).

Debido a las afecciones en los granos de polen provocadas por la adherencia de partículas de diferentes composiciones, que comprometen su integridad, se ha considerado su uso

como bioindicadores de contaminación ambiental, ya que podrían estimar la calidad del aire, al evaluar la adaptación o acumulación de contaminantes atmosféricos, por lo que los granos de polen se presentan como una opción económica para la estimación de la calidad del aire (Thérese *et al.*, 1991; Gottardini *et al.*, 2004; Lijteroff *et al.*, 2009; Duro *et al.*, 2013).

Debido a todas éstas características que alteran el grano de polen, que promueven afecciones en la salud de la población expuesta a ésta clase de aeroalérgenos, se hace indispensable identificar los principales tipos polínicos responsables de causar reacciones alérgicas o enfermedades respiratorias en la población, siendo necesario determinar mediante el monitoreo aeropalinológico continuo de una localidad o región geográfica sus concentraciones en la atmósfera, así como su variación estacional e intradiaria, lo que resultaría en información con la que se alertaría a la población sobre el riesgo de exponerse a las concentraciones de este tipo de alérgenos (Gottardini *et al.*, 2004; Lijteroff *et al.*, 2009; Duro *et al.*, 2013; Calderón *et al.*, 2016).

Por lo anterior, a partir de 2008 la Red Mexicana de Aerobiología (REMA), inició de manera continua este tipo de estudios en la CDMX, para posteriormente incrementar su área de monitoreo al área metropolitana, con la finalidad de obtener los primeros calendarios aeropalinológicos de la CDMX (Fuentes, 2012; Robledo, 2013; Calderón et al., 2016). Actualmente la REMA ha considerado ampliar su área de monitoreo al noroeste de la ZMVM, debido a las características ambientales (gases y partículas inorgánicas y orgánicas) así como por los altos índices de contaminación atmosférica que se registran hacia esta parte de la ZMVM. Por lo que se opta en este estudio evaluar la calidad del aire del municipio de Tlalnepantla de Baz, Estado de México, ya que es un municipio que representa fiablemente ésta problemática, lo que lo convierte en una zona de alto riesgo para la salud de la población, debido a que al interior del municipio convergen tanto zonas industriales como habitacionales con una marcada ausencia de áreas verdes, por lo que este estudio tendría la finalidad de monitorear de forma continua el aire del municipio, para así, determinar los tipos polínicos (alergénicos y no alergénicos) presentes en el área, los que además podrían ser considerados como bioindicadores de contaminación atmosférica; de tal forma que una vez recabada toda ésta información y apoyados en la variación estacional e intradiaria de los tipos polínicos (alergénicos y no alergénicos) se pueda ofrecer alertas a la población sobre los riesgos a su exposición.

2.1. Atmósfera

La atmósfera es la envoltura gaseosa que cubre el planeta, la cual tuvo sus orígenes en la formación de éste, hace 4600 millones de años, pasando por una atmósfera reductora, constituida de gases nobles, a una atmósfera oxidante compuesta principalmente por nitrógeno y oxígeno, dispuestos en una mezcla de gases como se observa en la **figura 1**. Dicha mezcla se divide en tres tipos de gases como lo expone Ortega (2009):

• Gases permanentes. Conforman el 99% del volumen total de la atmósfera y se encuentran integrados por el 78% de nitrógeno, 20.9% de oxígeno y 0.9% de gases nobles.

El restante 1% se encuentra conformado por:

- Gases variables. Conformados en su mayor parte por vapor de agua (H₂O), dióxido de carbono (CO₂) y ozono (O₃), así como gases traza como NO₂, NO_x, CH₄, etc.
- Constituyentes no gaseosos: Formados por los aerosoles como son cenizas volcánicas, polvo, partículas biológicas, sales, etc., los cuales funcionan como filtros de radiación solar, que por absorción impiden el arribo de éstas a la superficie terrestre.

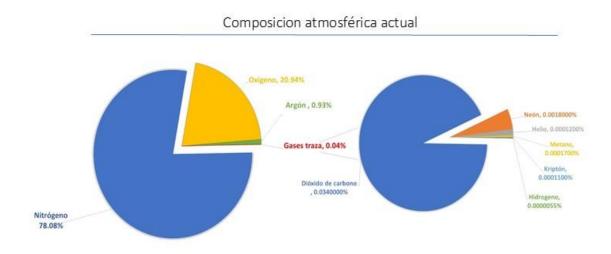


Figura 1. Composición atmosférica actual: (A) gases principales, (B) gases traza (modificado de Ortega, 2009).

A su vez Ortega (2009) describe que la atmósfera se divide en dos capas, como se puede observar en la **Figura 2**, donde cada una se caracteriza de la siguiente manera:

• Homosfera. Es la capa inferior más cercana a la litosfera, con una extensión aproximada de 80 km de altura, en ésta se encuentran en forma constante la mayoría de los gases constituyentes, a su vez en ella, se llevan a cabo todos los fenómenos meteorológicos, debido a la acción de mezclas conectivas y turbulencia.

- Heterosfera. Es una capa que va de los 80 km hasta el límite superior de la atmósfera, alcanzando 10,000 km de altura, la cual presenta diferentes elementos, estratificándose de la siguiente manera.
 - o 80-400 km capa de nitrógeno molecular
 - o 400-1,100 km capa de oxígeno atómico
 - o 1,100-3,500 km capa de helio
 - o 3,500-10,000 km capa de hidrógeno

A su vez la estructura de la atmósfera con base en el gradiente de temperatura y presión se divide en varias capas (**Figura 2**), las cuales se diferencian por variaciones con respecto a la altura, composición química y dinámica diferente, identificándose cinco capas.

Estratificación de la atmósfera

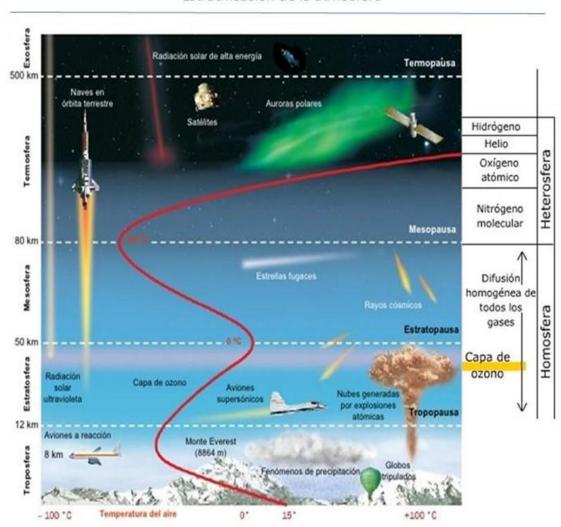


Figura 2. Caracterización de las diferentes capas de la atmósfera, mostrando el gradiente de temperatura y las distintas zonas de transición. (modificado de García, 2016).

- Troposfera. Es la capa más delgada y densa, con un espesor que van de los 6 km en las zonas polares, y de 18 20 km en las zonas tropicales. Ésta capa contiene la mayoría de los gases de la atmósfera concentrándose en los primeros 500 m iniciales, a lo que se conoce como capa sucia, debido a que en ella se concentra el polvo en suspensión; dentro de ésta capa se llevan a cabo importantes flujos convectivos de aire verticales y horizontales, producidos por la diferencia de presión y temperatura que dan lugar a los fenómenos meteorológicos. La temperatura máxima de ésta capa se encuentra en la parte inferior alcanzando los 15 °C y teniendo un descenso de 6.5 °C por cada kilómetro que se asciende, hasta llegar a los -70 °C en su límite superior, llamado tropopausa.
- Estratosfera. Se extiende desde la tropopausa que va desde 6 − 20 km hasta los 50 km de altura; la temperatura asciende desde los -70 km hasta alcanzar 0 °C. Ésta capa se caracteriza porque en ella se lleva a cabo la formación del ozono atmosférico, debido a la transformación del oxígeno (O₂) en ozono (O₃), por acción de los rayos ultravioleta, el cual se concentra entre los 15 y 40 km de altura, conformando lo que se conoce como ozonosfera, lugar que funciona como filtro al absorber hasta el 99% de la radiación ultravioleta de alta frecuencia.
- Mesosfera. Capa que contiene el 0.01% del total del volumen de aire de la atmósfera, extendiéndose de lo 50-80 km de altura, presentando un descenso en la temperatura hasta alcanzar los -140 °C en su límite superior llamado mesopausa.
- Termosfera o ionosfera. Se localiza de los 80-800 km, presentando su límite superior entre los 600-800 km, conociéndose como termosfera debido a que presenta altas temperaturas que van de los 1000-1500 °C, esto debido a la ionización de las moléculas de gases presentes, que absorben la radiación solar de alta energía como rayos gamma, rayos X y parte de la radiación ultravioleta. Éstas reacciones provocan campos eléctricos, debido al desprendimiento de electrones de átomos de nitrógeno y oxígeno, quedando ionizados con carga positiva, reaccionando con las partículas subatómicas procedentes del sol, dando lugar a auroras polares, que tienen lugar cerca de los polos magnéticos.
- Exosfera. Es la capa más externa que va de los 500-10,000 km de altura. Presenta una baja densidad parecida a la del espacio, por lo cual se hace imposible medir la temperatura, además no presenta materia que pueda absorber la radiación solar; es una capa donde el campo magnético de la tierra tiene mayor presencia que el campo gravitatorio.

Cada capa se encuentra limitada por pausas o zonas de transición, de las que se pueden identificar cuatro (**Figura 2**).

- Tropopausa. Límite de la troposfera, que presenta una temperatura constante, que impide la convección del aire y retiene los elementos del clima a la troposfera.
- Estratopausa. Se encuentra en la parte superior de la estratosfera que mantiene una temperatura de 0 °C.
- **Mesopausa:** Es el límite superior de la mesosfera, la cual presenta temperaturas de 80 °C.
- **Termopausa.** Límite entre la termosfera y la exosfera encontrándose en una región donde las temperaturas se incrementan por los procesos de ionización.

Toda ésta estructura que conforma la atmósfera es de importancia para la vida que alberga el planeta, ya que ésta retiene el aire que se respira, además mantiene la temperatura reteniendo la energía calórica del sol y a su vez funciona como un filtro, al no permitir el paso de la mayor parte de radiación de alta energía, que de entrar, evitaría el desarrollo de la vida y por último funciona como un escudo, al desintegrar en sus capas más altas material procedente del espacio (Ortega, 2009).

2.2. Partículas en la atmósfera

En la atmósfera las partículas proviene de diversas fuentes, tanto de origen natural como antropogénico, por lo que caracterizar la composición y morfología del material particulado ha cobrado especial interés, ya que tiene la finalidad de determinar su origen y reconocer los posibles efectos en la salud; definiéndose como partículas a todo sólido o líquido que es arrastrado y dispersado por el aire hacia la atmósfera, con tamaños que van de los 0.0002 micrómetros de diámetro, a no mayor de 500 micrómetros, incluyéndose las partículas biológicas dentro de las partículas de origen natural (Ramírez *et al.*, 2007; Aragón *et al.*, 2006; Guzmán y Reyes, 2009).

En la atmósfera el mayor porcentaje de partículas está dado por las partículas de origen natural, constituido por todo material proveniente del arrastre de suelos, erupciones volcánicas e incendios foréstales y en menor medida las de origen biológico, como son los restos orgánicos de plantas y animales, así como esporas de hongos, granos de polen, virus y bacterias (Aragón *et al.*, 2006; Guzmán y Reyes, 2009).

Las partículas de origen antropogénico, por su parte, son el producto de la combustión de diversos materiales, principalmente combustibles fósiles, que por lo general están conformadas de partículas atomizadas o cenizas de combustible, las cuales se concentran en los puntos donde son emitidas (como áreas urbanas e industriales), donde frecuentemente sus concentraciones sobrepasan los límites establecidos por las normas oficiales, llegando en ocasiones a rebasar los porcentajes de las partículas de origen natural, que por lo regular

suelen ser mayores a las antropogénicas (Aragón *et al.*, 2006; Ramírez *et al.*, 2007; Guzmán y Reyes, 2009).

El estudio de éstas partículas ha hecho uso de técnicas como la microscopía electrónica de barrido (MEB); análisis que ha permitido determinar las diferencias morfológicas que caracterizan la estructura de las partículas, así como mediante el análisis de espectrometría por dispersión de energías de rayos X, XEDS (por sus siglas en ingles Energy-Dispersive X-ray Spectroscopy) con el cual se ha podido conocer su composición química (Ramírez *et al.*, 2007; Guzmán y Reyes, 2009).

2.3. Análisis de microscopia electrónica

El análisis (MEB) es una técnica que ha permitido, por medio de un haz de electrones, producir imágenes de alta resolución de la superficie de las muestras analizadas, las cuales presentan una gran profundidad de campo, pudiendo enfocar gran parte de la muestra, por lo cual este análisis se ha convertido en el mejor método para el estudio de la morfología de la superficie de diversas muestras (González y Noguez, 2009).

Con ésta técnica es posible conocer la estructura de los granos de polen en su estado natural, así como aquellos colectados del aire, observándose en éstos últimos la formación de aglomerados de material particulado presente en la atmósfera que se aglutina sobre la exina (Mondragón, 2006). A su vez, con el análisis MEB de partículas colectadas del aire se ha determinado la morfología tanto de partículas naturales como antropogénicos permitiendo diferenciar entre ambos tipos (Guzmán y Reyes, 2009; Aragón *et al.*, 2006).

2.3.1 Partículas de origen antropogénico

Las partículas de origen antropogénico, producto de la actividad industrial, se observan al MEB con una forma esférica de superficie porosa, la cual es el resultado de la salida de gases producto de la combustión incompleta, formando poros y el número de poros está dado por la proporción de metales pesados contenidos en dicha partícula. Estas partículas se encuentran constituidas principalmente de carbono y azufre (Figura 3) (Aragón *et al.*, 2006; Ramírez *et al.*, 2007; Guzmán y Reyes *et al.*, 2009).



Figura 3. Micrografías de diversas partículas de origen antropogénico, tomadas del aire de la zona metropolitana del valle de Toluca (Guzmán y Reyes, 2009).

2.3.2. Partículas de origen natural

Las partículas de origen natural presentan morfologías variadas pero homogéneas al grupo que pertenecen, con patrones específicos y bien definidos, que permiten su adecuada identificación dentro de este tipo de partículas se pueden encontrar partículas con actividad biológica. En al análisis al MEB, se han podido observar que este tipo de partículas forman agregados con otras de origen natural o incluso de origen antropogénico, utilizando silicio como material aglutinante (**Figura 4**) (Knox *et al.*, 1997; Aragón *et al.*, 2006; Ramírez *et al.*, 2007; Guzmán y Reyes, 2009).



Figura 4. Micrografías de partículas de origen natural, tomadas del aire de la zona metropolitana del valle de Toluca (Guzmán y Reyes, 2009).

2.3.3. Partículas de origen biológico

Entre las partículas naturales con actividad biológica destacan principalmente virus, bacterias, hongos y granos de polen presentando morfologías bien establecidas para cada grupo, las cuales son útiles para su descripción e identificación (**Figura 5**). Los estudios aerobiológicos determinan la producción, dispersión, transporte y depósito de los bioaerosoles. Asimismo, evalúan los principales tipos polínicos presentes en el aire, su morfología y ultraestructural caracterizando a cada uno de ellos (Espeche *et al.*, 2014; Linares, 2007).



Figura 5. Micrografías de partículas de origen natural, tomadas del aire de la Zona Metropolitana del valle de Toluca (Guzmán y Reyes, 2009).

2.4. Análisis de X-EDS

La técnica X-EDS es un análisis que mide la energía de rayos X, producto de la colisión de los electrones emitidos por el haz del microscopio electrónico, contra los átomos de una muestra, como se esquematiza en la Figura 6, llevándose a cabo cuando los electrones son sacados de su sitio en las capas más internas dejando un espacio, el cual es ocupado por un electrón de las capas más externas. La transición de los electrones de una capa a otra libera radiación X, como se observa en el esquema de la Figura 7, de tal forma que la radiación X está directamente relacionada al elemento emisor, debido a que la diferencia de energía entre los orbitales aumenta según lo hace el peso atómico, lo cual está relacionado al número de protones en el núcleo, de modo que el valor de energía emitida se puede asociar con un elemento de la tabla periódica, de tal forma que es posible detallar la composición química de algunos tipos de partículas constituidas principalmente por Al, Ca, Cr, Fe, K, Mg, Na, S, Si, Ce, Cl, Ni, U, V y Zr (González y Noguez, 2009).

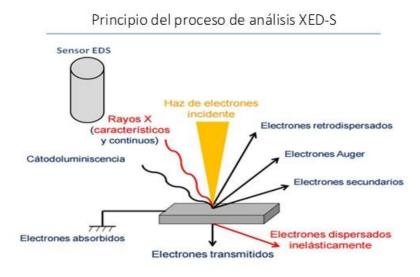


Figura 6. Esquematización de la dispersión de rayos X, para su análisis por el censor X-EDS (modificado de González y Noguez 2009).

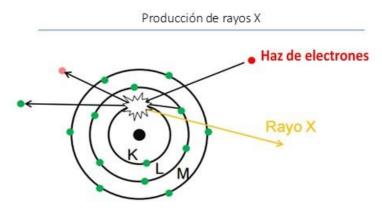


Figura 7. Esquematización de la producción de rayos X, resultado del choque de electrones emitidos, contra los electrones de capas inferiores, de átomos de las muestras analizadas al MEB. (Material fotográfico REMA)

2.5. Contaminación atmosférica

La contaminación atmosférica es considerada como la introducción y presencia de sustancias, organismos y formas de energía en ambientes o sustratos a los que no pertenece o en cantidades que sobrepasan dichos sustratos, manteniéndose por un tiempo suficiente y bajo condiciones tales, que esas sustancias intervienen con la salud y la comodidad de las personas; dañando los recursos naturales y alterando el equilibrio ecológico (Serrano, 2007).

2.5.1. Fuentes de contaminación de aire

- Naturales: es generada por la actividad biológica de la biosfera, la actividad geológica de la tierra, así como otros procesos naturales como incendios foréstales y erosión (Serrano, 2007).
- Antropogénica: generada como consecuencia de las actividades humanas, destacando la quema de combustibles fósiles, ya sea por el autotransporte o la actividad industrial, o en el uso doméstico (Serrano, 2007).

2.5.2. Tipos de contaminantes

Se pueden identificar dos tipos de contaminantes en función de sus características físicas: gases y aerosoles (Serrano, 2007).

2.5.2.1 Gases

Entre los principales contaminantes gaseosos se encuentran el ozono (O_3) , los óxidos de nitrógenos (NO, NO₂ y NOx), monóxido de carbono (CO) y dióxido de carbono (CO₂), los cuales según su origen se dividen en primarios y secundarios (Serrano, 2007).

- **Primarios**. Son aquellos que se emiten directamente a la atmósfera desde las diversas fuentes (Serrano, 2007).
- **Secundarios:** Son todos aquellos que se forman por la acción de los procesos químicos a partir de los primarios y la interacción de la radiación solar (Serrano, 2007).

2.5.2.2 Aerosoles

Son compuestos volátiles orgánicos e inorgánicos de material particulado suspendido en la atmósfera, que pueden ser sólidos o líquidos y tener un origen natural o antropogénico (Seinfield y Pandis, 1998; Azuela, 2007); por lo cual éstos se dividen según su:

- 1. Origen. En primarios y secundarios bajo los mismos criterios utilizados para gases.
- 2. **Tamaño**. Se utiliza el diámetro aerodinámico como un indicador del tamaño de la partícula, el cual es independiente de su tamaño o densidad y que permite clasificarlos en:

- o Partículas suspendidas totales (PTS): abarcado dese partículas PM₁₀ y PM_{2.5}
- O Partículas menores de $10 \mu m$ (PM₁₀): partículas suspendidas que pueden ser inhaladas por el sistema respiratorio, considerándose como fracción respirable o inhalable.
- O Partículas menores de 2.5 μm (PM_{2.5}): llamadas fracción fina y comprende las partículas menores de 2.5 μm y ultra finas partículas menores de 1 μm.

De acuerdo con esta clasificación es posible considerar, de forma general, que las partículas gruesas y finas tienen origen primario y las ultrafinas secundario (Seinfield y Pandis, 1998; Azula, 2007).

2.5.2.3. Aeroalérgenos

Los alérgenos son antígenos que provocan la producción de inmunoglobulina E (IgE), el cual es un tipo de anticuerpo relacionado con la respuesta inmune, efectiva contra diversos agentes patógenos, especialmente parásitos, aunque en algunos casos su producción está implicada en las reacciones alérgicas de tipo I de hipersensibilidad y enfermedades atópicas. La mayor parte de los aeroalérgenos suelen ser proteínas o sustancias unidas a proteínas, como glicoproteínas solubles, presentando un peso molecular entre los 10,000 y 40,000 Da, con un tamaño de 1 a 60 µm (Soman *et al.*, 2000; Guidos y Almeida, 2005; Olive, 2012).

2.6. Aerobiología

El termino aerobiología, fue dado en la década de los 30´s del siglo pasado por Fred C Meier, con la finalidad de describir la microbiota en la atmósfera, con lo que dio lugar a los estudios realizados hasta ese momento de repercusión, diversidad y modo de vida de organismos aerotransportados (Nieto, 2008; Gutiérrez *et al.*, 2015; Calderón *et al.*, 2016). En 1973 Edmonds y Benninghoff, consideraron que la aerobiología es una ciencia multidisciplinaria, que lleva a cabo el estudio de biopartículas como esporas de hongos, pólenes y otros microorganismos aerovagantes de la atmósfera; basándose en el proceso aerobiológico que comprende los pasos de liberación, dispersión, depositación, resuspensión e impacto (Nieto, 2008; Gutiérrez *et al.*, 2015; Calderón *et al.*, 2016).

Actualmente, la aerobiología ha incluido el estudio de partículas y gases producto de la combustión de vehículos, procesos industriales y actividad doméstica, los cuales, modifican la estructura morfológica y composición química de las biopartículas (Nieto, 2008; Gutiérrez et al., 2015; Calderón et al., 2016).

Entre las aplicaciones de la aerobiología, la que más destaca es el estudio de los granos de polen, que por medio del monitoreo aerobiológico de los tipos polínicos presentes en el aire de diversas regiones, ha permitido obtener la estacionalidad y concentración de éstos, generando datos que han mantenido informada a la población sobre todo de aquellos tipos polínicos que presentan propiedades alergénicas causantes de padecimientos respiratorios (Nieto, 2008; Gutiérrez *et al.*, 2015; Calderón *et al.*, 2016).

2.6.1. Proceso aerobiológico

Se entiende por proceso aerobiológico a la secuencia de eventos que siguen las partículas biológicas desde que se forman en las estructuras progenitoras hasta que sedimentan o impactan. Diversos trabajos aerobiológicos tratan de explicar la dinámica de estas partículas y su relación con los fenómenos que las mantienen suspendidas en la atmósfera (Figura 8). Este proceso fue publicado por Edmonds y Benninghoff en 1973 y retomado en la década de los 80's por Edmonds y Cox. Las partículas aerovagantes están afectadas por numerosos procesos que incluyen su liberación desde su origen, dispersión o transporte, depositación y su impacto. Una vez liberadas al aire las partículas son expuestas a movimientos horizontales o verticales de las masas de aire en la atmósfera, lo que puede fomentar su transporte, confinamiento o dispersión. Dicho proceso ha facilitado la investigación de ésta dinámica con la facilidad de poderse enfocar en una parte del proceso o todo en su conjunto, permitiendo analizar el comportamiento de las aeropartículas en relación con los parámetros ambientales (Nieto, 2008., Fuentes, 2012; Olive, 2012; Calderón *et al., 2016*).

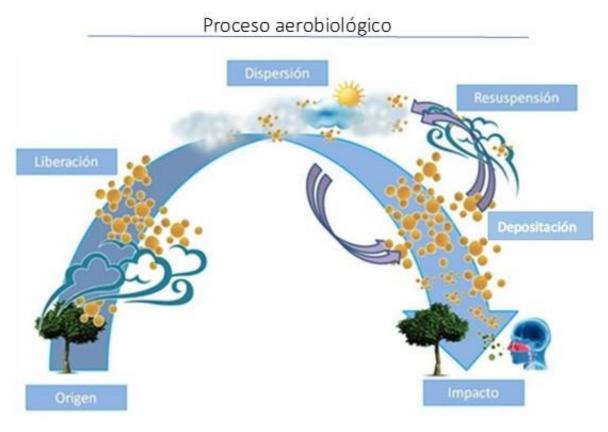


Figura 8: Proceso aerobiológico, representado con granos de polen, donde se muestran las cinco etapas del proceso más la opción a resuspensión.

2.6.1.1. Origen

Se refiere a la fuente de producción, germinación, desarrollo y emisión, conformado por todas las estructuras progenitoras que producen biopartículas con fines reproductivos, susceptibles de ser transportadas por el viento como bacterias, virus, hongos y granos de polen; destacando sobre todo hongos formadores de esporas y fragmentos de hifas, seguido de plantas como productoras de polen y semillas, que en conjunto son de sumo interés para estudios aerobiológicos, debido a factores como abundancia, proximidad y capacidad de producción de éstos organismos (Gregory, 1973; Lacey y West, 2006; Nieto, 2008; Fuentes, 2012 Olive, 2012).

2.6.1.2. Liberación

Es la parte del proceso aerobiológico en que las biopartículas pasan de la fuente emisora a la atmósfera, interviniendo tanto los fenómenos fisiológicos, como los factores ambientales, los cuales determinan dos tipos de liberación (Gregory, 1973, Lacey y West, 2006; Nieto, 2008; Fuentes, 2012 Olive, 2012).

- Pasivo. Es el tipo de liberación en la que intervienen algunos agentes o vectores para el desplazamiento de las biopartículas; es el caso del polen de tipo anemófilo, el cual hace uso del aire para su dispersión, o el de tipo entomófilo, el cual se apoya de insectos como agente dispersor.
- Activo. en este tipo de dispersión los organismos presentan mecanismos que les permiten tener control sobre la distancia y dirección de las esporas, presentándose tanto en hongos como en plantas; un ejemplo de este tipo de dispersión es la usada por los hongos que, al involucrar mecanismos con aporte de energía, que promueven la turgencia celular, provocando la rotura de la pared de los esporangios para así liberar sus esporas, emitiéndolas de forma violenta.

De manera general, la humedad relativa del aire, la temperatura, la magnitud del viento entre otros factores meteorológicos, son los elementos de mayor influencia en la liberación de este tipo de biopartículas (Gregory, 1973; Lacey y West, 2006; Nieto, 2008; Fuentes, 2012; Olive, 2012).

2.6.1.3. Dispersión

La dispersión de las biopartículas se lleva a cabo por medio del viento y está estrechamente relacionada con los fenómenos meteorológicos, viéndose influenciada por los procesos atmosféricos, como son turbulencias, precipitaciones y convecciones térmicas, que crean las condiciones necesarias, tanto para un transporte vertical como horizontal, factores que aunados a la forma aerodinámica, volumen y peso de las biopartículas, promueven la permanencia, transporte, dispersión y depositación de este tipo de partículas (Gregory, 1973; Jáuregui, 1991; Lacey y West, 2006; Fuentes, 2012; Olive, 2012; Calderón *et al.*, 2016).

A su vez las biopartículas anemófilas presentan características como peso, composición y forma que permiten que viajen grandes distancias desde su fuente emisora, debido a que este transporte está relacionado con el movimiento de grandes masas de aire en la atmósfera, que transporta las biopartículas de manera horizontal (Gregory, 1973; Jáuregui, 1991; Lacey y West, 2006; Olive, 2012; Fuentes, 2012; Calderón *et al.*, 2016), distinguiéndose tres tipos de transporte en función de la distancia que recorren este tipo de partículas:

- Corta distancia hasta 1 km
- Mediana distancia de 1 a 100 km
- Larga distancia más de 100 km

Considerando a los granos de polen en el rango de mediana distancia, aunque dependiendo la especie y sus características morfológicas, éstos pueden llegar a alcanzar grandes distancias (Gregory, 1973; Jáuregui, 1991; Lacey y West, 2006; Fuentes, 2012; Olive, 2012; Calderón *et al.*, 2016), por lo que se distinguen dos tipos de transporte:

- **Escala local.** Cuando los granos de polen son depositados en las cercanías a su punto de emisión.
- **Escala regional.** Este tipo de transporte se encuentra influenciado por las corrientes convectivas, dadas por el calentamiento de la superficie terrestre, las cuales transportan a grandes distancias granos de polen en forma vertical y horizontal.

Este último tipo de transporte, debido a la altura y distancia, ocasiona una reducción considerable en los niveles de polen del punto de impacto; sin embargo, la producción de polen anemófilo de algunas plantas es tan alta que aun así las concentraciones pueden alcanzar niveles dañinos para la salud de individuos ya sensibilizados (Gregory, 1973; Jáuregui, 1991; Lacey y West, 2006; Fuentes, 2012; Olive, 2012; Calderón *et al.*, 2016).

2.6.1.4. Depositación

Se refiere a la sedimentación del polen que se produce por la acción de la fuerza de gravedad o cuando éste se impacta o choca sobre diferentes sustratos, como puede ser el agua, suelo, vegetación, etc. Nilsson (1992) distingue dos tipos de depósito: seca y húmeda. El polen en ambientes húmedos se hace más pesado y sedimenta con mayor facilidad. Por el contrario, en condiciones de sequedad, se hace menos denso y su permanencia en la atmósfera puede ser mucho mayor. La gran cantidad de polen que se dispersa por el aire puede quedar depositado en cualquier tipo de sustrato. Con frecuencia algunos granos de polen consiguen alcanzar los receptores femeninos de la flor y llevar a cabo la fecundación.

Un ejemplo de depósito dañino ocurre cuando el arrastre de biopartículas, como los granos de polen, impacta las vías respiratorias y forma un acumulado de biopartículas causando irritación o una reacción alérgica cuando éste presenta algún grado de alergenicidad

(Gregory, 1973; Nilsson, 1992; Lacey y West, 2006; Nieto, 2008; Fuentes, 2012; Olive, 2012). Debido a éstas posibles acciones que tienen efectos en la salud, esta parte del proceso aerobiológico es de suma importancia en los estudios aeropalinológicos relacionados con las alergias.

2.6.1.5. Impacto

La mayor parte de las biopartículas son producidas como estructuras reproductivas, que son liberadas a la atmósfera con el fin de propagar la especie, pero ya sea por su composición química o estructura afectan a otros organismos como plantas, animales y seres humanos, mediante una infección, intoxicación o una respuesta alergénica, que para el caso del polen no importando si éste se encuentre viable o no, integro o alguna de sus partes, al estar en contacto con los tejidos oculares o vías respiratorias, desencadena una respuesta alergénica (Polinosis) con distintos grados de severidad según el grado de sensibilidad del individuo (Gregory, 1973; Nilsson, 1992; Lacey y West, 2006; Nieto, 2008; Fuentes, 2012; Olive, 2012; Calderón *et al.*, 2016).

2.6.1.6. Resuspensión

Una vez que las partículas se han depositado sobre la superficie de algún sustrato y si éste lo permite por medio de los mecanismos antes mencionados, como el viento se inician nuevamente sus procesos de transporte, dispersión y deposito (Gregory, 1973; Recio, 1995; Nilsson, 1992; Lacey y West, 2006; Nieto, 2008; Fuentes, 2012; Olive, 2012).

2.6.2 Aeropalinología

La aeropalinología es la parte de la aerobiología encargada del estudio, composición y dispersión de partículas, como son esporas de hongos y helechos, pero fundamentalmente del polen, para lo cual se enfoca en el proceso aerobiológico, haciendo uso de redes de monitoreo que identifican y cuantifican los diversos tipos polínicos presentes en el aire, generando datos sobre la intensidad y estacionalidad de éstos aerosoles en la atmósfera; de tal forma que ésta ciencia se convierte en una excelente herramienta que apoya al sector salud previniendo sobre la concentración y tipos polínicos presentes en el aire que pudieran ocasionar enfermedades alérgicas, que con los datos obtenidos se generan modelos de prevención que establecen límites de riesgo a la exposición de dichos aeroalérgenos, para finalmente obtener argumentos necesarios para tomar decisiones sobre los tipos de especies más adecuadas para reforestar áreas verdes y que a su vez no impliquen un riesgo a la salud. (Fuentes, 2012; Olive, 2012; Gutiérrez et al., 2015; Calderón et al., 2016).

2.6.3. Tipos de muestreadores

La captura de aeropartículas de origen biológico ha llevado a la necesidad de diseñar trampas de esporas adecuadas. Hay varios modelos que se basan en los principios de depósito, impactación, succión, filtración, precipitación electrostática, precipitación térmica o imputación liquida y el uso de estos equipos están relacionado con el tipo de localidad,

tiempo de duración del estudio y el tipo de análisis de la muestra, pero pueden ser clasificados en dos grandes grupos (Nieto, 2008; Fuentes, 2012):

- Muestreadores pasivos. Este tipo de muestreo es de bajo costo y de fácil operación, pero debido a que las biopartículas son capturadas por impactación en forma vertical o sedimentación gravitatoria, no es posible calcular directamente la concentración de partículas en el aire.
- Muestreadores activos. Este tipo de muestreadores incorporan a su diseño un sistema eléctrico de bombeo, con flujo controlado de aire lo que permite calcular con exactitud el número de partículas por unidad de volumen, teniendo un diseño que variará según el principio operativo que se empleará para la captura de la muestra.

2.7. Polen

La producción de granos de polen por plantas superiores tiene la función biológica de transportar los gametos masculinos, desde las anteras hasta el estigma del gineceo en Angiospermas o al micrópilo del primordio seminal en Gimnospermas, utilizando dos sistemas para la propagación de los granos de polen:

• Entomogama: transportados por insectos

• Anemógama: trasportados por el aire

Con la finalidad de preservar la viabilidad los granos de polen están provistos de una cubierta muy resistente llamada esporodermis, que da soporte mecánico contra agentes bióticos y abióticos, que pudieran enfrentar en su recorrido. Está cubierta presenta caracteres morfológicos distintivos como forma, tamaño, simetría, tipo y número de aberturas; características que difieren entre especies y permiten identificar a cada uno ya sea a nivel de grupo, familia o género (Pla-Dalmau, 1961; Trigo *et al.*, 2007; Gutiérrez *et al.*, 2015).

En el aire hay un gran número de tipos polínicos, por lo que el conocimiento de la diversidad de pólenes en el aire se convierte en una importante herramienta que facilita la identificación de las plantas productoras para así establecer los periodos de floración y polinización de cada especie (Pla-Dalmau, 1961; Trigo *et al.*, 2007; Gutiérrez *et al.*, 2015; Calderón *et al.*, 2016).

2.7.1 Estructura del grano de polen

Los granos de polen presentan una estructura provista de una cubierta gruesa al exterior, compuesta de dos capas, la exina y la intina, que en conjunto conforman la esporodermis, confinando la parte viva (protoplasma), que presenta un periodo corto de vida. En el interior del protoplasma se localizan dos núcleos, uno vegetativo con la función de producir el tubo polínico, el segundo núcleo también llamado germinativo que contiene la información genética. Toda la estructura del grano de polen está dispuesta en capas como se observa en las **Figuras 9 y 10** (Sáenz, 1976; Dupre, 1992; Trigo, 2007).



Figura 9. Estructura del grano de polen mostrando tanto las partes internas como externas (modificado de Historia y biografías 2015).

Como se ha venido explicando, la esporodermis es la capa más externa que rodea y envuelve el grano de polen, la cual, se encuentra estructurada por paredes, capas y estratos como se muestra en la **Figura 10** con una parte interna denominada intina la cual desaparece rápidamente por oxidación y otra externa llamada exina (Sáenz, 1976; Dupre, 1992; Trigo, 2007).

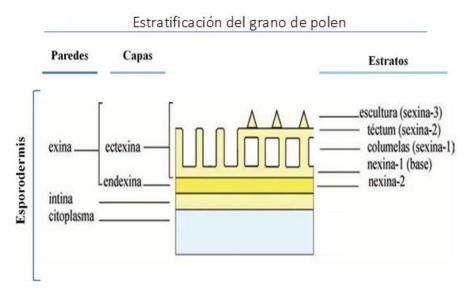


Figura 10. Corte transversal del grano de polen, mostrando las diferentes paredes, capas y estratos que conforma la ultra estructura del grano de polen. Fuente modificado de Trigo *et al.* (2007).

2.7.1.1. Estratificación del grano de polen

2.7.1.1.1 Paredes

- Exina. Es la capa más externa, compuesta fundamentalmente de esporopolenina, formada de la polimerización de carotenos y esteres de carotenos en proporciones variables, que le confieren a ésta capa, una de las más altas resistencias del reino vegetal, resistiendo la acción de bases y ácidos, así como temperaturas de 300 °C (Sáenz, 1976; Dupre, 1992; Trigo, 2007).
- Intina. Compuesta principalmente de celulosa, pectinas y glucoproteínas, es la capa intermedia del grano de polen, a la que se le considerarse como la capa de celulosa en todas las células vegetales, formando una capa interrumpida alrededor de los granos de polen (Sáenz, 1976; Dupre, 1992; Trigo, 2007).
- Contenido celular. Confinado entre las capas antes mencionadas el polen resguarda en este espacio dos núcleos, uno vegetativo de gran tamaño, que promueve la germinación del tubo polínico, por donde descienden los gametos masculinos contenidos en el segundo núcleo llamado germinativo (Sáenz, 1976; Dupre, 1992; Trigo, 2007).

2.7.1.1.2 Capas

- Ectexina: presenta una estructura complicada difícilmente repetible entre especies con patrones en una disposición radial de sus elementos y en algunos casos se presentan ornamentaciones muy variadas (Sáenz, 1976; Dupre, 1992; Trigo, 2007).
- Endexina: Es la capa más interna de la exina la cual suele ser lisa o muy homogénea, solamente engrosada hacia las aberturas, las cuales por lo general atraviesan ésta capa, su importancia reside en su gran capacidad de hidratación, que le confiere una gran importancia para facilitar la emisión del tubo polínico en el momento de la fecundación (Sáenz, 1976; Dupre, 1992; Trigo, 2007).

2.7.1.1.3 Estratos

• **Escultura:** Son elementos que conforman la ornamentación; ubicándose sobre el Tectum, de diversas formas como espinas, báculos, verrugas, granos, etc., como se muestra en la **Figura 11**.

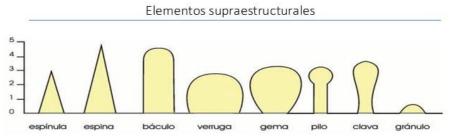


Figura 11: diversos elementos supratectales conocidos como esculturas. Fuente: Trigo, (2007).

• Téctum: También llamado Tegillum es el estrato superior del grano de polen y puede o no presentarse según la especie, que de estar lo, puede ser continuo describiendo al grano de polen como tectado, pero si el tectum es discontinuo a este se le conoce como semitectado y finalmente si el grano de polen no lo presenta se le conoce como intectado, pudiéndose observar la columelas en la superficie del grano de polen; según la especie este puede formar patones característicos como se muestra en la Figura 12 (Sáenz, 1976; Dupre, 1992; Trigo, 2007).

Figura 12: Tipos tectum más frecuentes vistos desde la superficie. Fuente: Fuente: Trigo, (2007).



- Infratectum: Es el nombre que recibe las estructuras columnares intratectales, formado por debajo del téctum, que en algunos casos la fusión de los capiteles (parte superior de la columna) formar algo parecido a un tectum, o bien el grano de polen que no presenta columelas forma una estructura granular que sustituye a la empalizada de columnelas por lo que es importante identificar este estrato y nombrarlo adecuadamente.
- **Nexina o base:** Es el imite entre las capas Ectecina y Endexina, que presenta una composición química diferente a las antes mencionadas (Sáenz, 1976; Dupre, 1992; Trigo, 2007).

Aunque la presencia de éstas capas no evita la perdida de viabilidad del grano de polen la cual es muy baja, tanto que en algunos tipos polínicos pueden ser de horas, viéndose afectados por variables como la temperatura, humedad y agentes contaminantes (González, 2009; Sáenz, 1976; Dupre, 1992; Trigo, 2007).

2.7.2 Aperturas

Algunos granos de polen son inaperturados presentando una exina delgada, a un que algunos presentan zonas adelgazadas conocidas como leptomas ubicados en posiciones fijas en el grano de polen, sin embargo, algunos de ellos presentan aberturas conocidas como pseudoaberturas que dependiendo si afectan la ectexina y la endexina se pueden distinguir dos tipos de aberturas Sáenz, 1976; Dupre, 1992; Trigo, 2007).

- Ectoaberturas: son aquellas que solo afectan a la ectexina.
- Endoaberturas: son aquellas que afectan únicamente a la endexina.

A su vez dependiendo la forma de la abertura éstas pueden ser de dos tipos:

- Colpos: cuando la relación longitud/anchura es mayor que 2 (1/a<2), estando la longitud como medida en el sentido del eje polar.
- **Poro**: cuando la relación longitud/anchura es menor que 2 (1/a<2), medida en el sentido del eje polar.

Éstas a su vez dependiendo como afectan las capas del grano de polen se denominan:

- **Simples:** cuando las aberturas solo afectan una de las capas o incluso cuando afectan a ambas capas sí coinciden en forma y tamaño.
- Compuestas: cuando afectan a la ectexina y la endexina, no coincidiendo en forma y tamaño.

A su vez las aberturas compuestas pueden ser de dos tipos:

- Colporadas: cuando presenta una ectoabertura tipo colpo y una endoabertura colpo o poro.
- Poroporada: cuando muestra una abertura de tipo poro más una abertura colpo o poro.

Al observar éstas estructuras al microscopio óptico pueden ser visualizadas como si se tratara de dos estructuras sobre puestas como se observa en la **Figura 13**. Sin embargo, si la abertura aparece alargada y dispuesta perpendicularmente al eje polar, se le denomina sulco (Sáenz, 1976; Dupre, 1992; Trigo, 2007).

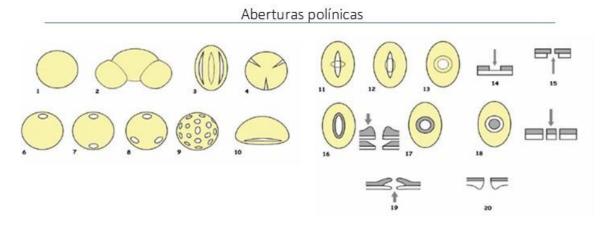


Figura 13. Aberturas de diferentes granos de polen: 1 inaperturado. 2 leptomado. 3-4 colpado. 6-9 porados. 10 sulcado. 11 colporado lalongado. 12 colporado lolongado. 13 pororado. 14 ectoabertura. 15 endoabertura. 16 margo. 17 anillo. 18 opérculo. 19 vestíbulo. 20 costilla (Trigo, 2007).

Por otra parte, cuando en las aberturas colporadas y las endoaberturas se presentar en el sentido del colpo son nombradas lolongado y cuando se localizan en forma perpendicular con respecto al colpo se nombran lalongada como se mostró en la **Figura 13** (Sáenz, 1976; Dupre, 1992; Trigo, 2007).

Otras estructuras relacionadas con las aberturas son las siguientes (Figura 13):

- Margo. Margen que rodea los colpos diferenciándose por su ornamentación.
- Anillo. engrosamiento o adelgazamiento de la exina que rodea el poro, presentando una ornamentación distinta a la del resto del grano de polen.
- Opérculo. Engrosamiento que se sitúa al interior del poro o colpo a modo de tapón.
- Vestíbulo. Cámara producto de la separación de ectexina y endexina.
- Costilla. engrosamiento de la exina que queda por debajo del margen de las aberturas.

2.7.3. Polinosis

Descrita por primera vez por Bostok en 1828 como la enfermedad "catarrus aestivus", a la que más tarde William Gordon denominó con el nombre de "fiebre del heno" ahora conocida como "polinosis", la cual es una enfermedad alergénica que afecta ojos, nariz, boca y pulmones, promoviendo afecciones respiratorias como rinitis o asma; situación que afecta cerca del 30% de la población, siendo más frecuente en localidades urbanas que en sitios rurales, debido al material particulado que se adhiere a los granos de polen y potencializa la reacción alérgica (Knox, 1997; Valero y Cadahía, 2005; Estrada *et al.*, 2009).

El tratamiento de este padecimiento se basa fundamentalmente en evitar la exposición al alérgeno, ya que es muy difícil determinar la concentración de polen que desencadena un proceso alergénico, dificultando dar un tratamiento adecuado que puedan ayudar a sobrellevar los síntomas, los cuales difieren mucho, dependiendo de la sensibilidad de cada individuo y de la especie de polen que se trate, debido a que algunos tipos polínicos son más reactivos que otros y provocan una reacción alérgica con bajas concentraciones (Sáenz y Gutiérrez, 1983).

En este tipo de reacción interviene fundamentalmente la composición química del grano de polen, la cual es muy variable entre especies, pero en general presentan 20% de proteínas y glucoproteínas de bajo peso molecular, así como ácidos aspártico y glutámico, alanina, arginina, cistina, glicina, histidina, prolina, serina y tirosina y entre un 30 y 45% de diversos azucares con un 5% de lípidos y un 3% de sustancias minerales (Guidos y Almeida, 2005; Olive, 2012).

Aunque todos los pólenes son potencialmente alergénicos, la capacidad de provocar una alergia está estrechamente relacionada a la presencia de ciertos antígenos específicos, que promuevan la reacción alérgica, siendo los pólenes anemófilos los más relacionados con estos casos, debido a la alta concentración de polen en el aire, que promueve los niveles

adecuados para una respuesta inmunológica, que dependiendo del nivel de alergenicidad del polen se clasifican en:

- Potencial bajo de alergenicidad: si solamente ocasiona reacción en individuos muy sensibles.
- **Potencial moderado de alergenicidad**: cuando provoca que muchas personas sensibles presenten síntomas.
- Potencial alto de alergenicidad: causa reacciones severas, en todos los individuos con diferentes grados de sensibilidad.

De ahí la importancia de las redes de monitoreo, que clasifican y caracterizan los tipos polínicos, midiendo sus concentraciones y estableciendo los periodos de polinización de las plantas productoras (estacionalidad), con lo que se realizan alertas que puedan ayudar a los individuos ya sensibilizados (Guidos y Almeida, 2005; Olive, 2012).

2.7.3.1 Reacción alérgica

La alergia, es la reacción de hipersensibilidad que presenta una persona ante algún tipo de alérgeno, siendo la expresión clínica de los mecanismos de respuesta inmunitarios normales del organismo, este tipo de reacción tiene lugar cuando el individuo sensibilizado está expuesto continuamente al alérgeno, estimulando al sistema inmune y provocando reacciones antígeno-anticuerpo induciendo la producción inmunoglobulina E (IgE) anticuerpo de alta afinidad. (Quiróz, 2003; Larenas *et al.*, 2009; Terán *et al.*,2009; Olive, 2012).

La primera fase ocurre cuando el individuo se encuentra en contacto con el alérgeno, el cual ingresa a través de las superficies mucosas, que posteriormente es ingerido por células portadoras de antígenos, que lo procesan y presentan a los linfocitos Th2, que secretan citoquinas provocando la proliferación de células B, que sintetizan IgE, que se une a los receptores FCE de los mastocitos en el tejido conjuntivo y en un segundo contacto en la superficie de los mastocitos, las moléculas de IgE se combinan con las del alérgeno, induciendo el aumento de la concentración de calcio intracelular, comenzando la degranulación de las células cebadas ya sensibilizadas liberando sustancias vaso activas de histamina, heparina y mediadores de inflamación como citosinas y quimiocinas, que atraen basófilos y eosinófilos, que en conjunto con los mastocitos, son responsables de desencadenar síntomas alergénicos como hinchazón, picazón, espasmos y urticaria (Quiróz, 2003; Larenas, et al., 2009; Olive, 2012).

2.8. Viabilidad del grano de polen

La viabilidad es la capacidad de las células tanto vegetales como animales de vivir, crecer, germinar y desarrollarse, la cual puede ser revelada por algunas sustancias químicas como, por ejemplo: el biselenito sódico, azul de metileno, índigo carmín, etc., que al contacto con células vivas puede o no (según el reactivo que se esté usado) presentar una coloración que indica la vitalidad de las células (Vieitez, 1952).

La búsqueda de mejores técnicas que revelen la viabilidad de las células, tanto animales como vegetales, ha llevado, al uso de las sales neutras e incoloras de tetrazolium (especie química cloruro 2,3,5-trifeniltetrazolium), que al estar en presencia del sistemas enzimático de hidrogenasa, clave en el metabolismo energético de la célula, reducen la sal de tetrazolium, en trifenil formazan (Figura 14), tiñendo de color rojo la célula viva, debido a la formación de un precipitado de este color dentro de la célula, producto de la reducción de la sal tetrazolium; teñido que facilita la detección de células vivas. Debido a esta propiedad el uso de la sal de tetrazolium se ha extendido a la comprobación de vitalidad de tejidos (vegetal y animal), bacterias, levaduras y granos de polen (Vieitez, 1952).

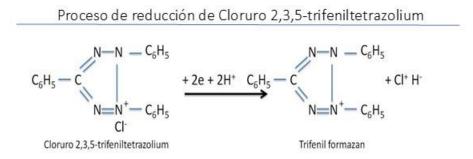
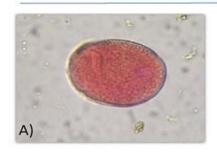


Figura 14. Reacción del proceso de reducción del cloruro 2,3,5-trifeniltetrazolium a trifenil formazan. Fuente: modificado de (Vieitez, 1952).

Los estudios para el uso de tetrazolium, comenzaron a mediados del siglo pasado, al descubrir el potencial de éste como un indicador más de la vitalidad celular, utilizando como primer objeto de estudio, bacterias y levaduras, que se teñían de color rojo al estar en presencia del tetrazolium; posteriormente ésta propiedad de la sal de tetrazolium, se utilizó para determinar el potencial de germinación de semillas de cereales, remplazando al biselenito sódico, que presentaba propiedades toxicas; después de realizar pruebas a diferentes temperaturas que oscilaban entre 20 y 80 °C, se descubre que las sales de tetrazolium, no presentan una buena tinción a temperaturas menores de los 40°C, debido a que no permiten la adecuada activación de la deshidrogenasa; actividad que se pierde al sobrepasar los 70 °C, en la cual no se presenta ninguna coloración, siendo las temperaturas entre 40 y 50 °C, las adecuadas para la actividad celular, alcanzando su máximo a los 48 °C en 90 minutos, parámetros que lo convierten en un indicador rápido y eficaz en la detección de la vitalidad de las células (Vieitez, 1952).

Todas éstas características permiten que el uso del tetrazolium remplace procedimientos tardíos como la germinación de los granos de polen, el cual hasta la fecha, ha presentado ciertos inconvenientes con respecto a los requerimientos nutritivos del medio de germinación; nutrientes que suelen ser muy específicos por especie, por lo contrario, si se logra la germinación de los granos de polen requieren de una inversión considerable de tiempo, que va de unas cuantas horas hasta periodos de más de 30 días, tiempo que depende de la especie analizada, por lo cual el uso de ésta sal se convierte en una excelente herramienta, al dar una reacción positiva en un periodo corto de tiempo, tiñendo de color rojo los granos de polen viables y dejando de un color blanco amarillento los pólenes que han perdido la viabilidad, como se muestra en la **Figura 15**; ésta respuesta está dada por el sistema enzimático de deshidrogenasa, contenido en el protoplasma del polen, que realizan la reacción de reducción, constituyendo leuco formas de color rojo, permitiendo determinar la viabilidad del grano de polen (Vieitez, 1952).

Prueba de viabilidad de Cloruro 2,3,5-trifeniltetrazolium



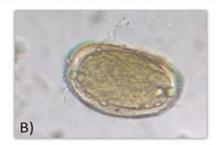


Figura 15. Prueba de viabilidad con Cloruro 2,3,5-trifeniltetrazolium en polen de la familia Liliaceae. A) Grano de polen viable, mostrando una tinción de color rojo, B) Grano de polen no viable sin presencia de tinción (Material fotográfico REMA).

2.9 Sistemática

La sistemática es la ciencia que se encarga del estudio de la diversidad y la relación que existe entre los organismos, describiendo e interpretando la diversidad biológica, sintetizando la información generada en sistemas de clasificación predictivos, teniendo como objetivo principal la descripción de todas las especies que componen el árbol evolutivo de la vida, documentando y describiendo todos los cambios por los que han evolucionado las especies, reconstruyendo sus filogenias y clasificando éstas en un esquema lógico, organizado y jerárquico; siendo especie la unidad básica para el sistema de clasificación (Benítez *et al.*, 2006; Raymúndez *et al.*, 2012).

La sistemática se apoya en la taxonomía, que se encarga de la asignación de nombres científicos a dichas especies, clasificándolas en un sistema, que permite el acceso a la información existente de ella; que para el caso de las plantas la aplicación de éstos nombres se realiza por medio del Código Internacional de Nomenclatura Botánica, que tiene la función de homogenizar criterios para dar una correcta asignación del nombre (Benítez *et al.*, 2006; Raymundez *et al.*, 2012).

Los enfoques de la sistemática en la actualidad son diversos tales como:

- Sistemática Clásica. La cuál realiza investigaciones tanto de herbario como de campo,
 Ilevando a cabo la clasificación y determinación de las especies en un sistema lógico
 y ordenado jerárquicamente.
- Taxonomía Numérica. Es la parte de la taxonomía que trabaja por medio de métodos computarizados con las bases de datos generadas, con los diferentes taxones, siendo la autora de la construcción de fonogramas.
- Quimiosistematica. También denominada quimiotaxonomía y es la forma de clasificar organismos, en especial plantas, por medio de las diferencias bioquímicas; basando su estudio en proteínas, aminoácidos y péptidos.
- **Sistemática Molecular.** Se encarga de la reconstrucción de las relaciones de parentesco de los diferentes grupos taxonómicos por medio de la secuenciación de nucleótidos de ADN Y ARN.
- **Biosistemática.** Desarrolla investigaciones multidisciplinarias que permiten, reconocer las relaciones entre los distintos grupos y así conocer su uso potencial.

Este último enfoque de la sistemática constituye un campo unificador de la biología ya que denomina a los organismos por medio de la información generada de la taxonomía, morfología, bioquímica, citología, genética y ecología, "realizando estudios experimentales dentro de poblaciones en sus ambientes naturales como en ambientes controlados, recabando información que no solo detalla las características principales, sino también, describe el habitad donde se desarrollan, su uso actual y potencial", características que han convirtiendo a la Biosistemática en la base del conocimiento e información necesaria para determinar los límites de la diversidad biológica (Benítez *et al.*, 2006; Raymundez *et al.*, 2012).

2.10. Bioindicadores

Los bioindicadores son organismos (animales, plantas, hongos o bacterias) de distintos niveles de organización, como especie, población comunidad o ecosistemas, los cuales muestran algunos atributos especiales (químicos o físicos), que por medio de la presencia, ausencia o restos de los mismos, puedan dar datos de acontecimientos actuales o del pasado, sobre la calidad ambiental del sitio, debido a que éstos reaccionan con el medio ambiente, cambiando alguna de sus funciones vitales, composición química, genética, morfológica, adaptación o incluso acumulando el agente contaminante, permitiendo obtener conclusiones sobre el estudio del medio; convirtiéndolos en la opción económica para evaluar la calidad ambiental del suelo, aire o agua (Lijteroff, 2009).

El uso de organismos como bioindicadores se remonta mucho tiempo atrás, empezando con el empleo de algunas especies estenoicas (es decir con una valencia ecológica o amplitud de tolerancia reducida, respecto a uno o más valores ambientales) las cuales presentan ciertos

requerimientos físicos y químicos, de la estructura de sus hábitats, marcando límites entre los cuales éstos organismos pueden sobrevivir (límites máximos), crecer (limites intermedios) y reproducirse (limites estrechos); considerándose como mejor bioindicador de la calidad ambiental a aquellas especies con limites más estrechos de tolerancia. Posteriormente se utilizan de algunas comunidades que reflejan la integración de las especies a las características del medio en relación con cierto tiempo, observándose los efectos del contaminante durante un ciclo de vida (Wilhm, 1975).

Para considerar algunas especies o comunidades como bioindicadores, éstas deben ser abundantes, de poca movilidad, muy sensibles al medio en que se desarrollan, fáciles y rápidas de identificar y presentar un ciclo ecológico y biológico bien estudiado. Por lo que se requiere conocimiento previo respecto sobre la composición de la comunidad en condiciones normales y adversas, antes y después de una perturbación ambiental, así como la estacionalidad y variaciones naturales (Raz, 2000; Vázquez *et al.*, 2006).

En la actualidad ha aumentado el uso de organismos bioindicadores, los cuales no remplazan a los análisis químicos, sino que simplifican los gastos, el trabajo de campo y de laboratorio, debido a que para el estudio de éstos solo requiere la identificación y cuantificación de los organismos, como ha sucedido con los líquenes, los cuales han sido ampliamente utilizados como indicadores de la calidad del aire como se observa en la **Figura 16**, en donde se utiliza una determinada especie de liquen, para determinar el nivel de concentración de diversos contaminantes (Raz, 2000; Vázquez *et al.*, 2006).



Figura 16: Uso de líquenes como bioindicadores de contaminación ambiental del aire (modificado de Lijteroff *et al.*, 2009).

Las especies consideradas como bioindicadoras se clasifican de acuerdo con la sensibilidad, reacción o acumulación del contaminante ambiental al que se encuentra expuesto, siendo:

- **Bioindicadores:** aquellos que presentan efectos visibles tras ser expuestos al agente contaminante, clasificándose en tolerantes, facultativos o intolerantes.
- Bioacumuladores: no presentan efectos visibles tras su exposición si no que acumulan el agente contaminante.

De tal forma que mediante el uso de este tipo de organismos, se puede obtener información sobre los efectos de la exposición a corto, mediano y largo plazo, de contaminantes como gases y partículas, así como la transformación de sustancias que ingresan a este tipo de organismos dando resultados de las condiciones reales de la zona de muestreo, diferenciándose de indicadores químicos más puntuales, que solo muestran las condiciones presentes en el momento de la toma de la muestra (Raz, 2000; Vázquez *et al.*, 2006).

3.1 Aerobiología en México

En México los estudios de polen aerovagante comienzan en la década de los 40´s, cuando Salazar en 1940 realiza los primeros estudios de polen atmosféricos de la Ciudad de México, demostrando que el polen está asociado al 31 % de las alergias respiratorias en personas residentes en el Valle de México. También determino que los pólenes de herbáceas como Poaceae, tienen mayor predominancia en la temporada de lluvias, mientras que en la de secas se presenta un aumento en la concentración del polen aerovagante, destacando el grupo de árboles, como el de la familia *Cupressaceae*; demostrando con este trabajo, la importancia del estudio del polen en la atmósfera (Salazar, 1940; Salazar-Coria, 1995; Rosas *et al.*, 2011; Calderón *et al.*, 2016).

Posteriormente, Cueva-Velásquez (1970) realizó varios estudios por diversos estados de la República Mexicana, entre los años 1949 a 1970 donde destaca la importancia clínica del estudio del polen y sus técnicas de estudio, enfocándose en la frecuencia y tipos polínicos de diversos estados de la República Mexicana, información con la que publicaría la "Flora y pólenes alergénicos en la República Mexicana" (Rosas *et al.*, 2011; Calderón *et al.*, 2016).

Durante los años siguientes, debido a la falta de métodos estandarizados, son pocos los conocimientos generados sobre este tema y los escasos resultados generados en este periodo no pueden ser comparados debido a ésta carencia; ya en la década de los 90's con la entrada a nivel mundial de sistemas de captación volumétricos, como lo es la trampa de esporas tipo Hirst (Burkard), se comienzan a realizar estudios más detallados, pero aún sin una metodología adecuada que permita comparar resultados, coincidiendo únicamente con las épocas de mayor abundancia de granos de polen, dados en estudios de periodos cortos, siendo la temporada de seca la más abundante, mientras la temporada de lluvias la de menor riqueza. A su vez estos estudios coinciden en algunos tipos polínicos, siendo el grupo de árboles el predominante en ambas temporadas, presentando una mayor densidad en la época de secas, destacando el polen de *Pinus, Fraxinus*, Cupressaceae, *Alnus*, Liquidámbar, Calistemo y Casuarina (Terán *et al.*, 2009).

En 1992, el estudio realizado por Bronill*et al* norte de la CDMX; logró identificar 24 taxones, organizados en tres grupos árboles, malezas y pastos, siendo el primero el de mayor concentración de polen y con una diversidad de 17 taxa, de los cuales domina *Alnus* y *Casuarina*; al mismo tiempo relaciona los parámetros meteorológicos, encontrando que la concentración del polen está relacionada con las altas temperaturas, baja humedad relativa y alta velocidad del viento; reportando también que entre las 16:00 – 18:00 h se presenta las más altas concentraciones de polen (Bronillet, 1992; Bronillet-Terrego, 1996; Fuentes, 2012; Calderón *et al.*, 2016).

González (1999), realizó un estudio de partículas suspendidas y polen de la atmósfera de la Ciudad de México por un periodo de un año de 1993 a 1994, identificando 31 taxa correspondientes a 22 géneros con una concentración 14,240 gp/m³, concluyendo que a pesar de la presencia de polen local en las muestras, no hay evidencias del transporte a través

de la atmósfera o de su precipitación, identificando tres especies *Alnus* sp., *Cupressus-Juniperus* y *Fraxinus uhdei* como los principales aeroalérgenos, destacando que son importantes los estudios de granos de polen, ya que requiere un manejo integral de diversos eventos para poder proponer índices de calidad.

Así con la entrada del nuevo siglo se comienzan a dar los primeros trabajos de monitoreo continuo, uno de los cuales fue llevado a cabo por Rocha *et al.* (2013), en el periodo comprendido entre 2003-2005, en el área metropolitana de Monterrey, Nuevo León, utilizando técnicas estandarizadas usadas y aprobadas por la Red Española de Aerobiología (REA) contabilizando un total de 7 687 granos correspondientes a 43 taxa para Ciudad Universitaria, mientras que para La Florida se registraron 12 354 granos correspondientes a 57 taxa, identificando el polen de *Fraxinus sp.* y Cupressaceae como los pólenes de mayor alergenicidad y mayor concentración en la zona (Rocha *et al.*, 2013).

Para fechas posteriores se continuaron realizando este tipo de estudios, en los que se comenzaron a incluir colectores volumétricos de distintos sistemas operativos, sin embargo, éstos estudios seguían sin tener un seguimiento continuo o métodos estandarizados, que generaran datos que se pudieran comparar unos con otros, así es el caso del trabajo llevado a cabo por Cid-Martínez en 2007, durante los meses de marzo a agosto, utilizando una trampa de esporas tipo Hirst, en dos zonas de la ZMVM (ENEP Iztacala zona norte y Ciudad Universitaria., UNAM zona sur) determinando 27 taxa y comprobando que, la mayor concentración de polen en la atmósfera, se da en la temporada de secas hacia la segunda mitad del día y reportando que las concentraciones son más elevadas en la zona norte, en comparación con la zona sur, mientras que la diversidad polínica es mayor en la zona sur que en la zona norte. La importancia de éstos estudios radica en la información generada que ayuda a comprender los periodos en que las concentraciones de polen, en especial del tipo alergénico, se manifiestan en la atmósfera, las cuales, pueden afectar a la población sensibilizada, al mismo tiempo, éstos estudios al incluir muestreadores de tipo volumétrico, permitieron por primera vez expresar los datos en granos de polen por metro cubico (gp/m³), logrando estimar concentraciones mínimas y máximas (Cid-Martínez, 2007; Fuentes, 2012; Calderón et al., 2016).

En octubre de este mismo año en un estudio de once meses en la Zona Metropolitana del Valle de Toluca (ZMVT) y con apoyo de una trampa de esporas tipo Hirst, logra identificar las variaciones estacionales y su comportamiento, determinando 29 diferentes tipos polínicos, que en su mayor parte son granos de polen del grupo de árboles, los cuales presentan concentraciones altas en temporada de invierno en el mes de enero (Cid-Prado, *et al.*, 2015).

Osorio y Quiroz (2009) realizaron estudios en la lluvia de polen, con la finalidad de determinar los tipos polínicos presentes en la atmósfera de la ciudad de Oaxaca, acetolizando las muestras y observándolas al microscopio, pudiendo identificar 39 tipos polínicos, de los cuales 17 de ellos presentan potencial alergénico, destacando la abundancia de: *Pinus sp.*,

Casuarina sp., Alnus sp., Quercus sp., Eucalyptus sp., Fraxinus uhdei, Bursera sp. y Cupressus sp., también reportaron que el polen arbóreo es el más abundante dentro de la muestra.

Ante la problemática de la diferencia de datos por la falta de la estandarización de los métodos y a la completa ausencia del monitoreo continuo de los granos de polen en la atmósfera, se comienza el planteamiento para la creación de la Red Mexicana de Aerobiología (REMA), la cual por medio de apoyos financieros de instituciones nacionales como el Centro de Ciencias de la atmósfera, el Centro Virtual de Cambio Climático, el Instituto de Ciencia y Tecnología del Distrito Federal, el Programa de Apoyo a Proyectos de investigación e innovación tecnología (PAPIIT, UNAM), El Programa de Estaciones Meteorológicas de Bachillerato Universitario (PEMBU), así como de instituciones internacionales como el Ministerios de asuntos exteriores a través de la Agencia Española de Cooperación Internacional para el Desarrollo (AECID), se decide poner en marcha la REMA en el año de 2008 a cargo de la Doctora María del Carmen Calderón Ezquerro; iniciando con dos estaciones en diferentes zonas de la Ciudad de México, a las que se le fueron integrando más estaciones en los años siguientes cubriendo la zona centro sur, poniente y oriente de la ciudad y actualmente en el norte de ésta (Fuentes, 2012, Olive, 2012; Calderón *et al.*,2016).

Con la creación de la REMA, se estandarizan los métodos y técnicas, basándose en las metodologías usadas y dadas, por medio, del apoyo de la Red Española de Aerobiología (REA), metodologías con las que se comienza el monitoreo continuo del aire de la Ciudad de México, lo cual, es de suma importancia, ya que redes como éstas generan información suficiente para advertir a la población sensibilizada, como lo destaca Terán en el (2009), debido a la información detallada de las concentraciones de tipos polínicos presentes en la atmósfera y los periodos de polinización, que pueden ser capaces de desencadenar enfermedades alergénicas y que gracias a ésta información, se puede tomar medidas preventivas para reducir la exposición y comenzar los tratamientos adecuados.

En los años subsecuentes a la creación de la REMA, se continúan realizando estudios independientes dentro de la Ciudad de México; como es el caso de los realizados por Ríos et al (2016) en el año 2012 en una zona urbana de la Ciudad de México (Merced), que por medio del empleo de una trampa de esporas tipo Hirst y el uso del método estandarizado dado por la REA, logró identificar un total de 24 taxones de los cuales, 10 de ellos pertenecen al grupo de herbáceas y 14 al grupo de árboles, que incluyen cinco tipos polínicos altamente alergénicos, tales como Cupressaceae, Fraxinus, Liquidámbar, Pinus y Quercus, demostrando que las concentraciones más altas se dan en la temporada frio-secas en los meses de noviembre a enero, donde, Fraxinus representa el 38% del total de la concentración de polen (Ríos et al., 2014).

En ese mismo año se presentaron los primeros aportes de la REMA, con el estudio realizado por Olive (2012), en el bosque de Chapultepec, en la delegación Miguel Hidalgo, de la Ciudad de México, en el que reporta 48 tipos polínicos pertenecientes a 37 familias en los cuales 20 de éstos tipos polínicos no pertenecen a la flora local del bosque de Chapultepec,

presentando las concentraciones más altas en la temporada de secas, en el mes de enero a febrero con una concentración de 16,366 granos de polen por metro cubico (gp/m³), donde el polen de *Fraxinus*, altamente alergénico representa el 37% del índice polínico anual (IPA), concluyendo que este tipo polínico es uno de los principales causantes de los casos de polinosis en la población, por lo que se debe dar continuidad al monitoreo.

Otro aporte de la REMA dentro de ese mismo año fue el estudio aeropalinológico del sur de la Ciudad de México, realizado por Fuentes (2012), en el que de forma continua por un periodo de dos años de muestreo demostró que las mayores concentraciones de polen en la atmósfera ocurren en los meses de diciembre a marzo, mostrando diferencias entre el número de tipos polínicos reportados para cada ciclo anual, obteniendo 39 tipos polínicos distintos para el periodo (2008-2009) contabilizando 68,054 granos de polen presentando un pico máximo de concentración el 24 enero de 2009, con una concentración media diaria de 1,546 gp/m³, en cuanto al periodo (2009-2010), se contabilizaron 113,253 granos de polen, reportando 45 tipos polínicos diferentes con un pico máximo en el mes de enero con una concentración que duplica al periodo anterior con 3,264 gp/m³.

En 2016 Calderón et al. publicaron el primer calendario polínico para Ciudad de México, resultado del monitoreo de 5 años del aire de la localidad de Coyoacán, CDMX, determinando 41 tipos polínicos, donde el 70% corresponden a polen de árboles, siendo *Fraxinus*, Cupressaceae, Alnus y Poaceae los más abundantes y a su vez altamente alergénicos, los cuales están presentes en la temporada de secas, entre los meses de diciembre a marzo, demostrando también que algunos tipos polínicos, se encuentran durante todo el año, como es el caso del polen de las familias Cupressaceae, Poaceae y Urticácea; al mismo tiempo relacionaron las altas concentraciones de algunos tipos polínicos de árbol como *Fraxinus sp.*, al incremento del uso de éstas especies como parte de los programas de reforestación de la CDMX. Otra aportación importante de este estudio es la correlación con los parámetros meteorológicos y el análisis del monitoreo aeropalinológico, demostrando que la variación estacional está influenciada por las condiciones climáticas presentes durante todo el año y que parámetros como el incremento de la temperatura están relacionados con el aumento del polen en la atmósfera y la precipitación pluvial y la humedad relativa están asociados a la reducción de polen en la atmósfera. En cuanto a la variación intradiaria demuestra que ésta es mayor durante la segunda mitad del día.

3.2. Relación de contaminantes y granos de pólenes

Wolters desde 1987 considera que la tasa de germinación son los parámetros biológicos más sencillos para demostrar la contaminación del grano de polen analizando una amplia variedad de especies vegetales en contraste con una serie de contaminantes atmosféricos y concentraciones comunes de monóxido de carbono, nitrógeno, dióxido de azufre y metales pesados comprobando la influencia de la contaminación artificial en el polen.

Anteriormente, Feder en 1981 demostró que el porcentaje de viabilidad de granos de polen de tomate, tabaco y petunia es ralentizado o detenido en plantas que crecieron fumigadas con dosis de ozono (O₃), incluso cuando las concentraciones son bajas. Posteriormente, en 1997, Knox pudo visualizar la unión *in vitro* entre partículas de diésel de carga positiva, con un tamaño de 30 a 60 nm, partículas que exacerban el potencial alergénico del grano de polen.

En 2006 Motta y sus colaboradores pudieron demostrar que los contaminantes atmosféricos NO_2 y O_3 relacionados con el tráfico están implicados en el actual aumento de la prevalencia de enfermedades alérgicas a través de sus efectos adyuvantes sobre los granos de polen, a su vez observaron los daños morfológicos inducidos en los granos de polen mediante microscopía electrónica de barrido, observando rupturas que desencadenan la liberación de gránulos que contienen alérgenos que aumentan la biodisponibilidad de los alérgenos del polen transportados por el aire.

En el 2011 Pasqualini logró observar un decremento en el porcentaje de viabilidad de granos de polen de ambrosia al ser fumigados con O₃ obteniendo un porcentaje del 39% menor al 56% en el grupo control, demostrando que la diminución en el porcentaje de viabilidad ésta dado por el aumento de especies de oxigeno reactivo que son promovidas por O₃ que estimula la enzima nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NAD [P] H) oxidasa; que a su vez promueve el elevación del potencial alergénico del grano de polen debido al estrés oxidante generado por NAD (P) H oxidasa que exacerba las reacciones de hipersensibilidad de tipo inmediato y la conjuntivitis alérgica impulsada por el antígeno polínico correspondiente.

En el año 2014 Lu y su equipo lograron observar un incremento en la talla de los pólenes, así como un cambio en la morfología polínica mostrándose interrupciones en la exina de granos de polen ornamentados al ser sometidos a dosis muy altas de NO₂, SO₂ o CO.

3.3. Bioindicadores de la calidad del aire

Wolters y Markens (1987) destacan la importancia del uso de bioindicadores como una manera efectiva y económica de monitorear las condiciones ambientales globales y locales.

En la búsqueda de organismos bioindicadores que permitan interpretar la calidad del aire de la atmósfera, se ha hecho uso tanto de diferentes tipos de plantas como de animales, tal es el caso de las aves, las cuales han sido ampliamente utilizadas para el análisis de metales pesados en la atmósfera. Estos estudios han corroborado que los efectos de la contaminación en ámbitos rurales son menores que en las localidades urbanas (Parra, 2014).

Sin embargo, debido a lo cambiante de las condiciones atmosféricas, el empleo de diferentes especies de plantas bioindicadoras de la calidad ambiental es más útil, ya que al permanecer sésiles en la localidad, se mantienen mayor tiempo en contacto con los diversos agentes contaminantes y reflejan mejor las condiciones del sitio, tal como lo demostró Klumpp en

1994 utilizado la vegetación del bosque Atlántico de la Sierra del Mar, Brasil, como bioindicador de contaminación ambiental, determinando la salud del bosque, el cual se encontraba expuesto a los contaminantes emitidos por una zona industrial cercana, productora de fertilizantes. Su estudio se basó en la toma de muestras de plantas del bosque a diferentes distancias de la fuente de emisión, obteniendo información de las causas y tipo de intensidad de los daños visibles en las plantas. Una vez evaluadas las lesiones ocasionadas por efecto de la contaminación del aire, más el análisis químico de las hojas, se demostró la presencia de niveles fitotóxicos de oxidantes fotoquímicos en amplias zonas del área del bosque, así como altas concentraciones de fluoruro en las hojas, demostrando que éstas plantas pueden utilizarse como bioindicadores de la calidad del aire, siendo una excelente herramienta para emplearse con éxito en programas de biomonitoreo en regiones tropicales y subtropicales.

El aumento del uso de organismos bioindicadores llevo a Markert en 2003 a definir un bioindicador como aquel organismo que puedan reflejar la calidad del ambiente, por medio de la reacción o acumulación del contaminante. Bajo esta definición la aplicación de la fisiología de plantas como bioindicador de contaminación ambiental fue ampliamente utilizada y convirtiéndola en un fiel representante de organismos bioacumuladores de contaminación ambiental, los cuales han sido ampliamente usados en estudios de calidad del aire, como es la capacidad de las plantas no vascularizadas como líquenes, de acumular metales pesados, tal como lo explican los trabajos realizados por Anze *et al.* (2007) en los que demostraron la importancia del monitoreo de líquenes, con la finalidad de determinar y vigilar la calidad del aire del ámbito urbano, destacando los efectos de los contaminantes ambientales en las distintas especies. Con este estudio se demostró que la especie *Raphanus sativus* cv. *Cherry belle*, son las más recomendada para el biomonitoreo de la calidad del aire, debido a su rápido crecimiento, resistencia contra las plagas, bajo costo de análisis y buena respuesta que presenta ante situaciones de contaminación atmosférica.

Lo mismo sucede con los estudios realizados por Darré (2011), señalando la importancia de los organismos bioindicadores, como un análisis complementario a los análisis físico-químicos; demostrando por medio de análisis químicos, que líquenes procedentes de comunidades rurales (grupo testigo), presentan adherencia de un mayor porcentaje de elementos procedentes de origen natural, mientras los líquenes de origen urbano (parques), presentan adherencia de un mayor porcentaje de metales pesados, así como elementos derivados de la combustión del petróleo producto de las emisiones industriales y tránsito vehicular, detectando elementos como Fe, Cr, Cu, Pb, V, S y Zn.

El estudio de la calidad del aire por medio de bioindicadores llevó a la necesidad del uso de agentes que estuvieran más en contacto con la situación atmosférica, por lo que algunos investigadores como Wolters y Markens, (1987), Thérese *et al.* (1991), Gottardini *et al.* (2004), Duro *et al.* (2013), Sénéchal *et al.* (2015) propusieron el uso del polen como bioindicador de la calidad del aire, debido a la dispersión de altas concentraciones de éstas

biopartículas en la atmósfera, que se encuentran en contacto con diversos agentes contaminantes, que promueven cambios tanto químicos como morfológicos, que son fácilmente evaluados por medio del análisis del potencial de germinación y viabilidad de los granos de polen, así como el análisis por microscopia electrónica de la composición de éstos aerosoles.

Para el análisis de la viabilidad de los granos de polen se ha hecho uso de diversas técnicas de tinción comprobadas por medio de los estudios llevados a cabo por Lannotti *et al.* (2000), Gottardini *et al.* (2004), Duro *et al.* (2013) que demuestran que una de las mejores técnicas para el estudio de la viabilidad de los granos de polen es la propuesta por Viéitez en (1952), que mediante del uso de sales incoloras de tetrazolium de la especie química Cloruro 2,3,5-trifeniltetrazolium, determinó la viabilidad de los granos de polen, mediante la reducción de este compuesto a forzan (precipitado de color rojo), por acción de la enzima deshidrogenasa presente en la cadena respiratoria, permitiendo calcular el porcentaje de viabilidad en los tipos polínicos analizados.

Ésta técnica fue adoptada por Lannotti *et al.* (2000), en la que por medio del análisis de la viabilidad de tres zonas con diferentes niveles de exposición a emisiones vehiculares (alto, bajo y ausente), lograron demostrar que la pérdida de la viabilidad es inversamente proporcional a la contaminación, siendo la zona de alto tráfico vehicular la de menor viabilidad comparada con la de menor tráfico vehicular.

Gottardini *et al.* (2004), lograron demostrar por medio del análisis de viabilidad, más pruebas de germinación, que los granos de polen de la especie *Pinus nigra*, pueden ser utilizados como bioindicadores de calidad del aire, al monitorear tres zonas con diferentes niveles de exposición a los contaminantes, utilizando, zonas rurales, parques y camellones, siendo ésta última zona la que presentó menor porcentaje de viabilidad, debido a la exposición a los contaminantes emitidos por el tráfico vehicular; comprobando por medio de análisis químicos, que los altos niveles de O₃ están involucrados en la disminución del porcentaje de viabilidad.

Estudios posteriores realizados por Duro (2013) durante un periodo de tres años (2007-2009) mostraron que los porcentajes de viabilidad y crecimiento del tubo polínico son afectados por contaminantes como monóxido de carbono (CO), dióxido de azufre (SO_2) y dióxido de nitrógeno (NO_2) aunque al mismo tiempo logra determinar que especies como *C. siliquastrum pollens. S. junceum* y *R. pseudoacacia*, no parecen ser afectadas por los contaminantes del aire.

4. Justificación

5. Hipótesis

6. Objetivos 42

4.1. Importancia del proyecto y Justificación

Debido a la problemática actual de contaminación ambiental y al deterioro de la calidad del aire de la ZMVM, es importante determinar los diversos tipos de bioaerosoles aerovagantes a los que se encuentra expuesta la población los cuales incrementan los riesgos a la salud. Entre las principales aeropartículas presentes en el aire se encuentran granos de pólenes alergénicos, los cuales al asociarse a contaminantes atmosféricos pueden potencializar la respuesta alérgica de personas sensibles. Asimismo, los contaminantes pueden modificar la composición física y química de los pólenes, causando pérdida de viabilidad, lo que repercute en la disminución de la biodiversidad de las especies.

5.1. Hipótesis

Diversos pólenes aerovagantes pueden ser utilizados como bioindicadores de contaminación ambiental, debido a que responden con cambios en su morfología y pérdida de viabilidad, a la exposición de gases y partículas contaminantes que alteran la calidad del aire de zonas industriales como el municipio de Tlalnepantla de Baz.

6.1. Objetivo

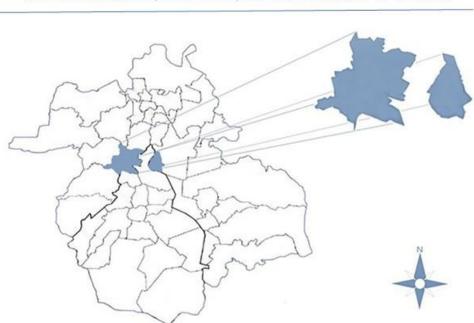
Determinar la diversidad de los tipos polínicos presentes en el aire del Municipio de Tlalnepantla de Baz, analizar su morfología y viabilidad, y evaluar su posible uso como bioindicadores de contaminación ambiental.

6.1.1. Objetivos particulares

- Monitorear los granos de polen suspendidos en el aire del municipio de Tlalnepantla de Baz durante un periodo de 2 años.
- Identificar y cuantificar los tipos polínicos colectados del aire.
- Colectar polen de los principales tipos polínicos.
- Analizar por microscopia electrónica de barrido los pólenes colectados del aire, de las anteras y estróbilos para detectar cambios en la morfología y presencia de partículas adheridas a su exina, determinando su composición química mediante el análisis X-EDS.
- Determinar la viabilidad de los pólenes colectados de las anteras y/o estróbilos.
- Asociar la influencia de los parámetros meteorológicos como temperatura, humedad relativa y radiación UV con el desarrollo, maduración y dispersión de los pólenes en el aire durante el ciclo anual.
- Asociar la influencia de los principales contaminantes reportados para la zona de estudio con el desarrollo, maduración y dispersión de los granos de polen.
- Asociar los tipos polínicos tanto no alergénicos como alergénicos, así como aquellos con partículas adheridas a la exina con posibles riesgos a la salud.

7.1. Área de estudio

Tlalnepantla de Baz se encuentra en la porción septentrional del Valle de México dividido en dos secciones por la instrucción de territorio perteneciente a la CDMX. Localizado entre las coordenadas geográficas 19° 30′ y 19° 35′ de latitud norte y entre los 99° 05′ y 99° 15′ de longitud oeste con una extensión territorial de 83.74 km², colinda al norte y oriente con Ecatepec de Morelos; al sur y poniente con la Delegación Gustavo A. Madero mientras la parte poniente colinda al sur con la Delegación Azcapotzalco y con el municipio de Naucalpan, al norte con Cuautitlán Izcalli y Tultitlán y al poniente con Atizapán de Zaragoza (Figura 17). (Plan de desarrollo 2006).



Ubicación del municipio de Tlalnepantla de Baz dentro de la ZMVM

Figura 17: Ubicación de Tlalnepantla de Baz, dentro del Área Metropolitana del Valle de México.

7.1.1. Orografía

Las elevaciones que se extienden por la parte noroeste alcanzan alturas que van de los 2,300 a los 2,700 msnm y corresponden a las estribaciones de la Sierra de Monte Alto, prolongación de la Sierra de las Cruces, límite occidental de la Cuenca de México. Las principales elevaciones dentro de esta zona son los cerros del Tenayo, Tianguillo, Santa Cecilia, Tlayapa, Barrientos, Cerro Grande, Puerto, Tequesquináhuac, Atlalco y Cerro de la Cruz (Plan de desarrollo 2016).

7.1.2. Vegetación

La zona es considerada completamente urbanizada, pero cercana al área se encuentra zonas de amortiguamiento ambiental como la Sierra de Guadalupe, ocupando el 18.5 % del

territorio, presentando vegetación asociada a la agricultura, con cultivos temporales, permanentes y semipermanentes, así como vegetación asociada a bosques de encino y de encino asociado con vegetación secundaria arbustiva y herbácea (Plan de desarrollo 2016).

7.1.3. Hidrografía

Los ríos, Tlalnepantla, San Javier y Rio de los Remedios (como canal de desagüe), son las corrientes que cruzan el municipio, adicionalmente, existen tres espacios artificiales de regulación de drenaje pluvial regional: el Vaso Fresnos, el Vaso Carretas y el Vaso de Cristo, siendo superficies inundables donde el nivel del agua es variable dependiendo la intensidad anual de las lluvias (Plan de desarrollo 2016).

7.1.4. Estación de muestreo

La estación fue instalada dentro de la zona habitacional, Los Reyes Ixtacala, considerada por ser una zona ubicada entre: la zona industrial "Parque industrial San Nicolás" y la zona no urbanizada de preservación ecológica "Sierra de Guadalupe," como se muestra en la **Figura 18**, a su vez la estación se ubicó sobre la azotea de la torre académica dentro de la FES Iztacala como se muestra en la **Figura 19**, en las coordenadas 19°31'26.43"N, 99°11'23.01"W.



Figura 18: Distribución de los diferentes tipos de zonas dentro del municipio de Tlalnepantla de Baz. (tomado de Google Earth)

Ubicación de la estación de monitoreo aerobiológico, dentro de la FES Iztacala



Figura 19: Ubicación de la estación de monitoreo, sobre la azotea del edificio de enseñanza a distancia de la FES Iztacala. (tomado de Google Earth).

7.1.5. Datos climáticos y de contaminantes atmosféricos

7.1.5.1 Clima

El clima es cálido y templado en Tlalnepantla, presentando veranos lluviosos e inviernos secos; el clima es considerado Cwb según la clasificación climática de Köppen-Geiger. La temperatura media anual oscila alrededor de los 16.2 °C y es durante el verano donde ésta media aumenta elevándose a 18.5 °C; con máximas de hasta 27.3 °C en las estaciones secas y mínimas de hasta 10.3 °C en el periodo invernal (Plan de desarrollo 2016).

7.1.5.2 Precipitación

Las precipitaciones pluviales se concentran, hasta en un 80 por ciento, en los meses de junio, julio, agosto y septiembre, alcanzando una media total de 160.1 mm, mientras que durante el periodo invernal suman apenas una media de 5.1 mm. Al año el municipio recibe un total aproximado de 805 mm de lluvia (Plan de desarrollo 2016).

8.1. Monitoreo aerobiológico

El monitoreo aerobiológico se llevó a cabo por un periodo de dos años consecutivos, utilizando una trampa de esporas tipo Hirst (TEH, Burkard Manufacturing, UK), colocada a una altura de 10 metros sobre el edificio de enseñanza a distancia de la FES Iztacala ubicada en la colonia Los Reyes Iztacala del municipio de Tlalnepantla de Baz, Estado de México, utilizando la metodología general, mostrada en la **Figura 20** (Galán *et al.*, 2007, Olive, 2012).

Monitoreo aerobiológico | Monitoreo aerobiológico | Instalación de Burkard en zona de muestrea | Preparación de arobiológico por 2 años | Preparación de muestrea | Preparación de tambor en soporte de reloj | Trabajo de laboratorio | Desmonte de cinta de tambor días después | Trabajo de laboratorio | Desmonte de cinta de tambor | Preparación de datos polínicos | Anexo X

Figura 20: Proceso general de obtención de muestras y datos por medio de una trampa de esporas tipo Hirst

El funcionamiento de la trampa de esporas tipo Hirst (TEH, Burkard Manufacturing, UK), está basado en el fundamento teórico de succión e impactación, método que permite tener datos homologables independientes de las características biogeográficas y climáticas del área de estudio (Galán *et al.*, 2007; Olive, 2012).

La forma de trabajo de ésta trampa es por medio de una bomba de vacío que succiona 10 litros de aire por minuto a través de un orificio de 2 X 14 mm colocado en un cabezal, el cual está provisto de una veleta que orienta dicho orificio hacia la dirección en la que viene el viento como se muestra en la **Figura 21**; al interior de este cabezal se encuentra un soporte que sostiene un mecanismo de relojería, el cual se mueve a una velocidad de 2mm/h, realizándose un muestreo continuo del aire durante 24 h, 7 días a la semana, a su vez esté mecanismo sostiene un tambor o disco de aluminio provisto de una cinta tipo Melinex, impregnada de silicona disuelta en tetracloruro de carbono al 2%, en la cual se impactó la muestra, posteriormente está cinta fue retirada regularmente los lunes de cada semana a las 12:00 h, para ser llevada al laboratorio donde se preparó para analizarse al microscopio óptico, utilizando el método propuesto por la REA, base del protocolo de la REMA (Galán *et al.*, 2007; Olive, 2012).

Con este tipo de muestreo aerobiológico se pudo colectar los diferentes tipos polínicos presentes en el aire de la zona de muestreo, generando datos con los que se determinó la variación estacional e intradiaria de dichos tipos polínicos (Galán *et al.*, 2007; Olive, 2012).

Trampa de esporas tipo Hirst marca Burkard



Figura 21. Trampa de esporas tipo Hirst Burkard, así como esquema de funcionamiento basado en el fundamento teórico de succión e impactación (modificado de Red española de aerobiología 2016).

8.1.1. Preparación de las laminillas

Al retirar del disco de aluminio la cinta de celofán con la muestra impactada, ésta fue colocada sobre una regleta de acrílico marcada con medidas milimétricas equivalentes a horas y días, con el fin de sincronizar el horario de inicio y término del muestreo, posteriormente ésta cinta fue cortada cada 48 mm (equivalente a un día) sobre la marca de la regleta, obteniendo así ocho fragmentos los cuales fueron montados en portaobjetos, utilizando glicerogelatina con fucsina como medio de montaje (Galán *et al.*, 2007).

La glicerogelatina con fucsina como medio de montaje es ampliamente usado debido a sus características ópticas, durabilidad y compatibilidad con la silicona que es el medio en el que impacta la muestra; a su vez la aplicación de este medio sobre la muestra permite contrastar y resaltar los detalles de estructuras vegetales en este caso los granos de polen, obteniendo mejores identificaciones y conteos de los mismos. La composición de este medio consta de 57 mL de glicerina, 30 gr de gelatina, 3 gr de fenol y una pizca de fucsina básica, diluidos previamente en 80 mL de agua destilada a 80 °C; una vez montadas las laminillas fueron selladas por los bordes con laca esmalte transparente con la finalidad de mantenerlas inalterables a lo largo del tiempo (Recio, 1995; Galán *et al.*,2007).

8.1.2. Análisis cuantitativo y cualitativo por microscopia óptica

El análisis de las muestras aerobiológicos se llevó a cabo al microscopio óptico (Velab microscopes modelo VE-B5) a 400 aumentos.

Debido a que el recuento total de los granos de polen presentes en toda la preparación llevaría demasiado tiempo y de acuerdo con técnicas aprobadas por la REA, se diseñó un submuestreo, que consideró que el área de muestreó debe de representar el 10% del total de la preparación (Normativa de la European Aerollergen Network) (Galán *et al.*, 2007), por lo que 4 barridos equidistantes en forma horizontal y continuos a lo largo de toda la preparación como se muestra en la **Figura 22**, son suficientes para la identificación y

cuantificación de los tipos polínicos; los cuales para su identificación se utilizaron diversas claves de identificación como Moore *et al.* (1991), Roubik *et al.* (1991), Basset *et al.*, (2007), Trigo (2007) así como artículos especializados en el tema.

Transectos de lectura al microscopio óptico

Figura 22: Laminilla terminada correspondiente a 24 h, en la cual se encuentran marcados los puntos correspondientes a 4 transectos lineales y equidistantes utilizados para la lectura al microscopio óptico.

Para contar e identificar los granos de polen en el transcurso del día, se utilizó una rejilla de acrílico (manufactura REMA), la cual está marcada cada 2 mm con una escarbadura que delimita una hora, por lo que tiene marcado un total de 24 h, que totalizan el día completo de muestreo, contabilizando los granos de polen a lo largo de diferentes horas del día.

El número de granos de polen, así como el tipo polínico identificado se registra en un programa de contabilización de polen (diseño REMA), conforme se va realizando la lectura al microscopio. Los datos obtenidos se almacenan en la base de datos de la REMA.

La concentración polínica se expresó como una medida diaria de los granos de polen por metro cúbico de aire, multiplicando el conteo por un factor de corrección (que se determina mediante la razón del área total muestreada entre el área observada por el inverso del volumen de aire muestreado) para así obtener resultados homologables con los obtenidos en otros trabajos nacionales e internacionales (Anexo 1) (Galán *et al.*, 2007). Con el registro de los tipos polínicos colectados del aire se determinan los principales y más abundantes pólenes alergénicos a los que están expuestos los habitantes del municipio de Tlalnepantla de Baz.

Con los datos ya organizados se calculó el Índice Polínico Anual (IPA) para cada tipo polínico (Anexo 2) posteriormente, se calculó el Periodo Principal de Polinización (PPP) (ver Anexo 3) de los principales tipos polínicos los cuales fueron aquellos que superaron el 1% del IPA, una vez calculado este índice se procedió al cálculo de la variación intradiaria de los principales tipos polínicos como se muestra en el Anexo 4, así como el cálculo del índice de Distribución Intradiaria (IDI) como se muestra en el Anexo 5.

8.2. Factores Meteorológicos

Debido a la importancia de la relación de los datos polínicos con los factores meteorológicos, como humedad relativa, temperatura, precipitación, velocidad y dirección del viento, se llevó a cabo el análisis de los factores utilizando los datos tomados de la estación Tlalnepantla del Sistema de Monitoreo Atmosférico de la Ciudad de México (SIMAT, CDMX) y de la estación Azcapotzalco del Programa de Estaciones Meteorológicas del Bachillerato Universitario (PEMBU).

Con la finalidad de definir en forma adecuada la estacionalidad de los principales tipos polínicos se delimitaron dos temporadas una de secas y una de lluvias, donde la temporada de secas tiene un comienzo en octubre finalizando en marzo y a su vez la temporada de lluvias iniciando en abril y terminando en septiembre (García, 2003).

8.3. Obtención de polen

Después de un año de monitoreo aerobiológico y siguiendo la metodología general propuesta en la Figura 23 y con base en la concentración y variación estacional de los tipos polínicos obtenidos en el periodo (2014-2015), se determinaron los tres principales tipos polínicos que se encuentran presentes en el aire del municipio de Tlalnepantla de Baz, para posteriormente obtener el polen directo de anteras y estróbilos respectivamente de cada tipo polínico, a su vez éstos mismos tipos polínicos se identificaron en las muestras obtenidas del aire.

Metodología de análisis de polen

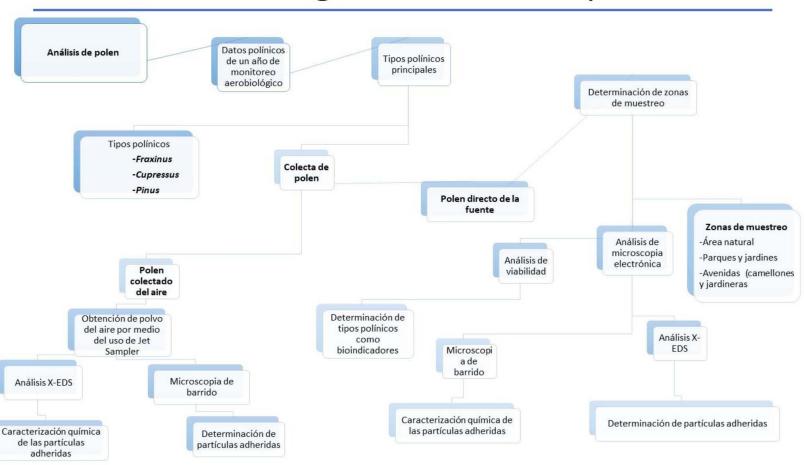


Figura 23. Metodología general del proceso de análisis de granos de polen de los principales tipos polínicos

8.3.1. Muestreo de polen de anteras y estróbilos

La colecta de flores (masculinas) y estróbilos, de los árboles de los principales tipos polínicos, se llevó a cabo en tres distintas zonas (**Figura 24**), con diferentes grados de contaminación descritas de la siguiente forma:

- Áreas naturales. Estas se consideraron como aquellas zonas que no muestran un alto impacto antropogénico y un casi nulo tránsito vehicular, las cuales fueron diferentes para cada tipo polínico, quedando de la siguiente manera:
 - o *Fraxinus uhdei:* áreas verdes reforestadas cercanas al pueblo de Villa del Carbón, municipio de Villa del Carbón, Estado de México.
 - o **Familia Cupressaceae**: el muestreo se llevó a cabo en el Parque Nacional el Chico en el estado de Hidalgo.
 - o *Pinus:* el muestreo de este tipo polínico se llevó a cabo dentro del el parque Nacional Cumbres del Ajusco, ubicado dentro de la delegación Tlalpan, Ciudad de México.
- Parques. Estás se denominaron como todas aquellas áreas verdes delimitadas en su perímetro y sin transito interno, lo cuales se localizaron dentro del perímetro de 50 kilómetros del área de monitoreo, tales como parques, escuelas y universidades, siendo para este estudio:
 - o Parque Adolfo López Mateos.
 - o FES Iztacala.
- Avenidas. Éstas se consideraron todas las áreas verdes cercanas a avenidas de alto tráfico vehicular, como camellones, áreas deportivas y jardineras.

Un ejemplo de estas zonas se puede observar en la **Figura 24**, como en la que se puede apreciar la diferencia en la cobertura y talle de los árboles de la familia **Cupressaceae**.

Dentro de cada una de las tres zonas de muestreo, se realizó la selección de 100 árboles por cada tipo polínico a analizar, sumando un total de 300 árboles por cada tipo polínico. Dichos árboles se caracterizaron por encontrarse en periodo de floración, con una altura aproximada de 10 m y un diámetro mínimo de 30 cm al fuste, sin daños en la corteza o coloraciones diferentes en las hojas si las presenta.

Zonas de muestreo

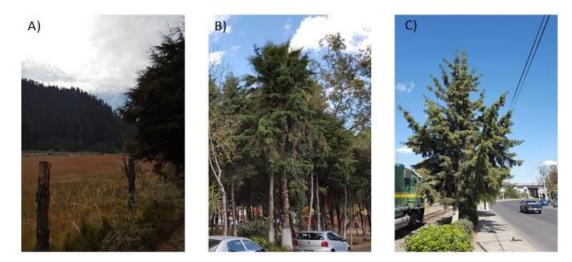


Figura 24. Zonas de muestreo donde se llevaron a cabo las colectas de estróbilos de la familia **Cupressaceae**, ejemplificando cada una de las zonas muestreadas. A) Área natural, B) Parques y jardines y C) Avenidas (camellones y jardineras).

Las estructuras colectadas se depositaron en bolsas de papel de estraza, para ser transportadas al laboratorio, posteriormente se colocaron sobre periódico para su desecación a temperatura ambiente por 72 h como se muestra en la **Figura 25**; finalmente se procedió a la obtención del polen, tamizando por gravedad las anteras de las flores o estróbilos en un tamiz del número 40 (luz de malla de 0.425 mm), para la limpieza de impurezas mayores y para obtener solo los granos de polen, que ya aislado fue dividido para las diferentes pruebas como viabilidad, germinación y microscopía electrónica (Duro *et al.*, 2013).

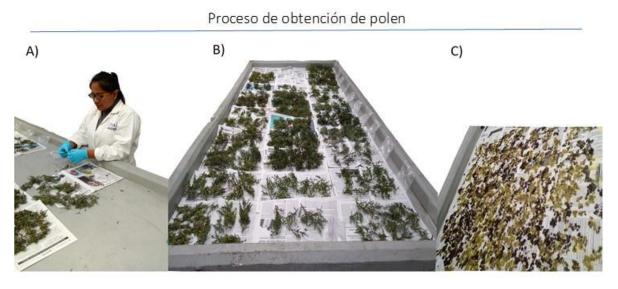


Figura 25. Proceso de secado de anteras y estróbilos con la finalidad de obtener el polen contenido. A) Limpieza de las muestreas, B) Secado por 72 h., C) Polen liberados.

8.3.2. Muestreo de polvo del aire con Jet sampler

Para la obtención de muestras de polvo del aire de la atmósfera de Tlalnepantla de Baz, se utilizó el muestreador Jet Sampler (Burkard Manufacturing, UK) (**Figura 26**), el cual es un muestreador de aeropartículas que permite colectar el polvo atmosférico dentro de un tubo Eppendorf de 1.5 mL, por medio de una boquilla que absorbe un flujo de aire a 800 l/min, realizándose el muestreo durante los periodos de polinización de los tipos polínicos más abundantes, con periodos de muestreo de ocho horas, logrando obtener un aproximado de 1 g de muestra, las cuales se mantuvieron en un desecador para eliminar el exceso de humedad que pudiera interferir en su análisis al microscopio electrónico (González y Noguez, 2009).

Jet Sampler (Burkard Manufacturing, UK)



Figura 26. Muestreador Jet Sampler modificado por REMA. A) Jet Sampler, B) Modificación en acrílico para la recolección de partículas en un tubo Eppendorf de 1.5mL., C) Tubo Eppendorf con muestra colectada.

8.4. Microscopia Electrónica de Barrido (MEB) y análisis X-EDS

Con la finalidad de determinar la adherencia de partículas a la exina de los granos de polen y los factores que modifican su composición se llevó a cabo un análisis de MEB, sobre las muestras colectadas por el Jet, así como con los tipos polínicos colectados directamente de las flores y estróbilos, haciéndolas cumplir con dos condiciones estar secas y ser conductoras.

El proceso de secado se llevó a cabo en un desecador por 48 h, lo que preservo al máximo la estructura original de la muestra, una vez secas se montaron en un porta muestras haciendo uso de la cinta adhesiva doble cara de cobre que posteriormente por medio de una evaporadora fueron recubiertas con grafito-oro con la finalidad de hacer la muestra conductora (González y Noguez, 2009).

Una vez preparadas las muestras tanto del polvo del aire como las obtenidas de las flores y estróbilos se observaron y analizaron por medio de un Microscopio Electrónico de Barrido, (Hitachi SU 1510). En el reconocimiento de las muestras tanto las directas de flores y estróbilos como colectadas del aire se identificaron las principales estructuras de los tipos polínicos a analizar identificando así también las principales características morfológicas, además de materiales adheridos ala exina.

Con la finalidad de conocer la composición química tanto de las estructuras biológicas como de las partículas adheridas a la exina se llevó a cabo un análisis X-EDS por medio del microscopio MEB JEOL35CF que determinó los principales elementos que componen las estructuras antes mencionadas.

8.5. Análisis de Viabilidad

De las muestras obtenidas de anteras y estróbilos se tomaron muestras para evaluar el grado de viabilidad utilizando el procedimiento de tinción con cloruro de 2,3,5-trifenil-2H-tetrazolio (TTC test). La preparación de este reactivo se llevó a cabo pesando un gramo de TTC, disuelto en una solución de sacarosa al 20%, una vez preparado el reactivo se colocó en un frasco color ámbar y se refrigeró hasta su uso (Rodríguez y Dafni 2000; Gottardini *et al.*, 2004, Duro *et al.*, 2013).

De las muestras de polen colectadas se tomó una pequeña porción siendo lo suficiente para ser diluida en una gota del reactivo TTC, los cuales se colocaron en un portaobjetos como se muestra en la **Figura 27**, para posteriormente incubarse por 24 h, a una temperatura de 48 °C., pasado este tiempo las muestras se revisaron al microscopio óptico diferenciando los pólenes viables en color rojo de los no viables, que no presentan una coloración como se muestra en la **Figura 28**. (Gottardini *et al.*,2004, Duro *et al.*,2013).

Muestras incubadas con TTC

Figura 27. Se presentan muestras de polen incubadas con TTC por 24 h, previas a su revisión al microscopio óptico.

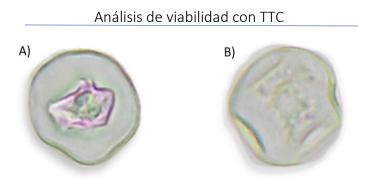


Figura 28. Se presentan granos de polen tras prueba de viabilidad. A) Grano de polen viable. B) Grano de polen no viable.

Sin embargo, la aplicación de ésta técnica no mostró una diferenciación clara entre los pólenes viables con respecto de los pólenes no viables perdiendo ésta tenue coloración en un promedio de 24 h, no permitiendo el análisis de las muestras días posteriores a la reacción, motivo por el cual se llevó a la modificación de la técnica, obteniéndose mejores resultados aplicando procedimiento descrito en la **Figura 29**.

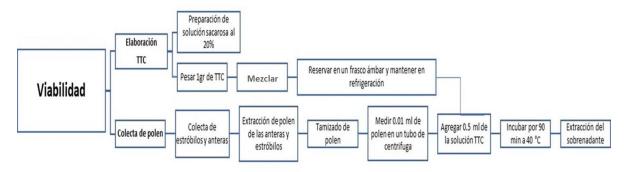


Figura 29. Procedimiento de análisis de viabilidad de muestras de polen de anteras y estróbilos.

Los granos de polen se colocaron en tubos Eppendorf, uno por cada muestra de cada tipo polínico, que para este estudio fueron tres tipos (*Fraxinus, Cupressus* y *Pinus*) colectando un total de 300 muestras por cada tipo polínico de cada una de las tres áreas muestreadas (áreas naturales, parque y jardines y avenidas) teniendo un total de 1800 muestras analizadas las que posteriormente se promediaran para obtener el porcentaje de viabilidad y germinación; a cada tubo Eppendorf se le agregaron unas gotas de TTC hasta aforar a 0.05 mL, seguidamente se agitó cada muestra vigorosamente utilizando un vortex, hasta homogenizar cada muestra, para posteriormente incubar las muestras a 50 °C en completa oscuridad por 90 min, pasado ese tiempo la reacción tiñó de color rojo el contenido del tubo Eppendorf en las muestras con un alto porcentaje de viabilidad como se muestra en la **Figura 30** (Viéitez, 1952; Duro *et al.,2013*).



Figura 30: Reacción de la prueba cloruro de 2,3,5-trifenil-2H-tetrazolio (TTC test), sobre granos de polen contenidos en tubos Eppendorf mostrando una tinción de color rojo en donde el polen es viable. A) Polen de áreas naturales, B) Polen de Parques, C) Polen de avenidas.

Pasado el tiempo de incubación y a temperatura ambiente se dejó precipitar la muestra, una vez formado el precipitado el sobrenadante fue retirado con una pipeta Pasteur, ya retirado el sobrenadante, al precipitado se le agregaron unas gotas de glicerogelatina con etanol hasta aforar a 0.05 mL para ser agitado vigorosamente en el vortex hasta homogeneizar la muestra.

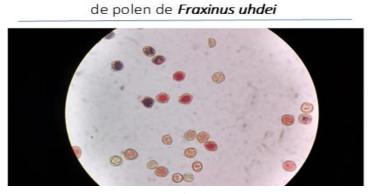
8.5.1. Montaje de las muestras

Con la muestra homogeneizada y siguiendo el procedimiento descrito por Trigo et al. (2007), las muestras fueron extraídas de los tubos con ayuda de una pipeta Pasteur colocándola en un portaobjeto y montándolo con glicerogelatina sobre un cubreobjetos, una vez sólida la preparación fue sellada en los bordes con laca barniz para mantenerla inalterable en el tiempo, logrando con este procedimiento mantener el color de la reacción dentro de cada polen por más tiempo, permitiendo el análisis de las muestras días después a la reacción.

8.5.2. Análisis de las muestras de viabilidad

Las láminas se examinaron en un microscopio óptico a 400 aumentos observándose que los granos de polen muestran diferentes grados de tinción **Figura 31**, que fueron de rojo muy obscuro a rosa muy claro, por lo que se consideró la escala de color usada en los trabajos llevados a cabo por Rodríguez (2000), Gottardini (2004) y Duro (2013) clasificándolos de la siguiente forma:

- Morados: no viables, ya que el teñido se considera como una filtración esto debido a daños ya presentes en la estructura de la membrana.
- Rojos: viables, la reacción se llevó a cabo favorablemente ya que la estructura de la membrana se encuentra integra pudiendo llevar a cabo la reducción del TTC a leucoformas de forzan color rojo al interior del grano de polen.
- Rosa y hialino: no viable, considerado así debido a que la estructura membrana se encuentra comprometida y no puede llevar a cabo en su totalidad la reducción de TTC a forzan, llevando a cabo está en forma parcial o nula.



Reacción de la prueba TTC en granos

Figura 31. Se presentan los granos de polen *Fraxinus uhdei* los cuales muestran distintos grados de coloración siendo los teñidos de color rojo los considerados como viables.

Sin embargo, debido a que cada tipo polínico tiñe de forma diferente dependiendo la subdivisión a la que pertenezca (Angiosperma o Gimnosperma) se decidió llevar a cabo una escala de color que ayudó a identificar con mayor facilidad el grado de viabilidad, quedando de la siguiente forma como se muestra en las **Figuras 32, 33 y 34**:

8.5.2.1. Escala de tinción en Angiospermas

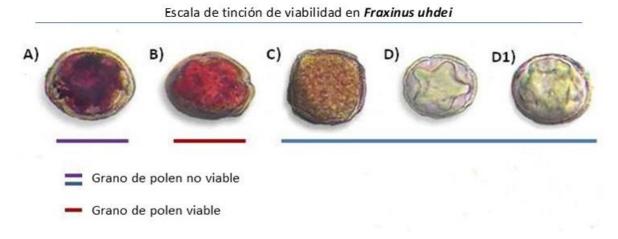


Figura 32. Se presentan los diferentes tonos tinción en la prueba de viabilidad aplicada a los granos de polen de *Fraxinus uhdei*, así como los considerados viables y no viables. A) Polen de color morado, no viable, B) polen de color rojo, viable, C) Polen de color naranja, no viable, D) Polen de hialino, vista polar, no viable, D1) polen hialino, vista ecuatorial no viable.

8.5.2.2 Escala de tinción en Gimnospermas



Figura 33. Se presenta la escala de tinción con la prueba TTC que muestra la viabilidad de los granos de polen de la familia Cupressaceae. A) Contenido citoplasmático del grano de polen en color rojo, viable B) contenido citoplasmático al interior de la nexina, en color rojo, viable C) Grano de polen con núcleo rojo, viable, D) Grano de polen con núcleo estrellado, color rojo, viable, E) Grano de polen núcleo estrellado, color naranja, no viable, F) Grano de polen núcleo estrellado, hialino, no viable, G) Núcleo hialino al interior de nexina, no viable, H) Núcleo hialino, no viable.

Escala de tinción de viabilidad de Pinus



Figura 34. Se presenta los tonos de tinción al aplicar la prueba TTC., sobre granos de polen del género *Pinus*, siendo el de color rojo intenso el considerado como viable, mientras que el de color naranja y hialino no viables.

8.5.3. Análisis y porcentaje de viabilidad

El análisis consto en contar cuantos granos de polen viable hay dentro de una muestra de 300 granos de polen que conformaban una muestra representativa de los 300 árboles para así obtener un promedio (Gottardini *et al.*, 2004, Duro *et al.*, 2013).

8.6. Germinación

Para el análisis se preparó el medio de germinación descrito por Brewbaker y Kwack (1963), constituido por sacarosa al 10% (p/v), $Ca(NO_3)_2$ al 0,03% (p/v), KNO_3 al 0,01% (p/v), MgSO₄ al 0,02% (p/v), ácido bórico al 0,01% (p/v) y un gramo de agar; homogeneizada la solución se vertió en cajas Petri hasta solidificar el gel a temperatura ambiente.

Listas las cajas se espolvoreo el polen de las muestras de los tipos polínicos de las tres distintas zonas, para después incubarse en cámara húmeda a 26 °C con distintos tiempos de incubación según el tipo polínico, quedando de la siguiente forma:

Fraxinus: 24 h.
Cupressus: 8 días.
Pinus: De 48 a 72 h.

Al término del tiempo de incubación, se cortaron secciones de 0.05 mm para ser montadas en un portaobjeto para su análisis al microscopio, contabilizando en cada una de las muestras de las tres zonas los pólenes germinados en un conteo de 300 granos de polen, considerándose como germinados aquellos en que el tubo polínico sobrepaso el doble del radio del grano de polen como se muestra en la **Figura 35**.

Polen germinado de *Fraxinus uhdei*



Figura 35. Grano de polen germinado, de la especie *Fraxinus uhdei*, el cual se extiende más del doble del radio del polen.

Con la finalidad de apoyar a la adecuada identificación de los granos de polen germinados se presentan éstos en la **Figura 36.**



Figura 36: pólenes germinados. A) polen de *Fraxinus*, B) polen de *Pinus*, C) polen de *Cupressus*.

9. Resultados

9.1 Monitoreo aerobiológico

El monitoreo aerobiológico en el municipio de Tlalnepantla de Baz se llevó a cabo de septiembre 2014 a septiembre 2016 en el cual se lograron determinar un total de 37 tipos polínicos, pertenecientes a 25 géneros y 8 familias, teniendo una diferencia de dos tipos polínicos debido a que la familia **Asteraceae**, presenta tres formas consideradas cada una como tipo polínico.

Para ordenar los tipos polínicos se llevó a cabo una clasificación en la que se formaron grupos según el origen de cada uno, quedando dos grupos árboles y herbáceas, por lo que la información anterior se reclasifica de la siguiente manera, del total de los 37 tipos polínicos 23 de ellos pertenecen al grupo de árboles, 12 al grupo de herbáceas y 2 de ellos son indeterminados; del grupo de árboles 9 tipos polínicos superaron el 1% del total de granos de polen, siendo los tipos polínicos género *Fraxinus*, la familia *Cupressaceae* y el género *Alnus* los más abundantes y considerados altamente alergénicos, mientras que para el grupo de herbáceas, solo la familia de Poaceae superó el 1% y también es considerado altamente alergénico. Estos datos se muestran en la **Tabla 1**.

Para una mejor comprensión de la actividad polínica en el aire de la atmósfera del municipio, el monitoreo se dividió en dos periodos anuales de septiembre de 2014 a septiembre de 2015 y de septiembre de 2015 a septiembre de 2016.

Durante el periodo (2014-2015) se determinó un Índice Polínico Anual (IPA) de 34,507 granos de polen, presentando un pico máximo el 22 de febrero de 2015 con una concentración media anual de 606 granos de polen por metro cubico de aire (gp/m³), durante este periodo se detectaron 31 tipos polínicos de los cuales 20 pertenecieron al grupo de árboles, 9 al de herbáceas y 2 fueron indeterminados, a su vez de los 37 tipos polínicos , 12 superaron el 1%, de éstos, 10 pertenecen al grupo de árboles y 2 al de herbáceas; En cuanto abundancia los tipos polínicos *Fraxinus* con un 39.54% y la familia **Cupressaceae** con el 26% del total IPA anual fueron los más abundantes, mientras que para herbáceas **Poaceae** con el 4% y **Amaranthaceae** con el 1.03% del IPA anual fueron los más abundantes, como se puede ver en la **Tabla 2**.

Para el periodo (2015-2016), se contabilizó un IPA de 28,382 granos de polen, con una concentración media anual de 532 gp/m³ el 3 de febrero de 2016. Se determinaron 33 tipos polínicos de los cuales 19 pertenecieron al grupo de árboles, 11 al de herbáceas y dos fueron indeterminados; la abundancia estuvo en el grupo de árboles por el género *Fraxinus* con el 44.37% y la familia **Cupressaceae** con el 22.03% del IPA anual respectivamente, mientras que el más abundante para el grupo de herbáceas, fue **Poaceae** con el 3.19 % del IPA anual para ese periodo como se observa en la **Tabla 3**.

Tabla 1. Diversidad de tipos polínicos registrados en el aire de Tlalnepantla de Baz, en el periodo de muestreo continúo 2014-2016.

Taxón (Tipo polínico)	Total gp anual	% Total anual			
		Árboles			
Fraxinus	26238	41.721			
Cupressaceae	15224	24.208			
Alnus	4611	7.332			
Casuarina	3312	5.266			
Quercus	2995	4.762			
Pinus	2763	4.393			
Schinus	964	1.533			
Morus	960	1.526			
Populus	868	1.380			
Ricinus	489	0.778			
Myrtaceae	317	0.504			
Ligustrum	97	0.154			
Liquidambar	80	0.127			
Salix	52	0.083			
Rosaceae	32	0.051			
Grevillea robusta	28	0.045			
Acer	26	0.041			
Prunus	12	0.019			
Buddleia	7	0.011			
Tilia	6	0.010			
Acacia	4	0.006			
Fabaceae	2	0.003			
Ulmus	1				
		Herbáceas			
Poaceae	2343				
Amaranthaceae	559				
Asteraceae Anthemideae	268	0.426			
Urticaceae	218	0.347			
Astereraceae Heliantus	134	0.213			
Ambrosia	106	0.169			
Rumex	83				
Artemisa	22				
Thypha	13				
Astereraceae Lactuceae	11				
Reseda	7	0.011			
Mimosa	1	0.002			
		Indeterminados			
Indostaminada escición					
Inderteminado revisión	32				
Indeterminado	4	0.006			

Tabla 2. Diversidad de tipos polínicos registrados en el aire del municipio de Tlalnepantla de Baz en el periodo anual (2014-2015).

Taxón (Tipo polínico)	Total gp anual	6 Total anual
		Árboles
Fraxinus	13644	39.540
Cupressacea	8972	26.001
Almus	2369	6.865
Casuarina	1907	5.526
Quercus	1849	5.358
Pinus	1112	3,223
Populus	704	2,040
Ricinus	419	1,214
Morus	415	1.203
Schinus	399	1.156
Myrtaceae	190	0.551
Liquidambar	71	0,206
Ligustrum	69	0.200
Rosaceae	25	0.072
Grevillea robusta	22	0.064
Safor	22	0.064
Tifia	6	0.017
Acacia	4	0.012
Buddleia	2	0.006
Fabaceae	2	0.006
Ulmus	1	0.003
		Herbáceas
Poaceae	1439	4.170
Amaranthaceae	356	1.032
Astereraceae Anthemidae	219	0.635
Urticaceae	116	0.336
Astereraceae Heliantus	61	0.177
Ambrosia	60	0.174
Artemisa	9	0.026
Astereraceae Lactuceae	7	0.020
Reseda	7	0.020
	In	determinado
Inderteminado revisión	27	0.078244994
Indeterminado	2	0.005795925

Tabla 3. Diversidad de tipos polínicos registrados en el aire del municipio de Tlalnepantla de Baz en el periodo anual (2015-2016).

Taxón (Tipo polínico)	Total gp anual	% Total anual
		Árboles
Fraxinus	12594	44.373
Cupressacea	6252	22.028
Alnus	2242	7.899
Pinus	1651	5.817
Casuarina	1405	4.950
Quercus	1146	4.038
Schinus	565	1.991
Morus	545	1.920
Populus	164	0.578
Myrtaceae	127	0.447
Ricinus	70	0.247
Salix	30	0.106
Ligustrum	28	0.099
Acer	26	0.092
Prunus	12	0.042
Liquidambar	9	0.032
Rosaceae	7	0.025
Grevillea robusta	6	0.021
Buddleia	5	0.018
		Herbáceas
Poaceae	904	3.185
Amaranthaceae	203	0.715
Astereraceae Anthemidae	102	0.359
Rumex	83	0.292
Astereraceae Heliantus	73	0.257
Atereraceae Anthemidae	49	0.173
Ambrosia	46	0.162
Artemisa	13	0.046
Thypha	13	0.046
Astereraceae Lactuceae	4	0.014
Mimosa	1	0.004
	1	ndeterminado
Inderteminado revisión	5	0.018
Indeterminado	2	0.007

9.2. Variación estacional

9.2.1 Variación estacional de pólenes totales

El análisis de los datos de las concentraciones diarias del periodo de muestreo 2014-2016 se usó para graficar la variación estacional de granos de polen total, describiendo cambios en las concentraciones de polen a lo largo del periodo estudiado quedando representadas en la **Figura 37**.

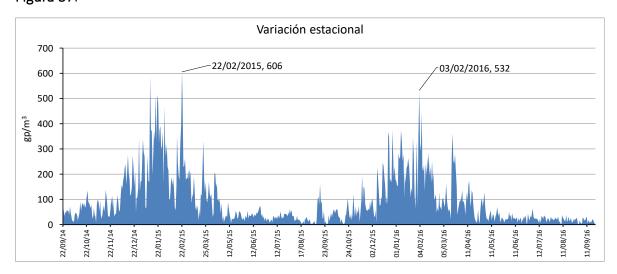


Figura 37. Variación estacional de granos de polen total, colectados del aire del municipio de Tlalnepantla de Baz correspondiente al periodo de muestreo 2014-2016.

Como se observa en la Figura anterior, los periodos de mayor concentración de polen total durante este periodo de monitoreo se observaron en la temporada de secas y la menor en la temporada de lluvias, comportándose ambos periodos anuales de forma similar alcanzando puntos máximos en el mes de febrero para ambos periodos.

9.2.2. Variación estacional por periodo anual de los principales grupos (árboles y herbáceas)

Al dividir las concentraciones en los grupos de árboles y herbáceas se observó que los granos de polen del grupo de árboles son aquellos que promueven el mayor aporte a la concentración de granos de polen total durante la temporada de secas, mientras que la concentración en la temporada de lluvias disminuye, observándose un mayor aporte de polen del grupo de las herbáceas como se muestra en la **Figura 38**.



Figura 38. Se observa en amarillo la variación estacional de polen total. En azul la variación estacional de granos de polen del grupo de árboles y en verde la variación estacional de granos de polen del grupo de herbáceas.

Como se observa en la **Figura 38**, durante la temporada de secas los picos en las concentraciones están dadas principalmente por los árboles describiendo una marcada estacionalidad similar en ambos periodos.

9.2.3. Variación estacional de los principales tipos polínicos Fraxinus, Cupressus y Pinus

Debido a que el mayor aporte de polen en la concentración total es dado por el polen del grupo de árboles, se analizó la variación estacional de los principales tipos polínicos para la temporada de secas los cuales fueron el género *Fraxinus* y la familia *Cupressaceae* mientras que para la temporada de lluvias fue el género *Pinus*.

En este análisis se pudo observar que el polen de del género *Fraxinus* es el más abundante en la temporada de secas presentando altas concentraciones en los meses de noviembre a marzo en ambos periodos anuales, representado el 39.54% del Índice Polínico Anual (IPA), con una concentración anual de 13,644 granos de polen (gp) para el periodo 2014-2015, mientras que para la familia *Cupressus* representó el 26% del IPA para el mismo periodo con una concentración anual de 8,972 gp, hacia la temporada de lluvias el tipo polínico *Pinus* fue el género de árboles con mayor concentración en ésta temporada representando el 3.22% con una concentración anual de 1,112 gp como se muestra en la *Figura 39*.

Para el periodo 2015-2016 durante la temporada de secas el tipo polínico *Fraxinus* representó el 39.54% del IPA con una concentración anual de 13,644 gp., mientras que la familia *Cupressus* evidencia el 22.03% con una concentración anual de 6,252 gp., hacia la temporada de lluvias el género *Pinus* manifestó 5.8% del IPA con una concentración 1,651 gp como se muestra en la *Figura 39*.



Figura 39. Comparación de la variación estacional de polen total con la variación estacional de los principales tipos polínicos.

Como se observa en la **Figura 39** el polen del género *Fraxinus* es aquel que aporta mayor concentración durante la temporada de secas, mientras que el aporte más alto en la temporada de lluvias está dado por el polen del tipo **Pinus**, al mismo tiempo se observó una marcada estacionalidad para a cada tipo polínico, la cual es similar en cada periodo anual.

9.2.3.1. Variación estacional del tipo polínico Fraxinus

El polen de *Fraxinus* contribuyó con 39.54% del IPA correspondiente al periodo (2014-2015) contabilizando un total de 13,644 gp., delimitándose un Periodo Principal de Polinización (PPP) del 12 de octubre de 2014 al 7 de marzo de 2015, con una duración de 147 días, alcanzando un pico máximo el 22 de febrero del 2015 con una concentración de 466 gp/m³ de aire, como se muestra en la **Figura 30**, presentando un periodo de pre-pico de 133 días y pos-pico de 13 días.

Para el segundo periodo (2015-2016), la contribución al IPA de este tipo polínico fue del 44.37%, contabilizando un total de 12,594 gp; al delimitar el PPP se obtuvo que este comenzó el 17 de noviembre de 2015, finalizando el 26 de marzo del 2016, con una duración de 131 días, teniendo 78 días de pre-pico y 52 días de pos-pico, presentándose un pico máximo el día 3 de febrero del 2016, con una concentración de 406 gp/m³ de aire, como se observa en la **Figura 39**.

9.2.3.2. Variación estacional periodo del tipo polínico Cupressaceae

Durante el periodo de monitoreo (2014-2015) este tipo polínico fue el segundo más importante registrado en el aire de la atmósfera del municipio de Tlalnepantla de Baz, alcanzando un porcentaje del 26% del IPA correspondiente a ese periodo, contabilizando un total de 8,972 gp, definiendo un PPP con una duración de 336 días, comenzando el ocho de octubre del 2014 para finalizar el 10 de septiembre del 2015, presentando un periodo de pre-pico de 93 días y un pos-pico de 242 días, alcanzando un pico máximo el 11 de enero de 2015 con una concentración de 401 gp/m³ de aire, tal como se muestra en la **Figura 39**.

En el periodo de monitoreo (2015-2016), este tipo polínico se mantiene como el segundo más importante, contribuyendo con 22% del total del IPA para este periodo, contabilizando un total de 6,252 gp presentando un PPP de 321 días, comenzando el 03 de octubre del 2015 y finalizando el 18 agosto del 2016 teniendo 111 días previos al pico y un pos-pico de 209 días, siendo 22 de diciembre de 2015, el día en que se presentó el pico máximo, con una concentración de 156 gp/m³ de aire, como se muestra en la **Figura 39**.

9.2.3.3. Variación estacional del tipo polínico Pinus

En el periodo (2014-2015) este tipo polínico representó el 3.22% del IPA de este periodo, con un conteo de 1,112 gp; al calcular el PPP para este tipo polínico se obtuvo una duración de 187 días comenzando el 15 de diciembre del 2014 y finalizando el 19 de junio del 2015, con 129 días pre-pico y un pos-pico de 57 días, el pico máximo de concentración se dio el 23 de abril del 2015, con una concentración de 42 gp/m³ de aire como se muestra en la **Figura 39**.

En el periodo (2015-2016) este tipo polínico representó el 5.82% del IPA de este periodo, con un conteo de 1651 gp, definiendo un PPP de 208 días, comenzando el día 21 de diciembre de 2015 y finalizando el 15 de julio de 2016, presentando un pre-pico de133 días y un pos- pico de 74 días; el pico máximo se dio el día 02 de mayo de 2016 con una concentración de 91 gp/m³ de aire como se muestra en el **Figura 39**.

9.3. Variación intradiaria

Con la finalidad de conocer el comportamiento a lo largo del día de las concentraciones de los principales tipos polínicos (*Fraxinus*, Cupressaceae y Pinus) se llevó a cabo el análisis de la variación intradiaria, en el que se observaron las variaciones en las concentraciones en un periodo de 24 h, a su vez, también se calculó el índice de distribución intradiaria (anexo 5) para cada tipo polínico y cada periodo anual.

9.3.1 Variación intradiaria del tipo polínico Fraxinus

El análisis de variación intradiaria de este tipo polínico mostró un comportamiento similar en ambos periodos anuales, sin embargo, éstos se diferenciaron en porcentajes de concentración ya que el periodo 2014-2015 mostró mayores porcentajes en comparación con el periodo 2015-2016 como se observa en la **Figura 40**.

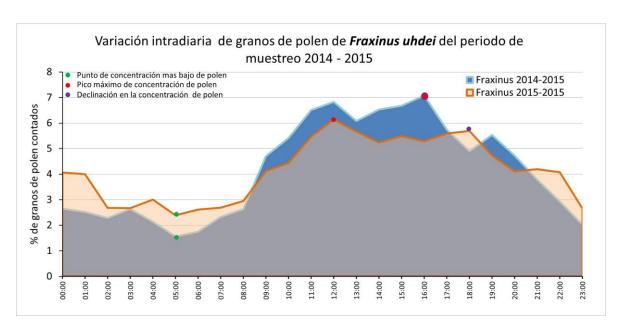


Figura 40. Variación intradiaria del porcentaje de los granos de polen contados de *Fraxinus uhdei* en los periodos (2014-2015) y (2015-2016), se muestra el inicio, pico máximo y declinación de los porcentajes en la concentración de granos de polen.

Durante el periodo (2014-2015) se observó que las concentraciones más bajas de este tipo polínico son a la 5:00 h alcanzando concentraciones elevadas alrededor de las 12:00 h manteniéndose elevadas a lo largo del día y alcanzando su máximo alrededor de las 16:00 h posteriormente comienza la declinación como se observa en la **Figura 40**, a su vez en este periodo se presentó un Índice de Distribución Intradiaria (IDI) de 0.05.

En el periodo (2015-2016) el comportamiento fue similar al periodo anterior con la diferencia de cambios en las concentraciones; en cuanto a los horarios se observó que el punto más bajo en las concentraciones es igual que en el periodo anterior alcanzando su pico máximo a las 12:00 h, manteniéndose las concentraciones relativamente altas hasta las 18:00 h cuando comienza la reducción en las concentraciones. Para este periodo anual se calculó un IDI 0.03.

Las diferencias en las concentraciones que se observaron fueron en primer lugar una disminución del 7.7% en la concentración de polen en el periodo (2015-2016) con respecto (2014-2015), la siguiente diferencia fue un incremento en la concentración de polen matutino, ya que en el periodo (2014-2015) las concentraciones en la primera mitad del día no excedieron de más del 2%, mientras que para el periodo (2015-2016) se observó una aumento de éstas alcanzando el 3%.

En cuanto a la segunda mitad del día, el polen vespertino del periodo (2014-2015) presentó concentraciones por derriba del 6%, las cuales se mantuvieron de las 12:00 h hasta las 16:00 h., mientras que el periodo (2015-2016) se caracterizó por ser más constante ya que, aunque las concentraciones no sobrepasaron el 5% éstas se mantuvieron por más tiempo, comenzando desde las 12:00 h hasta las 18:00 h.

9.3.2. Variación intradiaria del tipo polínico Cupressaceae

En el análisis de la variación intradiaria del tipo polínico **Cupressaceae** se observaron diferencias de un año a otro, tanto en el comportamiento como en las concentraciones, ya que para el periodo 2015-2016 y como se observa en la **Figura 41** éstas son menores, pero más constantes a lo largo del día.

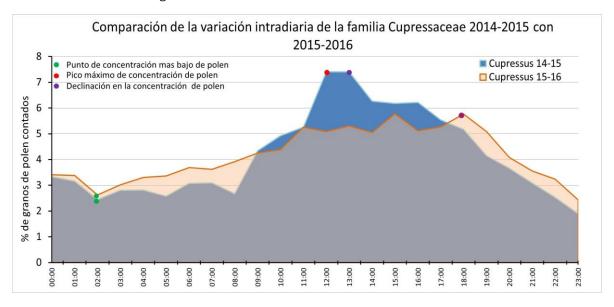


Figura 41. Se muestra la variación intradiaria del porcentaje de los granos de polen contados de la familia **Cupressaceae** en los periodos (2014-2015) y (2015-2016), en el que se puede observar el inicio, pico máximo y declinación de los porcentajes de la concentración de granos de polen.

En el periodo (2014-2015) el punto más bajo en las concentraciones se da a las 2:00 h manteniéndose por debajo del 3% hasta las 8:00 h pasando este horario las concentraciones se incrementaron paulatinamente hasta alcanzar más del 7% llegando a su pico máximo a las 12:00 h continuando con altas concentraciones por un corto periodo de tiempo hasta las 13:00 h, cuando se observó la reducción de las concentraciones de este tipo polínico como se muestra en la **Figura 41**. Para este periodo el IDI calculado fue de 0.04.

En comparación con el periodo anterior, el periodo (2015-2016) se observó más homogéneo como se nota en la **Figura 41**, que al igual que en el periodo anterior las concentraciones comenzaron a incrementarse alrededor de las 2:00 h., sin presentar pausas como en el periodo anterior, mostrándose un aumento paulatino hasta alcanzar su pico máximo a las 18:00 h, posteriormente se presentó la reducción de las concentraciones. Si bien en este periodo las concentraciones no excedieron del 6% se mantuvieron constantes por más tiempo, a diferencia del periodo anterior; abarcando desde las 11:00 h hasta las 18:00 h cuando este porcentaje comenzó a declinar. El cálculo del IDI de este periodo arrojó un valor de 0.03.

9.3.3. Variación intradiaria del tipo polínico Pinus

En el análisis de la variación intradiaria del tipo polínico **Pinus** del periodo 2014- 2016, se pudieron observar diferencias entre cada año estudiado con respecto al comportamiento de las concentraciones a lo largo del día las cuales se observaron más constantes y homogéneas en el periodo anual 2015-2016 en comparación con el 2014-2015 tal como se mostró en la **Figura 42.**

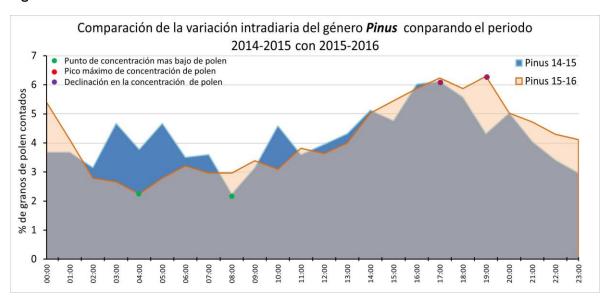


Figura 42. Se muestra la variación intradiaria del porcentaje de los granos de polen contados del género **Pinus** en los periodos (2014-2015) y (2015-2016), en el que se puede observar el inicio, pico máximo y declinación de los porcentajes de la concentración de granos de polen.

En el periodo (2014-2015) el punto más bajo en las concentraciones se da a las 8:00 h., presentando varios picos hasta alcanzar su máximo a las 17:00 h con un porcentaje mayor al 6%, para posteriormente obtenerse el descenso de las concentraciones. El cálculo del IDI para este periodo fue de 0.03.

En el periodo (2015-2016), se observó que las concentraciones aumentaron ligeramente con respecto al periodo anterior además de mostrarse más homogéneas, manteniéndose por más tiempo a lo largo del día. El punto más bajo en las concentraciones se da a las 2:00 h., manteniendo un incremento paulatino a lo largo del día hasta alcanzar un pico máximo alrededor de las 19:00 h como se observa en la **Figura 42**. El cálculo del IDI para este periodo dio un valor de 0.04.

9.4. Factores meteorológicos

9.4.1. Precipitación Pluvial (pp)

Los datos de precipitación pluvial, obtenidos por CONAGUA para el Estado de México se compararon con la variación estacional, tanto de polen total como de los principales tipos polínicos, con la finalidad de observar la influencia de este parámetro sobre los periodos de polinización.

Durante el periodo anual 2014-2015 y durante la temporada de secas se reportaron un total de 209.91 mm de pp mientras que en la temporada de lluvias se presentó un total de 530.7 mm de pp. Para el periodo 2015-2016 se reportaron 142.4 mm de pp para la temporada de secas y para la temporada de lluvias un total de 776.9 mm de pp.

Comparando éstos datos con los de variación estacional de polen total y de cada tipo polínico del periodo 2014-2015 y aplicando el coeficiente de correlación de Pearson, se observó un coeficiente de correlación negativo en ambas temporadas tanto para polen total como para el tipo polínico *Fraxinus*, sin embargo, el tipo polínico *Cupressaceae* mostró una relación negativa para la temporada de secas y de tipo positivo para la temporada de lluvias, en el tipo *Pinus* se observó una relación positiva como se muestra en la *Tabla 4* sin embargo los niveles de significancia son diferentes para cada temporada y tipo polínico como se muestra en la *Tabla 4*.

En el periodo 2015-2016 el coeficiente de correlación presentó una relación de tipo negativo para polen total así como para *Fraxinus* y Cupressaceae, sin embargo, para el tipo polínico Pinus presento una relación de tipo negativo durante la temporada de secas y positivo durante la temporada de lluvias, como se muestra en la **Tabla 4**, sin embargo, el nivel de significancia no es muy alto como se muestra en la **Tabla 4**.

9.4.2. Humedad relativa.

El análisis de la humedad relativa (Hr), mostró que en los periodos de máxima concentración polínica los porcentajes son bajos, siendo adecuados para la liberación de los granos de polen. Estos porcentajes se dan en la temporada de secas, período caracterizado por la ausencia o breve presencia de precipitaciones, que para el periodo (2014-2015) la Hr reportó un rango del 19.78% al 80%, mientras que para el periodo (2015-2016), el rango fue menor 15.83 % a 77.58 %.

En ambos periodos anuales estudiados, así como en las dos temporadas se observó un nivel de significancia de P≤ 0.0001 con un coeficiente de correlación que describe una relación negativa como se muestra en la Tabla 4.

9.4.3. Temperatura

El comportamiento de la temperatura a lo largo del periodo de muestreo 2014-2016 es similar en los dos años que duró el estudio, mostrando una temperatura media anual de 16.7 °C para el periodo (2014-2015), con una temperatura mínima de 9.56 °C el 5 de enero de

2015 y una máxima de 23.64 °C el 11 de mayo de 2015, mientras que para el periodo (2015-2016) la temperatura mínima fue de 8.0 °C el 20 de enero de 2016 y una máxima de 23.26 °C el 7 de abril de 2016.

Se calculó el coeficiente de correlación de Pearson, comparando temperatura con concentraciones de polen total, *Fraxinus*, Cupressaceae y tipo Pinus para el 2014-2015 (Tabla 4), obteniéndose en el periodo 2014-2015 un índice de correlación que describe una relación positiva para ambas temporadas, a su vez el nivel de significancia para las dos temporadas fue de P≤ 0.0001 como se muestra en la Tabla 4.

En el periodo 2015-2016 se observó un nivel de significancia de P≤ 0.0001 para ambas temporadas así como para polen total y los principales tipos polínicos como se muestra en la Tabla 4, en cuanto al coeficiente de correlación éste describe una relación negativa para polen total, Sin embargo en los tipos polínicos *Fraxinus* y Cupressaceae el coeficiente de correlación muestra una relación negativa para la temporada de secas y positiva para la temporada de lluvias, en cuanto al tipo polínico Pinus el coeficiente de correlación describe una positiva para ambas temporadas.

Tabla 4. Resultados del coeficiente de correlación de Pearson. A) periodo 2014-2015, B) periodo 2015-2016.

Correlación de los factores meteorológicos con la variación estacional de polen total y principales tipos polínicos del periodo 2014-2015 durante la temporada de secas y lluvias

		Precip	itación	Humeda	ad relativa	Temp	eratura
		Índice de correlación	Nivel de significancia	Índice de correlación	Nivel de significancia	Índice de correlación	Nivel de significancia
Dalam tatal	Secas	-0.63667349	0.0110	-0.46	P≤ 0.0001	0.09	P≤ 0.0001
Polen total	Lluvias	-0.8469637	0.0170	-0.39	P≤ 0.0001	0.34	P≤ 0.0001
Fraxinus	Secas	-0.72165925	0.0410	-0.46	P≤ 0.0001	0.11	P≤ 0.0001
	Lluvias	-0.940383	0.0130	-0.41	P≤ 0.0001	0.20	P≤ 0.0001
	Secas	-0.34855068	0.0130	-0.21	P≤ 0.0001	0.02	P≤ 0.007
Cupressaceae	Lluvias	0.56006003	0.0690	-0.04	P≤ 0.0001	0.09	P≤ 0.0001
Tipo Pinus	Secas	0.24748975	0.0410	-0.08	P≤ 0.0001	0.30	P≤ 0.0001
	Lluvias	-0.93487245	0.8520	-0.66	P≤ 0.0001	0.54	P≤ 0.0001

Correlación de los factores meteorológicos con la variación estacional de polen total y principales tipos polínicos del periodo 2015-2016 durante la temporada de secas y lluvias

		Precipitación		Humeda	ad relativa	Temperatura		
		Índice de correlación	Nivel de significancia	Índice de correlación	Nivel de significancia	Índice de correlación	Nivel de significancia	
Dalam tatal	Secas	-0.7683	P≤ 0.005	-0.37	P≤ 0.0001	-0.15	P≤ 0.0001	
Polen total	Lluvias	-0.7134	P≤ 0.129	-0.43	P≤ 0.0001	-0.02	P≤ 0.0001	
r	Secas	-0.8173	P≤ 0.020	-0.40	P≤ 0.0001	-0.29	P≤ 0.0001	
Fraxinus	Lluvias	-0.7534	P≤ 0.047	-0.22	P≤ 0.0001	0.05	P≤ 0.0001	
	Secas	-0.6866	P≤ 0.09	-0.11	P≤ 0.0001	-0.06	P≤ 0.0001	
Cupressaceae	Lluvias	-0.5060	P≤ 0.013	-0.38	P≤ 0.0001	0.31	P≤ 0.0001	
T. D.	Secas	-0.9499	P≤ 0.283	-0.28	P≤ 0.0001	0.39	P≤ 0.0001	
Tipo Pinus	Lluvias	0.1897	P≥ 0.608	-0.61	P≤ 0.0001	0.30	P≤ 0.0001	

9.4.4. Vientos

En el municipio de Tlalnepantla de Baz los vientos predominantes fueron similares para ambos periodos anuales, caracterizándose por la dominancia de vientos del noroeste, presentado velocidades, que oscilan entre 0.5 m/s (1.8 km/h) a los 5.7m/s (20.5 km/h) seguidos de los vientos de dirección norte y suroeste como se muestran en las **Figuras 43 y 44.**

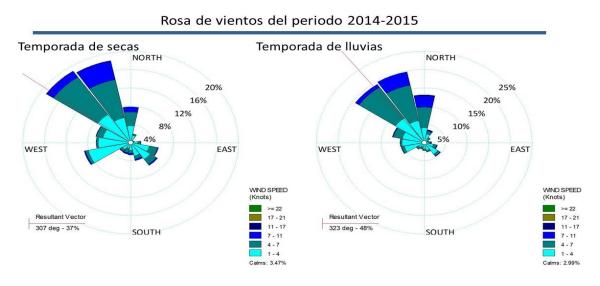


Figura 43. Rosa de vientos correspondientes al periodo anual 2014-2015 para la temporada de lluvias y secas. Monitoreo aeropolinológico (2014-2016) del municipio de Tlalnepantla de Baz.

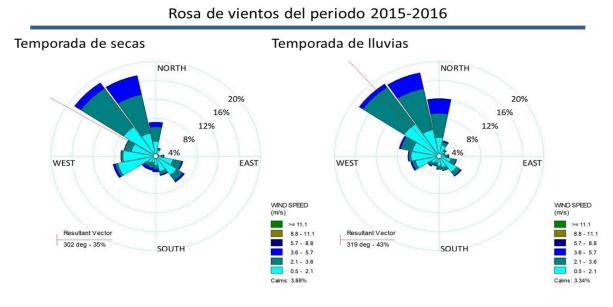


Figura 44. Rosa de vientos correspondientes al periodo anual 2015-2016 para la temporada de lluvias y secas. Monitoreo aeropolinológico (2014-2016) del municipio de Tlalnepantla de Baz,

9.5. Contaminantes atmosféricos

Con la finalidad de conocer las concentraciones de contaminantes, en las que se encuentran los granos de polen durante sus periodos de polinización, se decidió analizar y comparar la variación estacional de granos de polen total con los principales contaminantes en la atmósfera del municipio de Tlalnepantla de Baz, considerando los contaminantes Monóxido Nitrógeno (NO), Dióxido de Nitrógeno (NO2), Óxidos de Nitrógeno (NOx), Dióxido de Azufre (SO2), Ozono (O3), Monóxido de Carbono (CO), así como partículas menores de 10 μ m (PM10) para dicho análisis.

Los datos de éstos contaminantes fueron proporcionados por el sistema de monitoreo Atmosférico (SIMAT) de la CDMX, el cual mantiene un monitoreo continuo por medio de diversas estaciones colocadas en las delegaciones de la CDMX y área metropolitana. El análisis se realizó comparando la variación estacional de los granos de polen total con las bases de datos de cada contaminante de la estación Tlalnepantla de la Red Automática de Monitoreo Atmosférico (RAMA) del SIMAT.

Realizadas las comparaciones se pudo observar que el comportamiento de los distintos contaminantes fue similar para ambos periodos anuales en los que se compone el monitoreo 2014-2016, presentando altas concentraciones en la temporada de secas y luego bajan durante la temporada de lluvias, durante este breve periodo de bajas concentraciones de contaminantes se observan los picos máximos de concentración polínica de al menos dos tipos polínicos (*Fraxinus* y Cupressus) como se observa en la Tabla 5.

A su vez este análisis también mostró que en el periodo anual (2014-2015) las concentraciones de los contaminantes son mayores en comparación con el periodo (2015-2016), sin embargo, durante los picos máximos de concentración polínica, las concentraciones de los distintos contaminantes tienden a descender, llevándose a cabo en la temporada de secas.

El análisis se realizó comparando los datos de la variación estacional total de periodo de monitoreo 2014-2016 con los datos de cada contaminante para dicho periodo, así mismo, los datos también se compararon con los datos de los principales tipos polínicos (*Fraxinus*, **Cupressus** y *Pinus*) como se muestra en la **Tabla 5**.

Correlación de contaminantes con la variación estacional de polen total y variación estacional de géneros estudiados del periodo 2014-2016 durante la temporada de secas y lluvias

		CO NO		N	NO ₂ O ₃		SO ₂		PM10				
		Índice de correlación	Nivel de significancia	Índice de correlación	Nivel de significancia	Índice de correlación	Nivel de significancia	Índice de correlación	Nivel de significancia	Índice de correlación	Nivel de significancia	Índice de correlación	Nivel de significancia
Delegande	Secas	-0.0079	P≤0.0001	-0.0632	P≤0.0001	0.0263	P≤0.0001	0.1993	P≤0.0001	-0.0830	P≤0.0001	0.1886	P≤0.0001
Polen total	Lluvias	0.1300	P≤0.0001	0.2281	P≤ 0.05	0.0921	P≤ 0.05	0.1278	P≤0.001	0.1330	P≤0.0001	0.2292	P≥0.05
Functions	Secas	-0.0079	P≤0.0001	-0.0632	P≤0.0001	0.0263	P≤0.0001	0.1993	P≤0.0001	-0.0830	P≤0.0001	0.1886	P≤0.0001
Fraxinus	Lluvias	0.1300	P≤0.0001	0.2281	P≤0.0001	0.0921	P≤ 0.05	0.1278	P≤0.001	0.1330	P≤0.0001	0.2292	P≤0.001
Cummanua	Secas	-0.0079	P≤0.0001	-0.0632	P≤0.05	0.0263	P≤0.0001	0.1993	P≤0.0001	-0.0830	P≤0.0001	0.1886	P≤0.05
Cupressus	Lluvias	0.1300	P≤0.0001	0.2281	P≤0.0001	0.0921	P≤0.05	0.1278	P≤0.001	0.1330	P≤0.0001	0.2292	P≤0.0001
District	Secas	-0.0079	P≤0.0001	-0.0632	P≤0.0001	0.0263	P≤0.0001	0.1993	P≤0.0001	-0.0830	P≤0.0001	0.1886	P≤0.0001
Pinus	Lluvias	0.1300	P≤0.0001	0.2281	P≤0.0001	0.0921	P≤ 0.05	0.1278	P≤0.001	0.1330	P≤0.0001	0.2292	P≤0.0001

SeT

Tabla 5: Resultado del análisis estadístico y coeficiente de correlación de Pearson de los contaminantes atmosféricos con la variación estacional de polen total y principales tipos polínicos.

9.5.1. Monóxido de Carbono (CO)

Las concentraciones de este contaminante durante la temporada de secas oscilaron de 0.11 a 1.91 ppm, que fueron ligeramente más altas que en la temporada de lluvias en la cual se reportaron valores que van de 1 a 1.87 ppm, el análisis de éstos datos también mostró que durante la temporada de secas cuando las concentraciones de este contaminante son mayores, se presentan los picos polínicos como se muestra en la **Figura 45** siendo *Fraxinus* y **Cupressus** los que principalmente se presentan en ésta temporada como se muestra en la **Tabla 6**.



Figura 45. Variación estacional de granos de polen total en comparación con la variación estacional de monóxido de carbono del periodo de monitoreo 2014-2016.

El análisis estadístico de este contaminante por medio de la prueba t de Student, mostró un nivel de significancia menor a $P \le 0.0001$ como se muestra en la **Tabla 5**, a su vez, al aplicar el análisis de correlación de Pearson, se observó un coeficiente de correlación que describió una relación negativa para la temporada de secas tanto para polen total como para los principales tipos polínicos, mientras que en la temporada de lluvias la relación descrita fue positiva como se muestra en la **Tabla 5**.

9.5.2. Monóxido de Nitrógeno (NO)

En el periodo de monitoreo 2014-2016 se reportaron concentraciones de este contaminante que van de 1.33 a 67.79 ppb para la temporada de secas mientras que para la temporada de lluvias los valores oscilaron entre 1.45 a 49.41 ppb, observándose que en el periodo de polinización (temporada de secas) las concentraciones son mayores a las alcanzadas en la temporada de lluvias como se observa en la **Figura 46**, periodo en el cual se da el mayor aporte de polen a la atmósfera dado por los tipos polínicos *Fraxinus* y Cupressus, como se muestra en la **Tabla 6**.



Figura 46: Variación estacional de granos de polen total en comparación con la variación estacional de monóxido de nitrógeno del periodo de monitoreo 2014-2016.

Al calcular el coeficiente de correlación de Pearson tanto para el polen total como para los principales tipos polínicos se encontró un nivel de significancia con una $P \le 0.0001$, sin embargo al analizar éstos datos por medio del coeficiente de correlación de Pearson, se observó que durante la temporada de secas los datos de polen total y de polen de los principales tipos polínicos en comparación con los datos de este contaminante, mostraron un coeficiente de correlación negativo como se muestra en la **Tabla 5**, a su vez en la temporada de lluvias el coeficiente de correlación describe una relación positiva.

9.5.3. Dióxido de Nitrógeno (NO₂)

Durante el periodo de monitoreo las concentraciones de este contaminante en la temporada de secas fueron de un mínimo de 2.28 a 55.41 ppb mientras que en la temporada de lluvias éstas oscilaron de 1 a 48.59 ppb, al igual que con los contaminantes anteriores las concentraciones más altas se dan en la temporada de secas, periodo en que los picos polínicos son más frecuentes como se muestra en la **Figura 47**, y en la **Tabla 6**.

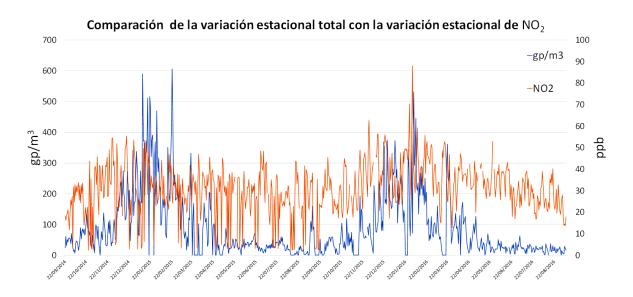


Figura 47: Variación estacional de granos de polen total en comparación con la variación estacional de dióxido de nitrógeno del periodo de monitoreo 2014-2016.

El análisis estadístico de los datos por medio del estadístico t de Student mostró una diferencia significativa tanto para el polen total como los principales tipos polínicos en la temporada de secas con un valor de $P \le 0.05$ en cuanto a la temporada de lluvias también se encontró diferencia significativa con un valor de $P \le 0.0001$.

El análisis de los datos por medio del índice de correlación de Pearson dio como resultado un coeficiente de correlación que describe una relación positiva tanto para la temporada de secas como de lluvias, como se muestra en la **Tabla 5**.

9.5.4. Ozono (O₃)

Durante el estudio este contaminante mostró concentraciones que van de 1.37 a 36.58 ppb en la temporada de secas, mientras que en la temporada de lluvias las concentraciones oscilaron entre 2.66 y 48.54 ppb, observándose que las altas concentraciones se dan en la temporada de lluvias, mientras que las bajas se dan en la temporada de secas las cuales coinciden con los periodos de polinización de los principales tipos polínicos como se muestra en la **Figura 48**, a su vez en **Tabla 6** se presentan los efectos de este contaminante.



Figura 48. Variación estacional de granos de polen total en comparación con la variación estacional de ozono del periodo de monitoreo 2014-2016.

En cuanto al análisis estadístico por medio de la prueba t de Student, mostró un nivel de significancia menor a $P \le 0.001$ para ambas temporadas, tanto para polen total como para los principales tipos polínicos, en cuanto al coeficiente de correlación se obtuvo un coeficiente de correlación negativo en la temporada de secas mientras que para la temporada de lluvias el coeficiente de correlación describió una relación positiva como se muestra en la **Tabla 5**.

9.5.5. Dióxido de Azufre (SO₂)

Durante el periodo de monitoreo 2014-2016 las concentraciones de este contaminante en la temporada de secas oscilaron entre 1.37 y 37.7 ppb mientras que en la temporada de lluvias las concentraciones variaron entre 1.28 y 25.16 ppm, al igual que con los contaminantes anteriores éste presento concentraciones altas durante la temporada de secas, coincidiendo con los periodos de polinización como se muestra en la **Figura 49**, observándose en este periodo mayor concentración de los tipos polínicos *Fraxinus* y **Cupressus**, los cuales presentan diversos efectos como se muestra en la **Tabla 6**.



Figura 49. Variación estacional de granos de polen total en comparación con la variación estacional de dióxido de azufre del periodo de monitoreo 2014-2016.

El análisis estadístico t de Student para este contaminante mostró un nivel de significancia menor a $P \le 0.0001$ para polen total como para los principales tipos polínicos, en cuanto al coeficiente de correlación durante la temporada de secas se obtuvo un coeficiente de correlación que describió una relación negativa mientras que para la temporada de lluvias el coeficiente de correlación describió una relación positiva como se muestra en la **Tabla 5**.

9.5.6. Partículas menores de 10 µm (PM₁₀)

En el análisis de las partículas menores de $10~\mu m$ (PM $_{10}$) para el periodo de monitoreo 2014-2016 se observaron concentraciones que oscilaron entre 1.33~y 126.16 microgramos/metro cúbico ($\mu g/m^3$) durante la temporada de secas mientras que para la de lluvias las concentraciones oscilaron entre 3.12~y 72.91. Las altas concentraciones de éste contaminante en la temporada de secas coinciden con las elevadas cantidades de polen en la atmósfera como se muestra en la **Figura 50** que a su vez están representadas en su mayor parte por polen de los tipos *Fraxinus* y Cupressus, los cuales evidencian diversos efectos como se muestra en la **Tabla 6**.

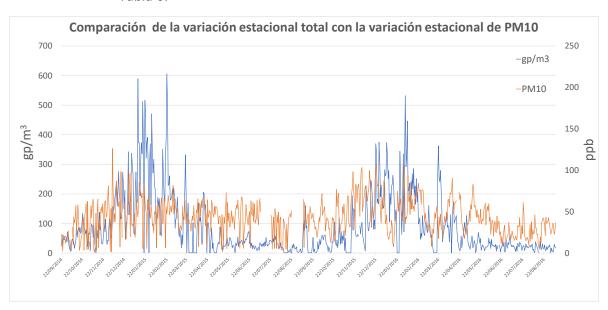


Figura 50. Variación estacional de granos de polen total en comparación con la variación estacional de monóxido de carbono del periodo de monitoreo 2014-2016.

El análisis estadístico, mostró un nivel de significancia menor a $P \le 0.05$ para el polen total como para los principales tipos polínicos. En cuanto al coeficiente de correlación de Pearson dio como resultado un coeficiente de correlación positivo en ambas temporadas para polen total y los principales tipos polínicos, como se muestra en la **Tabla 5**.

Efecto de los contaminantes sobre granos de polen

	Efe	cto			
Contaminante	Durante el desarrollo	Por exposición	Descripción del efecto	Autores	Características observada en el grano de polen
Monóxido de carbono	Х		Sub desarrollo de estructuras florales como tapetum que promoviendo el adelgazamiento de la exina	Thérese <i>et al.,</i> 1991	Adelgazamiento del grosor de la exina en granos de polen de la familia Cupressaceae
Óxidos de nitrógeno	X	X	Promueve cambios morfológicos y químicos así como el adelgazamiento de la exina por exposición	Motta <i>et al.,</i> 2004	Adelgazamiento del grosor de la exina en granos de polen de la familia Cupressaceae y tipo polínico Pinus
Dióxido de Azufre	X	X	Perdida de viabilidad y potencial de germinación	Manning & Feder (1976), Chichiriccó & Picozzi (2007), Goncalves <i>et al</i> ., (2014)	Reducción del potencial de germinación y viabilidad en los granos d polen colectados en avenidas
Ozono		X	Fragilidad de la exina y aumento del potencial alergénico	Gilles <i>et al</i> . (2012), Beck <i>et al</i> . (2013), Masuch <i>et al</i> . (2007), Suárez <i>et al</i> . (2008).	Se observaron exinas fracturadas o rotas al microscopio óptico en los que en algunos caso libero el material citoplasmático
PM 10		X	Cambios en la morfología y química por adherencia de partículas y reacción con óxidos presentes en la atmosfera	El-Ghazaly <i>et al.</i> (1955), Womiloju <i>et al.</i> (2003), Shahali <i>et al.</i> (2013), Sénéchal <i>et al.</i> (2015).	se observo la adherencia de partículas a la exina de los principales tipos polínicos los cuales <i>Fraxinus uhdei</i> y Cupressus son considerados alergénicos

Tabla 6. Efectos de los diversos contaminantes sobre los granos de polen

9.6. Descripción de los principales tipos polínicos

9.6.1. Fraxinus uhdei

9.6.1.1. Identificación

La identificación taxonómica de la especie se llevó a cabo por medio del Herbario Izta, de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, perteneciente a la Universidad Nacional Autónoma de México, con especímenes correspondientes al municipio de Tlalnepantla de Baz, que bajo el folio FES7HI/048/2016 en los registros 42812 IZTA y 42813 IZTA (ver **Anexo 6**), los especímenes fueron identificados como *Fraxinus uhdei* (Wenz.) Lingelsh 1920.

La taxonomía de ésta especie se describe de la siguiente forma:

Taxonomía

Reino: Plantae Subreino Tracheobionta División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Asteridae
Orden: Lamiales
Familia: Oleaceae
Tribus: Oleeae
Subtribus Fraxininae
Género: Fraxinus

Sección: *Melioides*

Especie: Fraxinus uhdei (Wenz.) Lingelsh.1920

El género fue descrito por primera vez por Linneo en 1753 y en la actualidad se han determinado basándose en caracteres moleculares han confirmado que este género es monofilético, el cual, se desprende de la tribu **Oleeae**; donde dicho genero se ha delimitado en seis secciones Dipetaleae, *Fraxinus*, Melioides, Ornus, Pauciflorae y Sciadanthus (Wallander *et al.*, 2008).

Bajo este criterio la especie *Fraxinus uhdei* (Wenz.) Lingelsh., pertenece a la sección *Melioides* como se describe en la **Figura 51**, sección que se caracteriza por presentar plantas dioicas, con inflorescencias paniculiforme, axilar, anterior a la formación de hojas, Flores unisexuales, monoclamídeas, apétalas con una polinización anemófila y semillas alojadas en una cavidad circular, como se puede observar en el esquema de la **Figura 53** (Hinsinger *et al.*, 2007; Wallander *et al.*, 2008).

Árbol filogenético del género Fraxinus

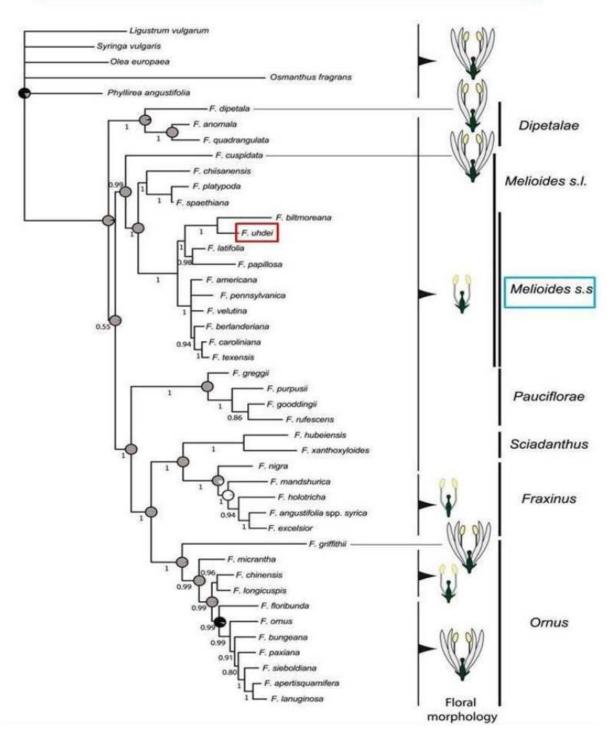


Figura 51. Se presenta el árbol filogenético del género *Fraxinus* en donde se muestra la ubicación de la especie *Fraxinus uhdei* perteneciente a la sección *Melioides,* así como la forma de su estructura floral. Fuente: modificado de (Hinsinger *et al.*, 2007).

9.6.1.2. Descripción morfológica de la especie Fraxinus uhdei (Wenz.) Lingelsheim.

Fraxinus uhdei (Wenz.) Lingelsheim., es un árbol de origen mexicano conocido como de tipo caducifolio y dioico, con una vida aproximada de 80 a 100 años, los árboles adultos presentan una altura aproximada de 35 a 40 m, con un diámetro de 0.5 a 2.5 m de diámetro; la corteza de este árbol en su etapa juvenil es de color gris mientras que el adulto presenta una corteza rugosa, longitudinalmente estriada, su follaje es denso de color verde oscuro cambiando a color amarillento en otoño, teniendo una cobertura de 10 a 15 m, características que se pueden apreciar en la **Figura 52** (Francis, 1990; Rodríguez y Cohen, 2003).

Árbol de Fraxinus uhdei (Wens.) Lingelshein



Figura 52: Árbol de *Fraxinus uhdei* (Wenz.) Lingelsheim. A) Árbol de *Fraxinus uhdei* (Wenz.) Lingelsheim en temporada de lluvias sin presencia de flores. B) Árbol de *Fraxinus uhdei* (Wenz.) Lingelsheim, masculino en periodo de floración, temporada de secas. Fuente: material fotográfico REMA Tomada por Biol. José Juan Alcivar Saldaña.

Las ramas de esta especie son de tipo simpódico finamente pubérulas o casi glabras, de color rojizas oscuras, las hojas son compuestas oblonga a lanceolada casi elíptica, que pueden alcanzar hasta los 30 cm, con presencia de 5 a 9 peciolos, los cuales miden de 5 a 15 cm de largo por 1,5 a 5 cm de ancho agudos o atenuados hacia el ápice redondeados acunados hacia la base, el envés de la hoja suele ser más pálido; la costa así como los nervios laterales suelen ser manifiestos glabros en el haz y casi siempre finamente pubérulos a lo largo de nervadura pinnada y ligeramente aserrado tal y como se muestra en la **Figura 53**, éstas hojas por lo regular caen en la temporada de secas entre los meses de diciembre a enero (Francis, 1990; Rodríguez y Cohen, 2003;).

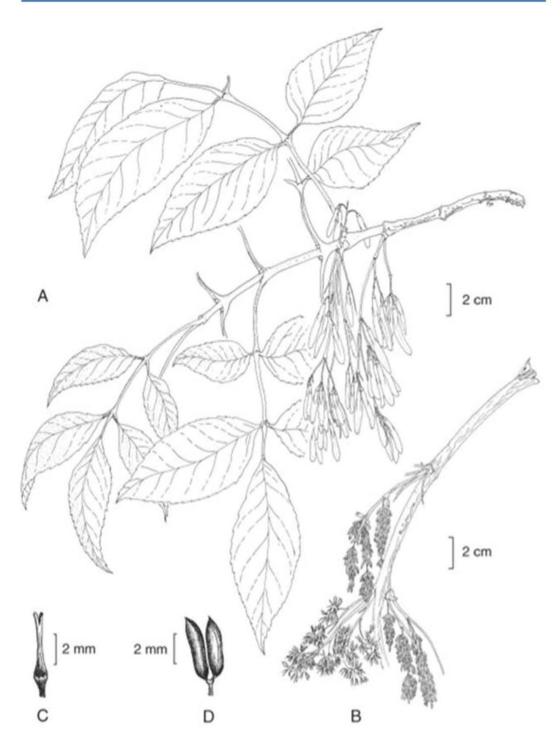


Figura 53: Esquema morfológico de *Fraxinus uhdei* (Wenz.) Lingelsheim. A) rama con hojas y frutos, B) rama con inflorescencias masculinas, C) flor femenina, D) flor masculina. Ilustrado por Miguel Carmona (A y B) y por Humberto Sánchez Córdova (C y D) (Rzedowski y Calderón, 2004).

Durante la temporada de secas entre los meses de octubre a marzo se presenta el periodo de floración, teniendo mayor presencia en los meses de diciembre a febrero, desarrollando inflorescencias tipo panícula, la cual mide entre 5 a 20 cm de largo, integrada por un gran número de flores que en el caso de las masculinas son muy densas con brácteas lineares a elípticas de 2 a 6 mm de largo de color ferrugíneo (de color oxido) y ligeramente pubérulas, con pedicelos filiformes de 1 a 3 mm de largo; sin presencia de cáliz con dos estambres de filamentos filiformes de menos 1 mm de largo con anteras de 3 a 5 mm de largo. En el caso de las flores femeninas, presenta un cáliz turbinado de 0.5 a 1 mm de largo como se muestra en la **Figura 54** (Francis, 1990; Rodríguez y Cohen, 2003;).

Inflorescencia de Fraxinus uhdei



Figura 54. Se muestran los distintos tipos de inflorescencia de *Fraxinus uhdei*. A) inflorescencia femenina, B) Flor individual femenina, C) inflorescencia masculina, D) flor individual masculina. Material fotográfico REMA tomada por Biol. José Juan Alcivar Saldaña.

El crecimiento y desarrollo de las semillas se lleva a cabo en los meses de mayo a julio, formando un fruto tipo sámara de forma lanceolada con una sola semilla de forma oblongada, parecidas a diminutas alas, donde la semilla es más pequeña que el ala la cual es de color verde claro o pajizo, éstos frutos en la madures miden de 2.5 a 5.5 cm de largo y de 4 a 6 mm de ancho (Francis, 1990; Rodríguez y Cohen, 2003; Olive, 2012).

9.6.1.3. Requerimientos ecológicos.

El área de distribución natural del fresno (*Fraxinus uhdei*) va desde el área central occidental de México hasta Guatemala, desde las latitudes 25° a 14° N, como se muestra en la **Figura 55**. Dentro de la ZMVM es una especie muy dominante con una amplia distribución en parques, avenidas y calles ocupando un 19% del total de la cobertura vegetal (Francis, 1990; Rodríguez y cohen, 2003). Estos árboles se desarrollan en climas templados y ambientes húmedos, con requerimientos de media sombra a soleados, con temperaturas que van de los 15 a los 25 °C, siendo una especie poco resistente a temperaturas bajas y heladas. En cuanto a suelo es una especie que tiene preferencia por los arcillosos, húmedos y profundos teniendo un mejor desarrollo en aquellos cercanos a arroyos, aluviales o coluviales de poca pendiente y simas secas en México, su distribución se encuentra arriba de los 2400 m (Francis, 1990).

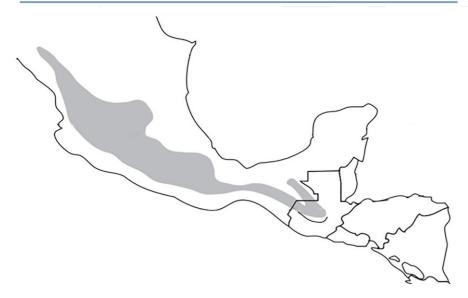


Figura 55. Se muestra la distribución natural aproximada en México y Guatemala de *Fraxinus uhdei* (Wenz.) Lingelsheim. Fuente: Francis 1990.

9.6.1.4. Morfología polínica Fraxinus uhdei (Wenz.) Lingelsh.

El polen de *Fraxinus uhdei* es considerado como de pequeño a mediano, con un diámetro ecuatorial de 27 μ m y un eje polar de 15-35 μ m de forma circular elíptico a cuadrangular en vista polar, siendo polar y radiosimétrico, oblado-esferoidal a subprolado.

Este polen presenta una exina tectada con un espesor de 1.5 -2 µm, finamente reticulada, con lúmenes irregulares en tamaño y distribución que van de 1- 1.5 µm, las ectoaverturas son estrechas y largas de 15-20 µm de longitud de tipo colpo, siendo el grano de polen desde tricolpado hasta pentazonocolpado como se muestra en la **Figura 56** (Moore *et al.*, 1991; Jones *et al.*, 1995; Smith, 2000; Trigo *et al.*, 2007; Basset *et al.*, 2007; Docampo-Fernández, 2008; Fuentes, 2012).

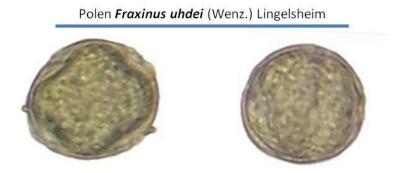


Figura 56. Vista ecuatorial y polar del grano de polen de *Fraxinus uhdei* (Wenz.) Lingelsh, vistos al microscopio óptico. Material fotográfico de la REMA.

9.6.1.5. Alergenicidad

El polen de *Fraxinus uhdei* es considerado uno de los pólenes más alergénicos debido a la presencia de diferentes alérgenos entre los que destaca Fra e1 el cual es homologa a Ole e1 presente en toda las especies de la familia de las **Olaceae** a la que pertenece *Fraxinus uhdei* por lo cual la presencia de este polen en la atmósfera es causante de un gran número de casos de rinitis asma conjuntivitis y afecciones respiratorias (Bosquet *et al.*,1985; Obispo *et al.*, 1993; Alché y Rodriguez, 1997; Gastaminza *et al.*, 2005; Olive *et al.*, 2012).

9.6.2. Cupressus lusitanica Mill

9.6.2.1 Identificación

La especie *Cupressus lusitánica* Mill fue identificada taxonómicamente por la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, por medio del herbario IZTA bajo el folio FES7HI/048/2016 con el registro 42810 y 42811 IZTA (**Anexo 6**), por medio de ejemplares propios de Tlalnepantla de Baz; especie que se clasifica taxonómicamente de la siguiente manera:

Taxonomía

Reino: Plantae
División: Pinophyta
Clase: Pinopsida
Orden: Pinales
Familia: Cupressaceae

Género: Cupressus

Especie: C. lusitánica Mill. 1768

Cupressus lusitanica fue descrita por Miller (1908) y publicado en The Gardeners Dictionary, eighth edition no. 3. 1768., siendo una especie que presenta una alta hibridación y variación genética, lo que ha llevado, a una fuerte discusión sobre su clasificación botánica, por lo que es se ha aceptado para fines prácticos que se identifique como C. lindleyi y C. benthamii, así como las variedades reportadas para éstos (Miller, 1908; Zamudio y Carranza, 1994).

Ésta amplia familia, con 16 géneros como se muestra en la **Figura 57**, contienen aproximadamente 150 especies, destacando principalmente, las de uso maderable, que en algunos casos como lo es *Cupressus lusitánica* Mill., son utilizados para campañas de reforéstación de zonas altas localizadas entre los 1,000 y 2,500 msnm, esto debido a su gran adaptación a hábitats urbanos como lo es la CDMX (Zamudio y Carranza 1994, Murillo *et al.*, 1996).

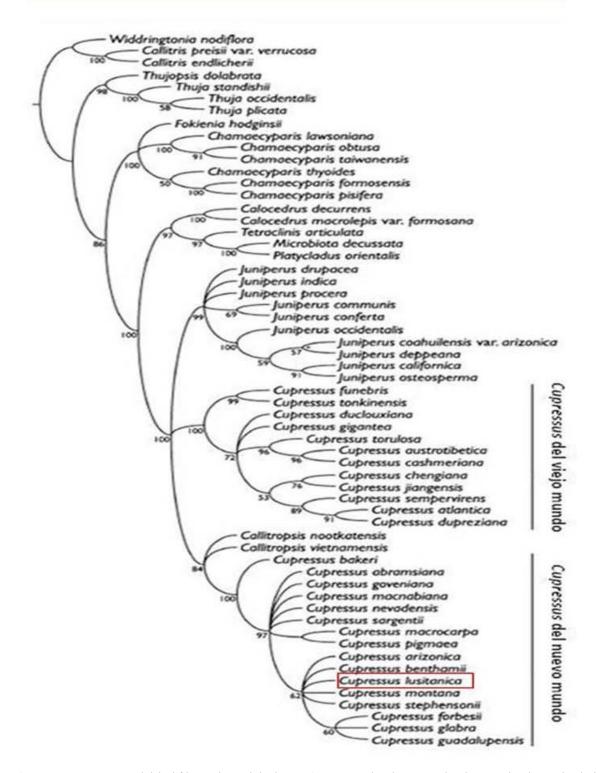


Figura 57. Se muestra el árbol filogenético del género *Cupressus*, donde se puede observar la ubicación de la especie Cupressus lusitánica mil. Tomado de: Little (2006).

9.6.2.2. Descripción morfológica de la especie Cupressus lusitanica Mill

El nombre común de ésta especie es Cedro, Cedro Blanco, Pino y Ciprés, de origen mexicano de tipo perennifolio, monoico, de rápido crecimiento en sus primeros años, con una vida aproximada de 300 años, ésta especie llega alcanzar hasta 30 m de altura con un diámetro del tronco de 0.4 a 0.6 m con reportes de más de 1.00 m, de corteza delgada de color Grisáceo (café-cenizo) a morena-rojiza de consistencia fibrosa, fisurada o rasgada fácilmente desprendible, dividida en placas irregulares y angostas, resinosa de 5 mm de espesor, considerada como delgada de color blancuzco al interior. **Figura 58** (Zamudio y Carranza, 1994; Murillo *et al.*,1996).

Cupressus lusitanica Mill





Figura 58: Árbol de *Cupressus lusitánica* Mill en distintas fases. A) Árbol en ausencia de estróbilos masculinos, B) árbol con presencia de estróbilos. Material fotográfico REMA tomada por Biol. José Juan Alcivar Saldaña.

Estos árboles presentan tallos monopódicos con presencia de hojas delgadas y decusadas en verticilios de 3 o 4, las cuales son escuamiformes en su etapa adulta como se mostró en la **Figura 59.** El color de estas hojas es verde oscuro a glaucescente (verde azulado), formando una copa única de 10 a 14 m de cobertura, no presenta caída de hojas y cuando se secan, permanecen por mucho tiempo adheridas al tallo.

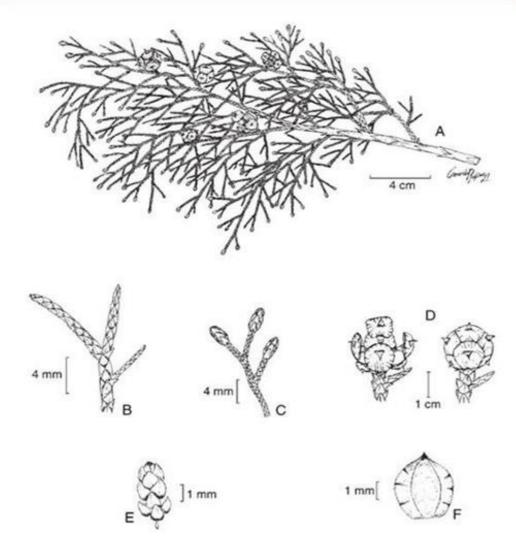


Figura 59. Se presenta el esquema morfológico de *Cupressus lusitanica* Mill. A) rama con conos femeninos y masculinos; B) detalle de ramillas; C) ramillas con conos masculinos; D) cono femenino; E) cono masculino; F) semilla. Tomado de Zamudio y Carranza, 1994.

Ésta especie se caracteriza por presentar un tipo de polinización anemófila, con conos masculinos y femeninos como se muestra en la **Figura 60**, los cuales están presentes a lo largo de todo el año, sin embargo el incremento y renovación de éstos sucede durante la época de secas, en los meses de octubre a marzo; los conos de tipo masculino se caracterizan por ser ovoides de color amarillento de 2 a 4 mm de largo, microsporangiados con microsporofilos dispuestos en espiral como se muestra en la **Figura 61**, presentando de 12 a 16 escamas anchamente ovadas o suborbiculares de 2 mm de ancho, en éstos estróbilos las escamas apicales son estériles y las restantes protegen hasta 4 sacos polínico, toda ésta estructura está soportada en la parte terminal por ramillas cortas; los conos femeninos presentan un tamaño de 12 a 30 mm de diámetro, formados de 4 a 12 escamas irregulares,

peltadas, subcuadrangulares o subpoligonales de umbo prominente, gruesas y rugosas, las escamas inferiores son pequeñas y estériles, en general éstos conos presentan un color verde-glauco en estado juvenil y rojizo oscuro al madurar la forma de éstos conos es globosa o subglobosas, al interior cada cono llega a presentar cerca de 70 a 130 semillas de 3 a 4 milímetros de largo, por 2 ó 3 mm de ancho de color castaño-amarillento, con una ala marginal hasta de 1.5 mm de ancho (Zamudio y Carranza, 1994; Rodríguez, 2003).

Conos de Cupressus Iusitanica Mill B) C)

Figura 60. Conos tanto femeninos como masculinos de *Cupressus lusitánica* mil. A) Rama con conos masculinos y femeninos, B) Cono femenino, C) Cono masculinos. Material fotográfico REMA tomada por Biol. José Juan Alcivar Saldaña.

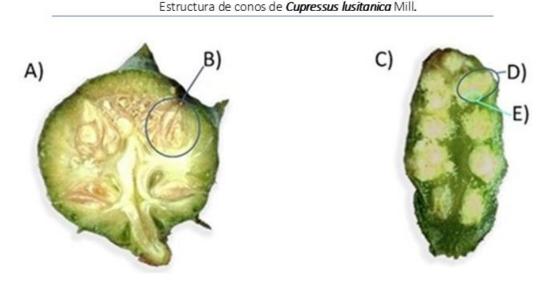


Figura 61. Estructura general de los conos de angiospermas con enfoque en *Cupressus*. A) Cono femenino megasporangiados, B) Megasporangio, C) Cono masculino microsporangiado, D) Microsporangio, E) Microsporosito. Material fotográfico REMA tomada por Biol. José Juan Alcivar Saldaña.

9.6.2.3. Requerimientos ecológicos

Cupressus lusitanica Mill., es una especie que se encuentra distribuida en regiones templadas y subtropicales, distribuyéndose entre las latitudes 15° y 27° Norte, comenzando en el Norte de El Salvador, teniendo mayor concentración en la zona centro, como se muestra en la **Figura 62**.

En México se encuentra de forma natural hacía el noroeste de Querétaro formando parte del bosque mesófilo de montaña y en Guanajuato y Michoacán constituyendo parte de los bosques de pino-encino puros o mezclados con *Abies religiosa*, en la CDMX y ZMVM puede ser observado como parte del paisaje urbano, mayormente distribuido hacia la zona sur, en parques, camellones y jardines (Chaves y Fonseca, 1991).

Ésta especie se encuentra adaptada a climas fríos o templados, aunque puede desarrollarse al sol directo a alturas de 2,240 msnm hasta los 3,300 msnm, en sitios donde las precipitaciones alcanzan los 1500 a 2500 mm anuales, creciendo de manera adecuada en suelos húmedos ácidos y profundos, aunque no presenta problema en plantaciones en suelos arenosos y pobres de materia orgánica. (Chaves y Fonseca, 1991).

Distribución de Cupressus lusitanica Mill

Figura 62. Se muestra la distribución de la especie *Cupressus lusitanica* en México. Fuente Chaves y Fonceca, 1991.

9.6.2.4. Morfología polínica de la Familia Cupressaceae

En forma general los granos de polen de la familia Cupressaceae son apolares de forma esferoidal y simetría radial de tamaño mediano, el cual es variable debido a la capacidad de la endexina para hidratarse oscilando entre los 20 y 30 μm; la exina de este tipo polínico es muy delgada y conformada por una sexina y endexina de grosores similares, la cual es considera tectada por Van Campo en 1973, debido a que presenta una capa granulosa en lugar de columnelas, en dicha capa se observa una gran cantidad de microgemas u orbículos formando interrupciones y discontinuidades en el tectum dando una textura microescábrida a la exina, la cual es inaperturada llegando a presentar zonas de adelgazamiento de las que se discute si son un seudoporo, microporo o una zona de germinación por donde se estima que se lleva a cabo la apertura del grano de polen, que debido a éstas características se desgarra fácilmente vaciando el contenido citoplasmático, el cual se observa estrellado o microbular al interior del grano de polen, cuando este se encuentra contenido en la exina, características que pueden ser observadas en la **Figura 63** (Roure, 1985; Bortenschlager, 1990;Trigo *et al.*, 2007).

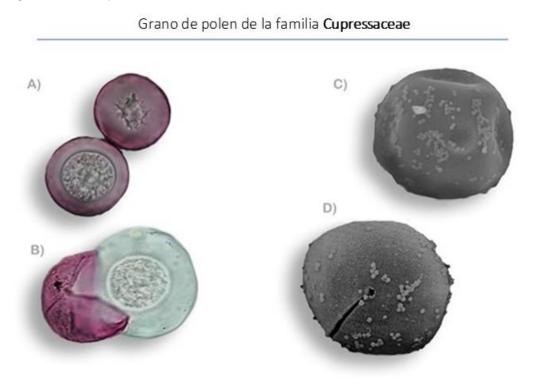


Figura 63. Polen del género *Cupressus* Tanto en microscopia óptica como en Microscopia Electrónica de Barrido MEB. A) Polen de Cupressus observado al microscopio óptico, el cual muestra la forma estrellada y globular del citoplasma, B) Polen roto liberando el contenido citoplasmático envuelto en la nexina, C) Micrografía de MEB de polen del género *Cupressus* mostrando al centro una zona de adelgazamiento, así como micro cuerpos en la superficie de la exina, D) Micrografía de la exina rota del polen de *Cupressus*, el cual muestra lo que puede ser un seudoporo o microporo promotor del desgarramiento de la exina. Material fotográfico REMA tomada por Biol. José Juan Alcivar Saldaña.

9.6.2.5. Alergenicidad

La alergenicidad al polen de la familia de las **Cupressaceae** era relativamente desconocida quizá debido a que suele tener su periodo de polinización a finales de invierno entre los meses de enero a marzo, periodo en el que confunde su acción ya que se encuentra embebido en una mezcla de diversos pólenes que en conjunto promueven la sintomatología de polinosis o más conocida como fiebre del heno; recientemente el aumento de los casos de polinosis en otras épocas del año diferentes a la mencionada han incrementado el interés por el estudio de este tipo polínico, el cual se ha observado tener presencia a lo largo del año como lo revelan diversos estudios de monitoreo aerobiológico en diversas partes del mundo, en la CDMX los estudios llevados a cabo por Calderón *et al.*, en el 2016, no solo se observa de este tipo polínico a lo largo del año, si no que las concentraciones se encuentran relativamente bajas pero siempre presentes.

La capacidad alergénica de este tipo polínico se debe a la presencia de diversos alérgenos los cuales algunos de ellos se expresan exclusivamente cuando los pólenes están en un ambiente contaminado (Suárez-Cervera *et al.*, 2008; Shahali *et al.*, 2009 (a, b); Gilles *et al.*, 2012; Shahali *et al.*, 2013 (a, b)) siendo los principales alérgenos:

- Cup s 1: proteína de 42 kDa, la cual fuera identificada por Ford et al. (1991) es el principal alérgeno identificado en el género Cupressus principalmente en la especie Cupressus sempervirens.
- Cup a 1: estudios realizados por Di Felice et al. (1991) identificaron a este alérgeno como una glicoproteína de 43 k Da, el cual se encuentra en el género Cupressus mayormente en la especie Cupressus arizonica, concluyendo que este alérgeno es responsable de la alta reactividad cruzada con pólenes de otras coníferas.
- Cup a 3: es un alérgeno homólogo de las proteínas relacionada con la patogénesis en plantas y con un peso de 21 k Da. La expresión de este alérgeno está relacionada con niveles de contaminación del área donde el polen se produce y dispersa (Lahoz *et al.*, 2003).
- Cup a 4: presenta una alta homología con Jun a 4 (Alérgeno de *Junniperus*) y es una proteína ligadora de calcio semejante a Ole e 3, Ole e 8 y Phl p 7 (Pico de Coaña, 2010).

De la población sensibilizada a este alérgeno, el mayor porcentaje lo es a Cup a 1 con un 72% seguido por el 63% que lo son a Cap a 3 (Sénéchal *et al.*, 2015; Shahali *et al.*, 2013 (a)).

9.6.3. *Pinus. pseudostrobus* Lindl

9.6.3.1 Identificación

La identificación tanto del género como de la especie de este tipo polínico se llevó a cabo con ejemplares colectados en el municipio de Tlalnepantla de Baz por medio del Herbario Izta, de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM, identificando a éstos como *Pinus pseudostrobus* Lindl., y *Pinus sp*. bajo el folio FES7HI/048/2016 con los registros 42814 IZTA y 42816 IZTA para cada uno respectivamente (Anexo 6).

La taxonomía de ésta especie se describe de la siguiente forma:

Taxor	nomía
Reino:	Plantae
División:	Pinophyta
Clase:	Pinopsida
Orden:	Pinales
Familia:	Pinaceae
Género:	Pinus
Especie:	Pinus pseudostrobus Lindl.

Pinus es un género de planta vascular comúnmente reconocidas como pino, el cual pertenece a la familia *Pinaceae*. Este género presenta alrededor 120 especies comprendidas en dos subgéneros (*Pinus* y *Strobus*), presentando 4 secciones y 11 subsecciones (Gernandt y Pérez, 2014); para México se reportan cerca de 49 especies, así como un número considerable de subespecies, variedades y formas; esto debido a que México es un centro de diversificación del género y uno de los pocos lugares donde las especies nuevas de coníferas surgen de forma activa (Gernandt y Pérez, 2014).

De este género, una de las especies con mayor variación geográfica en México es *Pinus pseudostrobus*, la cual fue descrita por primera vez, por John Lindley y publicado en Edwards's Botanical Register 25: Misc. 63. 1839 (Farjon, 1995). En México ésta especie presenta una gran diversificación y variación entre las familias tal como se muestra en la **Figura 64**, teniendo un parentesco muy cercano con *Pinus montezumae*. Ésta especie presenta incontables dificultades al momento de su determinación debido a la falta de un espécimen tipo, de tal manera, que a veces es difícil diferenciarlos, además de los arreglos sistemáticos que han agregado pinos que antes eran considerados como especies, el caso es el arreglo hecho por Shaw (1909) en el que incluye las especies como *P. tenuifolia Benth., P. orizabae Gord.*, y *P. pseudostrobus tenuifolia* en *P. pseudostrobus*.

Árbol filogenético de la subsección Ponderosae

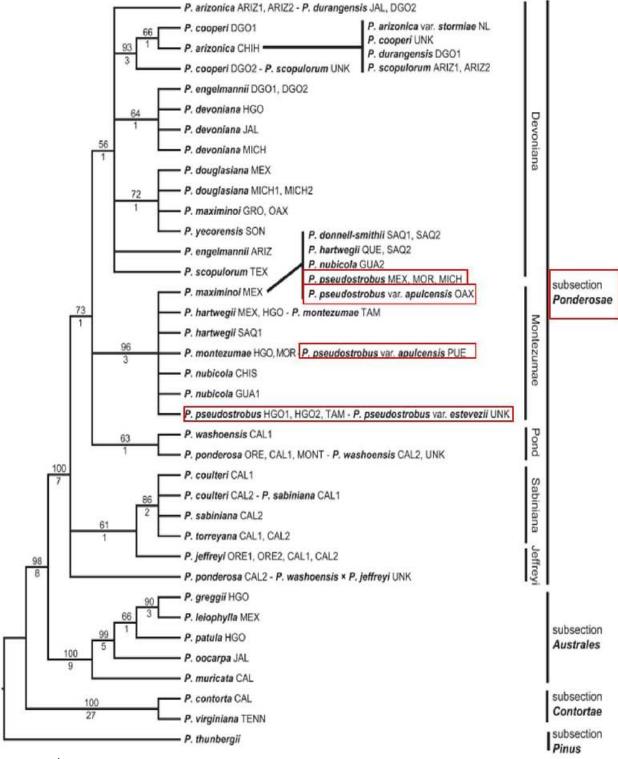


Figura 64. Árbol filogenético de la subsección **Ponderosae**. A la derecha se muestran las subsecciones, seguido a la izquierda del nombre de los clados (Hernández *et al.*, 2013).

Posteriormente, una nueva revisión llevada a cabo por Martínez (1948) demostró que muchas características de las hojas y los estróbilos, de los diferentes pinos incluidos en *Pinus pseudostrobus*, presentaban notables diferencias, lo que, lo llevo a realizar un nuevo arreglo sistemático, quedando de la siguiente forma:

- *Pinus pseudostrobus* Lindl. forma. protuberans
- Pinus pseudostrobus Lindl. Var. oaxacana Martínez.
- Pinus pseudostrobus Lindl. Var. apulcensis Martínez.
- *Pinus pseudostrobus* Lindl Var. coatepecensis Martínez
- Pinus pseudostrobus Lindl Var. estevezi Martínez.

Por lo que finalmente Perry en 1992, clasificó toda esta denominación dentro de la sección **Ponderosae** que incluían las formas **Protuberans** y **Megacarpa** quedando la clasificación de la siguiente forma como se muestra en la **Figura 65**.

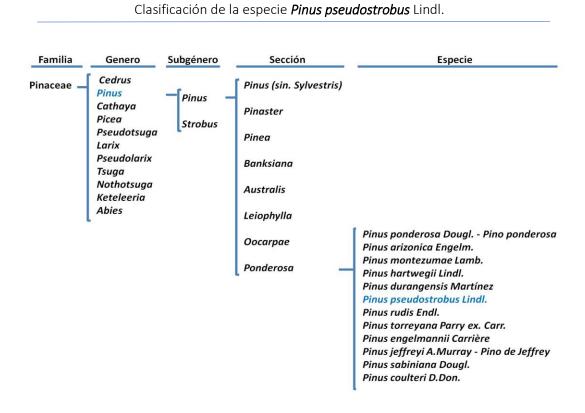


Figura 65. Se presenta la clasificación de la familia **Pinaceae** mostrando los subgéneros, secciones y especies del género *Pinus*.

9.6.3.2. Descripción morfológica de la especie Pinus pseudostrobus lindl

A este árbol comúnmente se le conoce como Pino, Pino blanco y Ocote, es originario de México siendo de tipo perennifolio y monoico presentando una altura de entre 25 y 40 metros de altura, en la base del tronco presenta lo que se conoce como poda natural dejando entre 30 y 40% del tronco libre de ramas, con un diámetro de 40 a 80 cm de corteza fisurada como se muestra en la **Figura 66**.

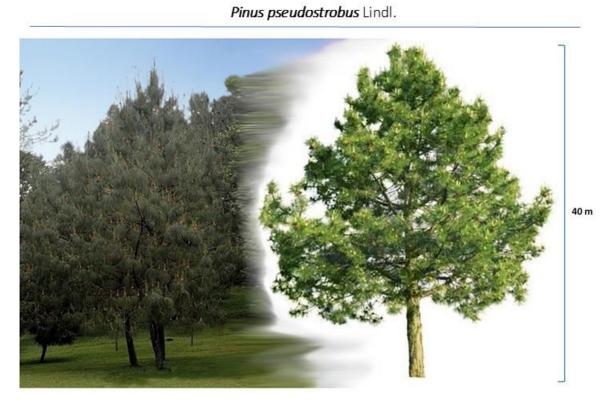


Figura 66. Se presenta la forma natural y esquemática de *Pinus pseudostrobus* lindl.

Este árbol presenta tallos monopódicos con ramas extendidas y verticiladas con ramillas delgadas y frágiles, las brácteas son espaciadas y frecuentemente adheridas a las ramillas, las hojas son aciculares y extendidas que van de los 17 a los 25 cm de largo, muy delgadas de forma triangular y flexibles de color verde intenso, finamente aserrada, con dos o tres canales resiníferos en la parte media sostenidas de la base por una vaina, persistente y anillada de 12 a 15 mm de largo de color castaño oscuro que empaqueta 5 hojas como se muestra en la **Figura 67**, todo esto conformando un follaje denso y siempre de color verde a verde muy oscuro (Martínez, 1948).



Figura 67. Estructura morfológica de la especie *Pinus pseudostrobus* lindl. 1) Rama con estructuras masculinas y femeninas, 2) estróbilo masculino, 3) hoja de *Pinus pseudostrobus* lindl, 4) estróbilo femenino, inmaduro y maduro, así como sus componentes (modificado de Sáenz *et al.*, 2011).

Ésta especie de tipo anemófilo presenta un periodo de floración de febrero a marzo y la maduración de los conos se realiza de noviembre a diciembre y la apertura de conos entre octubre y noviembre, tanto conos masculinos como femeninos están en el mismo árbol. Los conos femeninos son ovoides a cilíndricos de color café de 10 a 15 cm de largo, éstos generalmente se dan en pares sobre un pedúnculo de 10 a 5 mm de longitud, formados por brácteas dispuestas en espiral alrededor de un eje, en la axila de cada bráctea estéril se encuentra una flor femenina constituida solamente por el carpelo que recibe el nombre de escama ovulífera, llevando dos óvulos en la parte superior. Cada óvulo presenta un tegumento multicelular (megasporangio) en la que se diferencia una sola célula madre de las megásporas o megasporocito **Figura 68**. (Martínez, 1948; Patiño *et al.*,1983).

Los conos masculinos de 1-2 cm son mucho más pequeños que los femeninos y son considerados simples debido a que solo presentan un tipo de bráctea (microsporofilo), los cuales son numerosos y dispuestos en espiral alrededor de un eje, cada microsporófilo lleva dos sacos polínicos o microsporangios, en el interior de éstos se diferencian las células madres del polen o microsporocitos, cada una de las cuales da origen por meiosis a cuatro microsporas o granos de polen uninucleados (inmaduros) **Figura 68**.

Los conos femeninos están en las ramas más altas, y los masculinos en las inferiores. Esta disposición promueve la fecundación cruzada ya que el viento lleva los granos de polen en gran cantidad hacia los estróbilos femeninos de otros árboles. (Martínez, 1948; Patiño *et al.*, 1983).

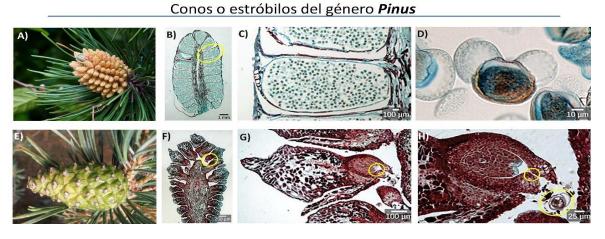


Figura 68. conos o estróbilos, femeninos y masculinos del género *Pinus*, así como los cortes histológicos de cada uno. A) Estróbilos masculinos, B) Microsporangio C) Microsporocitos, D) Polen de *Pinus*., E) Cono o estróbilo femenino, F) Megasporangio, G) Ovulo, H) micrópilo y polen (Patiño *et al.*, 1983).

Ésta especie no presenta verdaderos frutos, pero las semillas una vez maduras son emitidas por los conos femeninos, estas semillas son triangulares, de color oscuro, de unos 6 mm presentando un ala articulada de 23 mm de largo por 6 a 9 mm de ancho, la cual presenta de 6 a 9 cotiledones (Martínez, 1948; Patiño *et al.*, 1983).

9.6.3.3. Requerimientos ecológicos

Este tipo de árboles se encuentran en un rango latitudinal que varía entre los 2400 y 2800 msnm, son de climas templados y perteneciente a bosque de montaña distribuyéndose en general en latitudes que van de 14° N a 26° N. En la República Mexicana su distribución queda comprendida entre los paralelos 17° 15′ a 29° 25′ de latitud N y los meridianos 92° 05′ a 108° 35′ de longitud W., localizándose en la Sierra Madre Oriental, Eje Neovolcánico en la Sierra Madre del Sur, Sierra Madre de Chiapas y parte de la Sierra Madre Occidental. Se ha registrado en las siguientes entidades federativas: Jalisco, Colima, Estado de México, Hidalgo, CDMX, Puebla, Guerrero, Morelos, Oaxaca, Coahuila, Chihuahua, Guanajuato, Chiapas, Querétaro, Nuevo León, San Luis Potosí, Tamaulipas, Veracruz y Tlaxcala como se muestra en la **Figura 69** (Martínez, 1948; Eguiluz, 1978; Perry, 1992).

Ésta especie crece directamente al sol o media sombra tolerando climas semisecos desarrollándose a una temperatura de 18 a 21 °C, en sitios con precipitaciones anuales entre los 800 a 1500 mm requiriendo suelos profundos, ácidos, arenosos arcillosos y de buen drenaje, no tolerando suelos calcáreos (Martínez, 1948; Patiño *et al.*,1983; Rodríguez, 2003).



Figura 69. Distribución natural de *Pinus pseudostrobus* lindl

9.6.3.4. Morfología polínica del género *Pinus*

El polen de este género es analeptomado, heteropolar, de simetría bilateral, con dos vesículas o sacos aeríferos laterales; corpus subcircular a elíptico en visión polar y planoconvexo en visión ecuatorial; de oblato a oblato-esferoidal. Tamaño de mediano a muy grande (P=35-65 μ m; E=48-82 μ m). Abertura de tipo leptoma, irregular. Exina de 2-4 μ m de grosor, con relación sex/nex=2-3/1. Téctum completo; infratéctum columelado. Superficie del corpus granulado-verrugosa y de las vesículas aeríferas psilado-microperforada como se muestra en la **Figura 70**.

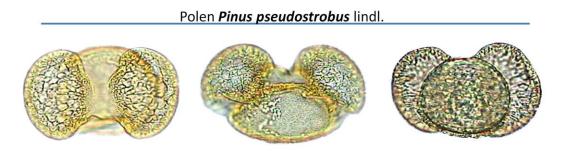


Figura 70: Se presentan diferentes posiciones del polen del género de Pinus.

9.6.3.5. Alergenicidad

Este tipo polínico se considera que es de baja alergenicidad incluso considerando que estos árboles producen una gran cantidad de polen, pero actualmente debido a factores como la contaminación atmosférica han hecho que este tipo polínico comience a tener reportes de sensibilización dando positivo en pruebas cutáneas, sin embargo, el contenido de proteínas alergénicas es muy bajo siendo unas 40 veces menor al reportado para olaceas. Esta reacción alérgica es dada por una glicoproteína de 42 KDa, la cual está incluida en los granos de polen de *Pinus* y ya que esta proteína es similar a las presentadas en las cupresáceas, no es extraño que este tipo de polen ocasione reacciones alérgicas en personas ya sensibilizadas, sin embargo, aun con la presencia de esta proteína este tipo polínico es considerado de baja alergenicidad (Gastaminza, 2003).

9.7. Viabilidad de los tipos polínicos Fraxinus, Cupressus lusitanica y Pinus

El análisis de viabilidad de los granos de polen de los tipos polínicos *Fraxinus, Cupressus lusitanica* y *Pinus,* colectados de parques y jardines, áreas naturales y avenidas mostró que la viabilidad desciende conforme se encuentran más expuesto a zonas con mayor tránsito vehicular.

9.7.1 Viabilidad Fraxinus uhdei

El análisis de viabilidad de los granos de polen del tipo polínico *Fraxinus uhdei* mostró que el mayor porcentaje de viabilidad se encuentra en la zona de áreas verdes, con un promedio de 175.58 granos de polen viable (gpv) los cuales representan el 59.52% de 300 granos de polen contados, mientras que la zona denominada avenidas mostró un total de 16 gpv que representaron el 5.59 % del conteo de 300 gp, lo que representó una disminución del 90.44 % en comparación con los granos de polen contados en áreas naturales, como se muestra en la **Figura 71**.

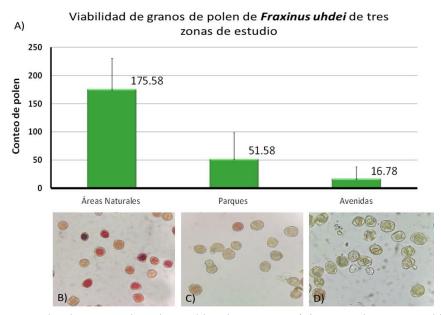
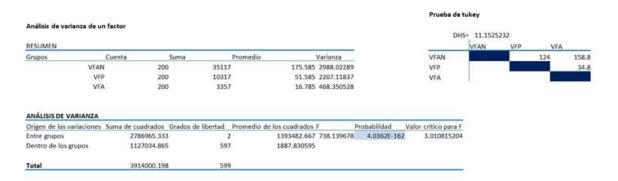


Figura 71. Promedio de granos de polen viables de *Fraxinus uhdei*, contados en tres diferentes zonas de muestreo. A) Gráfico de Viabilidad de *Fraxinus uhdei* de tres diferentes zonas. B) viabilidad en áreas naturales. C) viabilidad en parques y jardines. D) viabilidad en Avenidas.

9.7.1.1. Análisis estadístico

El análisis estadístico ANOVA mostró que existe una diferencia significativa de P≤ 0.0001 como se muestra en la **Tabla 7**; a su vez ésta diferencia se comprobó por medio de una prueba de Tukey que reveló que existen diferencias significativas al comparar las tres zonas como se muestra en la **Tabla 7**.

Tabla 7: Análisis de varianza del porcentaje de viabilidad de granos de polen de *Fraxinus uhdei* de tres zonas evaluadas: áreas naturales (AN), parques y jardines (P) y avenidas (A), a su vez se muestra la prueba de Tukey que comprueba la diferencia entre las zonas estudiadas (Diferencia Honestamente Significativa (DHS)).



9.7.2. Viabilidad de Cupressus lusitanica

La familia *Cupressus lusitanica*, al igual que el tipo polínico anterior presentó un mayor número de granos de polen viable, en la zona de muestreo de áreas naturales, teniendo un promedio de 196 gpv de 300 granos de polen contados representando el 65.33% de viabilidad para ésta zona, mientras que la zona de avenidas, fue la que manifestó menor grado de viabilidad con un total de 72.49 gpv representando el 24.16% del conteo de 300 gp lo que implicó una disminución de la viabilidad del 63.02 %, con respecto al obtenido en áreas verdes como se muestra en la **Figura 72**; en cuanto a la zona de parques, se pudo observar que el conteo de granos de polen viable es solo un poco menor, con un promedio de 147.87 gpv que representan un 49.29% con una disminución del 24.55% en comparación al de áreas verdes, como se muestra en la **Figura 72**.

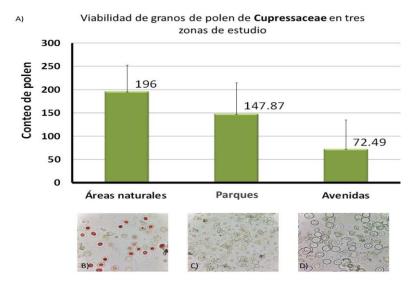
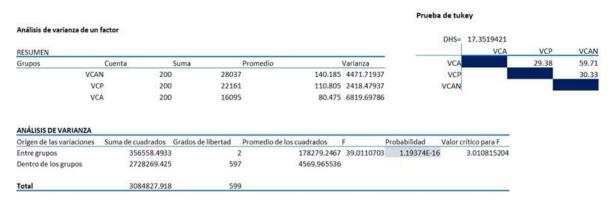


Figura 72. Promedio de granos de polen viables de la familia **Cupressaceae**, contados en tres diferentes zonas de muestreo. A) Gráfico de Viabilidad de la familia **Cupressaceae** de tres diferentes zonas. B) viabilidad en áreas naturales. C) viabilidad en parques y jardines. D) viabilidad en Avenidas.

9.7.2.1. Análisis estadístico

El análisis estadístico ANOVA mostró que una diferencia significativa menor a **P≤0.0001** entre la viabilidad de los granos de polen de las tres zonas estudiadas, el cual se verifico con una prueba de Tukey en la que se pudo observar diferencia entre las tres zonas estudiadas, como se muestra en la **Tabla 8**.

Tabla 8: Análisis de varianza del porcentaje de viabilidad de granos de polen de *Cupressus lusitanica* (VC) de tres zonas evaluadas: áreas naturales (AN), parques y jardines (P) y avenidas (A), a su vez se muestra la prueba de Tukey que comprueba la diferencia entre las zonas estudiadas (Diferencia Honestamente Significativa (DHS)).



9.7.3. Viabilidad de tipo Pinus

Para el género *Pinus* los registros obtenidos mostraron un comportamiento similar a los tipos polínicos anteriores pero con un menor promedio de granos de polen viable, siendo la zona de áreas naturales la que presentó un mayor número de granos de polen viable, con un promedio de 159.58 gpv, que representó el 53.19% de polen viable de un total de 300 granos de polen, pero a diferencia de los tipos polínicos anteriores, se observó una considerable disminución de la viabilidad en la zona de parque y avenidas, con un total de 26.85 gpv para parques y 20.51 gpv para avenidas, representando una disminución del 83.12% para parques y del 87.11% para avenidas con respecto al promedio obtenido en áreas naturales como se muestra en la **Figura 73**.

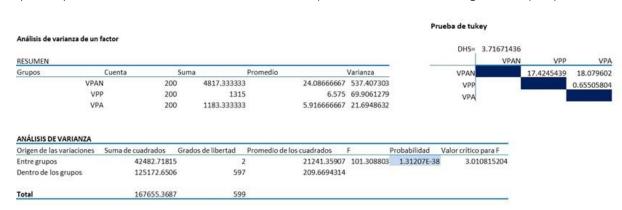
Viabilidad de granos de polen de género Pinus en tres zonas de estudio 160 Conteo de polen 140 120 100 72.26 80 60 40 19.725 17.75 20 0 Áreas naturales **Parques Avenidas**

Figura 73. Promedio de granos de polen viables del género **Pinus**, contados en tres diferentes zonas de muestreo. A) Gráfico de Viabilidad del género **Pinus** de tres diferentes zonas. B) viabilidad en áreas naturales. C) viabilidad en parques y jardines. D) viabilidad en Avenidas.

9.7.3.1. Análisis estadístico

La prueba estadística ANOVA mostró que existe una diferencia significativa de P≤ 0.0001 entre el porcentaje de viabilidad de los granos de polen de las tres zonas estudiadas como se muestra en la Tabla 9, a su vez en la prueba de Tukey se observó que existe una diferencia significativa entre dos de las áreas estudiadas como se muestra en la Tabla 9.

Tabla 9. Análisis de varianza del porcentaje de viabilidad de granos de polen del género *Pinus* de tres zonas evaluadas: áreas naturales (AN), parques y jardines (P) y avenidas (A), a su vez se muestra la prueba de Tukey que comprueba la diferencia entre las zonas estudiadas (Diferencia Honestamente Significativa (DHS).



9.8. Germinación

En los resultados de la prueba de germinación se obtuvo una tendencia similar a la observada en la prueba de viabilidad con la prueba TTC, con la diferencia de un menor número de granos de polen germinados en comparación al número de granos de polen viables, al igual que en la prueba anterior el número de germinado reduce conforme éstos se encuentran más expuestos a zonas con mayor tránsito vehicular.

9.8.1 Germinación de Fraxinus uhdei

En el resultado de las pruebas de germinación para el tipo polínico *Fraxinus uhdei* se observó que el mayor número de tubos polínicos emitidos fue en la zona de áreas naturales con un promedio de 47.63 granos de polen germinados (gpg), que representaron el 15.87% del total de 300 granos de polen contados, mientras que la zona de parque y jardines represento la escala media con un total de 28.70 gpg, representan el 9.56% de 300 gp contados, mostrando una disminución del 39.75% con respecto al resultado obtenido en áreas naturales, en cuanto avenidas se reportó como el más bajo con un total de 1.4 gpg, que represento el 0.46% de 300 gp contados evidenciando una disminución del 96.8 % con respecto al resultado dado en áreas verdes como se muestra en la **Figura 74**.

Germinación de granos de polen de Fraxinus uhdei en tres zonas de estudio

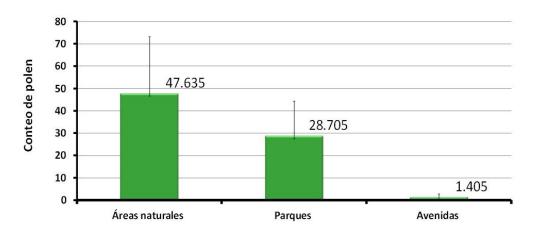


Figura 74. Comparación de los promedios de granos de polen germinados, de la especie *Fraxinus uhdei* de tres distintas zonas.

9.8.1.1. Análisis estadístico

El análisis ANOVA mostró una diferencia significativa de P≤ 0.0001 entre el porcentaje de germinación de las tres zonas estudiadas como se observa en la Tabla 10, lo cual quedó comprobado por medio de la prueba de Tukey que demuestra la diferencia entre el porcentaje de germinación de los granos de polen de las tres zonas estudiadas.

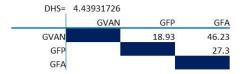
Tabla 10: Análisis de varianza del porcentaje de germinación de granos de polen de *Fraxinus uhdei* de tres zonas evaluadas: Áreas naturales (AN), Parques y jardines (P) y Avenidas (A), a su vez se muestra la prueba de Tukey que comprueba la diferencia entre las zonas estudiadas (Diferencia Honestamente Significativa (DHS).

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN				
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
	GFAN	200	9527	47.635 648.24299
	GFP	200	5741	28.705 246.962789
	GFA	200	281	1.405 2.16178392

ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados F		Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	216056.52	. 2	108028.26	361.15054	1.6058E-103	3.010815204
Dentro de los grupos	178576.145	597	299.1225209			
Total	394632,665	599)			

Prueba de tukey



9.8.2. Germinación de *Cupressaceae*

En cuanto a la familia **Cupressaceae** y como se muestra en la **Figura 75**; se observa un incremento del número de pólenes germinados, siendo para áreas naturales un promedio de 62.27 gpg que representaron el 20.75% de un total de 300 granos de polen contados, mientras que para la zona de parques se registró un total de 52.09 gpg que representa el 5.5 % de germinación para ésta zona en cuanto a la zona de avenidas mostró un promedio de 15.62 gpg representando 5.20 % de germinación, marcando una disminución del 74.92% con respecto al resultado obtenido en áreas verdes.

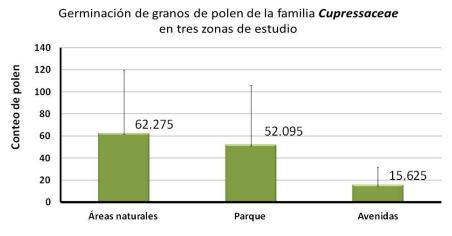


Figura 75: Comparación del número de granos de polen germinados de la familia **Cupressaceae** de tres distintas zonas.

9.8.2.1 Análisis estadístico

El análisis estadístico por medio de la ANOVA mostró una diferencia significativa menor a **P≤ 0.0001** entre los granos de polen germinados de las tres distintas zonas estudiadas, lo cual quedo corroborado por medio de la prueba Tukey que demostró la diferencia entre las tres zonas estudiadas como se muestra en la **Tabla 11**.

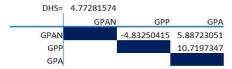
Tabla 11: Análisis de varianza del porcentaje de germinación de granos de polen de *Cupressus lusitanica* (VG) de tres zonas evaluadas: Áreas naturales (AN), Parques y jardines (P) y Avenidas (A), a su vez se muestra la prueba de Tukey que comprueba la diferencia entre las zonas estudiadas (Diferencia Honestamente Significativa (DHS).

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN					
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio		Varianza
	GPAN	201	10739	53.4278607	375.513798
	GPP	201	1183.333333	5.887230514	156.802775
	GPA	201	2154.666667	10.71973466	504.942725

ANÁLISIS DE VARIANZA								
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F		
Entre grupos	275199.0591	. 2	137599.529	6 397.970488	9.6663E-111	3.010739538		
Dentro de los grupos	207451.8596	600	345.753099	3				
Total	482650.9187	602						

Prueba de tukey



9.8.3. Germinación del tipo Pinus

El género *Pinus*, presentó conteos bajos de pólenes germinados para las zonas de avenidas y parques siendo la zona de áreas naturales la que mostró mayor número de pólenes germinados con un promedio de 72.26 gpg que representaron el 24.08 % del total de 300 granos de polen contados, mientras que la zona de parque registro un promedio de 19.72 gpg representando el 6.57 % de germinación en cuanto a la zona de avenidas se observó un promedio de 17.65 gpg que representa el 5.88 % de germinación para ésta zona, mostrando una disminución del 75.44 % al compararse con los resultados de áreas naturales, como se puede observar en la **Figura 76**.

Germinación de granos de polen del genero *Pinus* en tres zonas de estudio

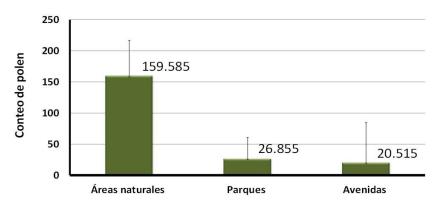


Figura 76: Comparación del número de granos de polen germinados, del género *Pinus* de tres distintas zonas.

9.8.2.1 Análisis estadístico

El análisis ANOVA mostró un nivel de significancia menor al $P \le 0.0001$ para los tres tipos polínicos al comparar las tres áreas, resultado que fue comprobado por medio de una prueba de Tukey como se muestra en la **Tabla 12**.

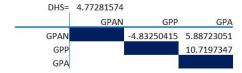
Tabla 12: Análisis de varianza del porcentaje de germinación de granos de polen del género *Pinus* de tres zonas evaluadas: Áreas naturales (AN), Parques y jardines (P) y Avenidas (A), a su vez se muestra la prueba de Tukey que comprueba la diferencia entre las zonas estudiadas (Diferencia Honestamente Significativa (DHS)).

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN					
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	27	Varianza
	GPAN	201	10739	53.4278607	375.513798
	GPP	201	1183.333333	5.887230514	156.802775
	GPA	201	2154.666667	10.71973466	504.942725

ANALISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	275199.0591	. 2	137599.5296	397.970488	9.6663E-111	3.010739538
Dentro de los grupos	207451.8596	600	345.7530993	3		
Total	482650.9187	602				

Prueba de tukey



9.9. Análisis MEB y X-EDS

9.9.1. Microscopia electrónica de barrido.

En el microscopio electrónico de barrido se revisaron las muestras obtenidas con el muestreador "Jet sampler", así como las colectadas directamente de las anteras y estróbilos, de tal forma que los granos de polen de las anteras sirvieron como referencia para la identificación de los granos de polen colectados del aire como se observa en las **Figuras 77**, 82 y 88.

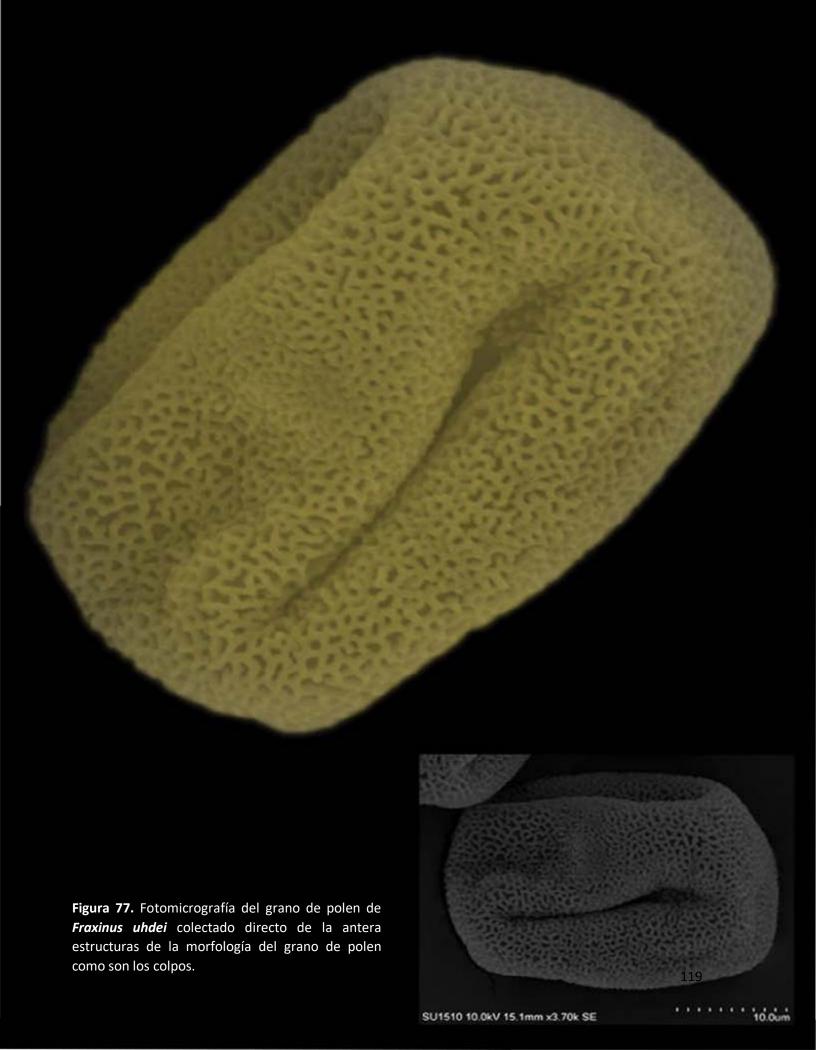
Con el análisis de este microscopio se observaron partículas adheridas a la exina de los granos de polen, como se observa en las Figuras 78, 79, 86, 89, 91, 92 y 93, las cuales cubren parcial o completamente los granos de polen, formando aglomerados sobre la exina que llegan a dejarlos irreconocibles, dificultando la diferenciación entre partículas y granos de polen como se observa en la Figura 94, donde se aprecia una partícula cubierta de partículas semejado estructuras polínicas. En otros casos la identificación de algunas estructuras polínicas por debajo de la cobertura de partículas, permitieron la identificación de algunos tipos polínicos como se observó en las Figuras 95, 96 y 97 que muestran una secuencia del mismo tipo polínico (*Populus*) al ser cubierto con partículas.

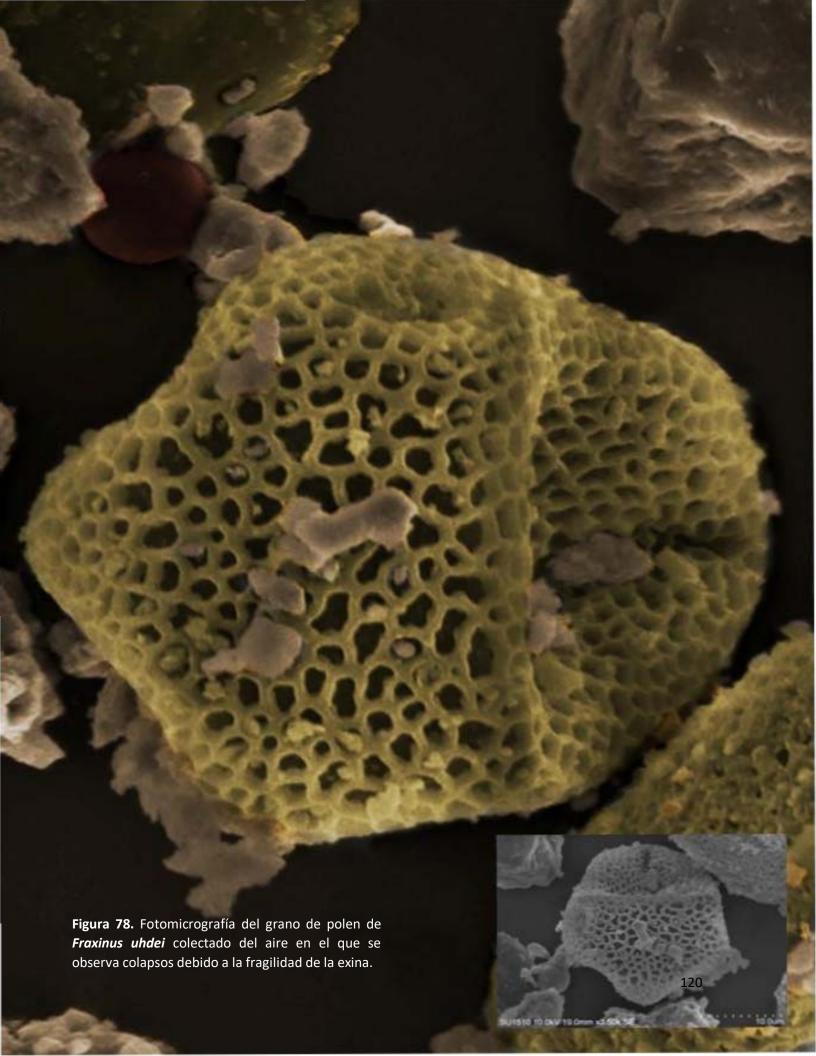
Al comparar los granos de polen tomados de las anteras con los colectados del aire se pudo observar que éstos últimos se presentan colapsados, ya que los tomados de las anteras se observan más turgentes y sin colapsos, ejemplo de ello es el tipo polínico *Fraxinus sp.* en las **Figuras 77-78**, así como en el tipo polínico **Cupressaceae**, en las **Figuras 82-83**.

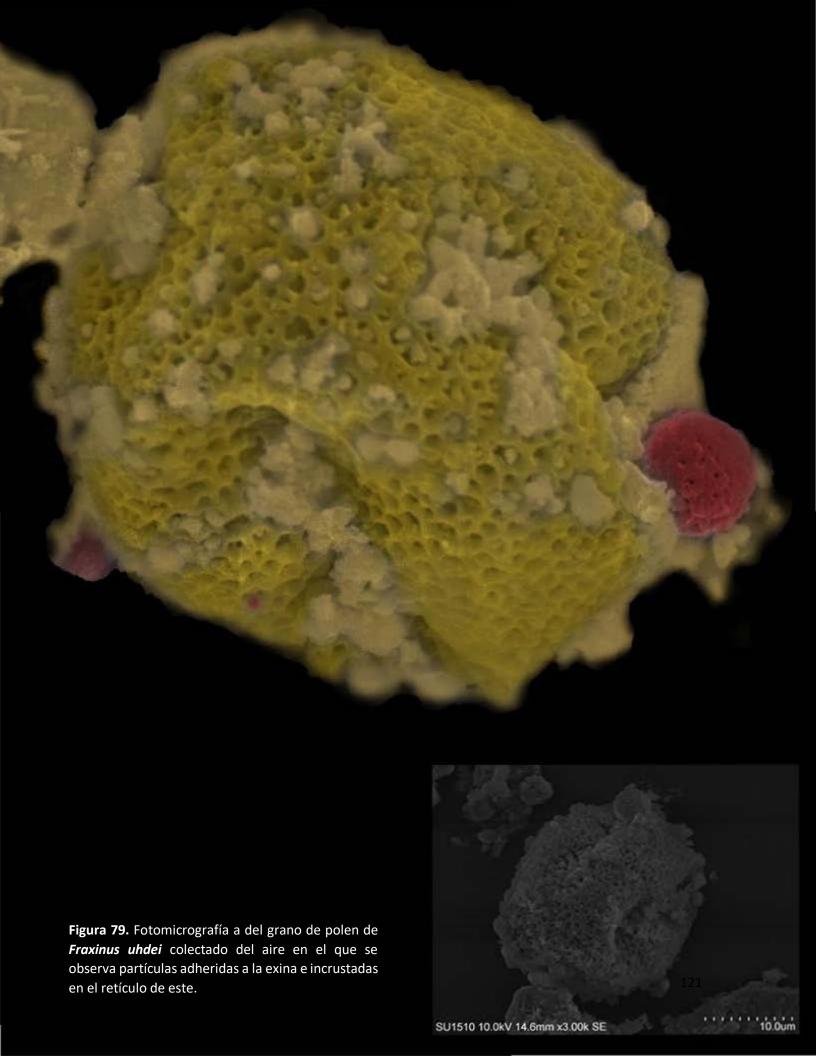
También se identificaron partículas de origen natural como son los orbículos o cuerpos Ubisch sobre la exina de los granos de polen de *Cupressus lusitanica* (Figura 82), en los cuales se puede apreciar una ornamentación, la cual es propia de cada especie como, lo sugirió Ubisch en 1927 (Figura 84) además éstos orbículos también fueron vistos en granos de polen colectados del aire como se muestra en la Figura 83 y 85.

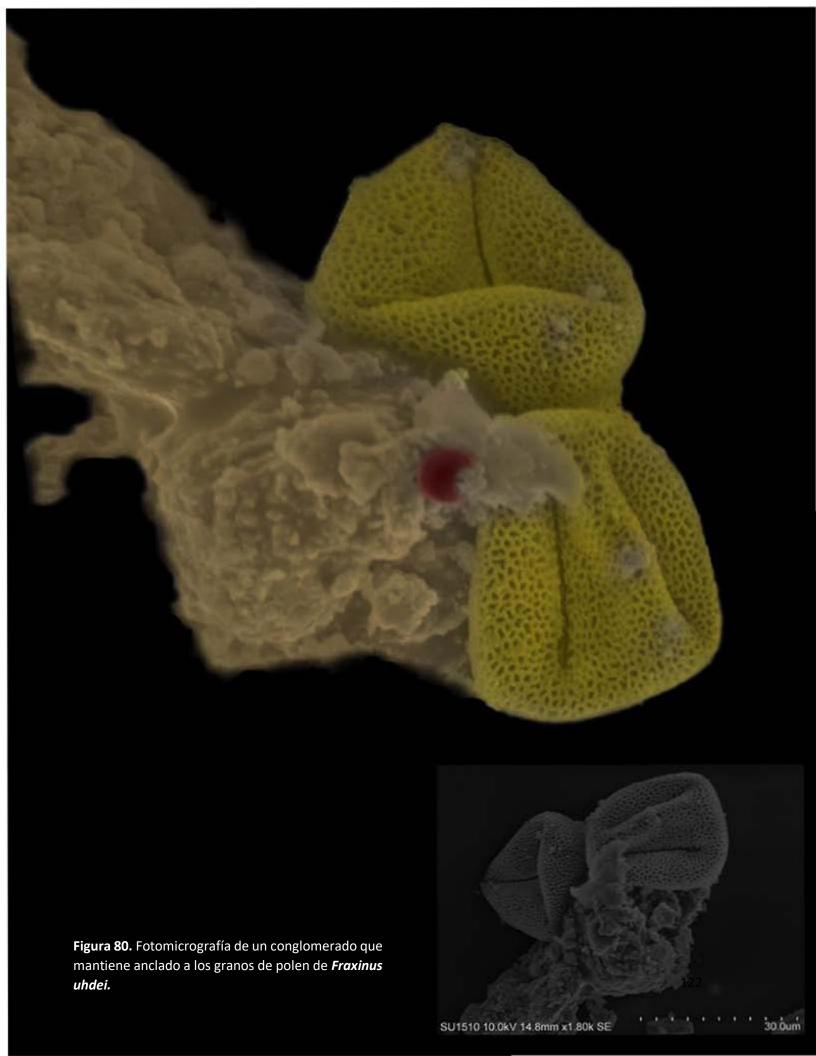
Así mismo, se observó que la adherencia de partículas a la exina de los granos de polen forman aglomerados, como se observó en las **Figuras 93** y **95**, los cuales posteriormente conformaran conglomerados después de acumular más partículas de diversos tamaños y orígenes, como se observan en las **Figuras 79**, **80**, **85** y **87**.

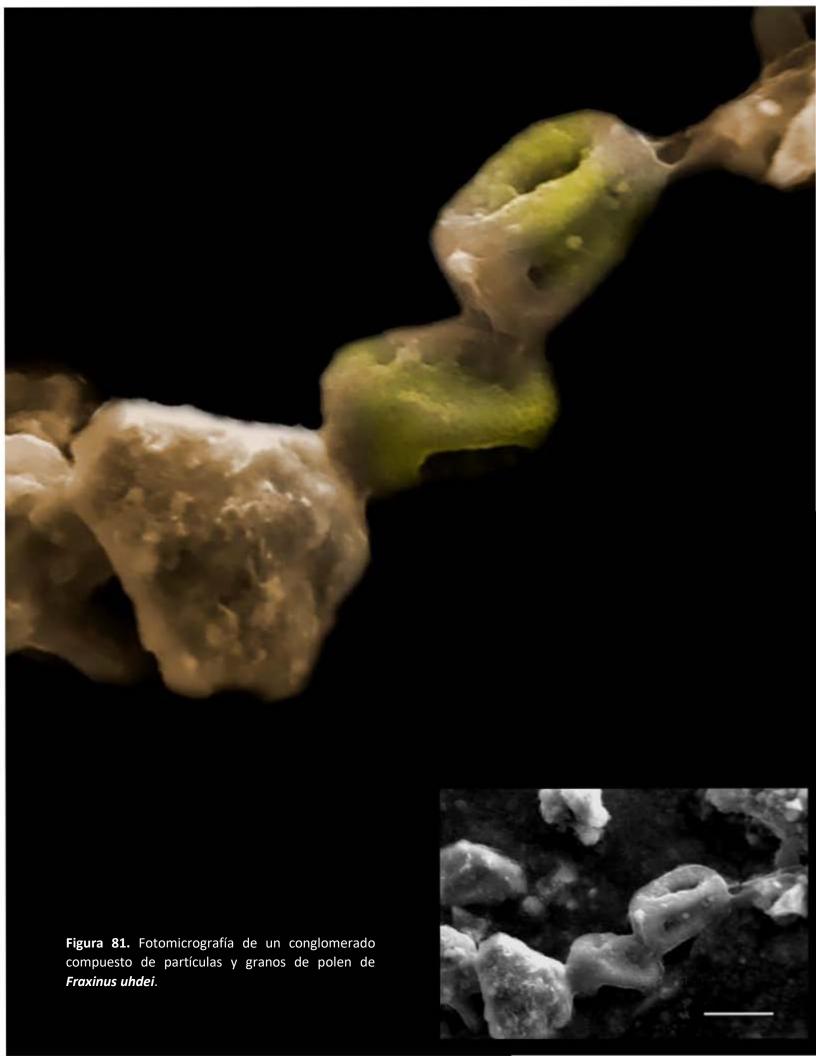
Para una mejor descripción y entendimiento de las fotomicrografías, éstas se ampliaron y colorearon por medio de la técnica de falso color, con la que se pudo observar y diferenciar a mejor detalle entre las partículas y las estructuras polínicas, distinguiéndose granos de polen cubiertos de partículas como se observa en las **Figuras 80, 81, 85, 87 y 90**.

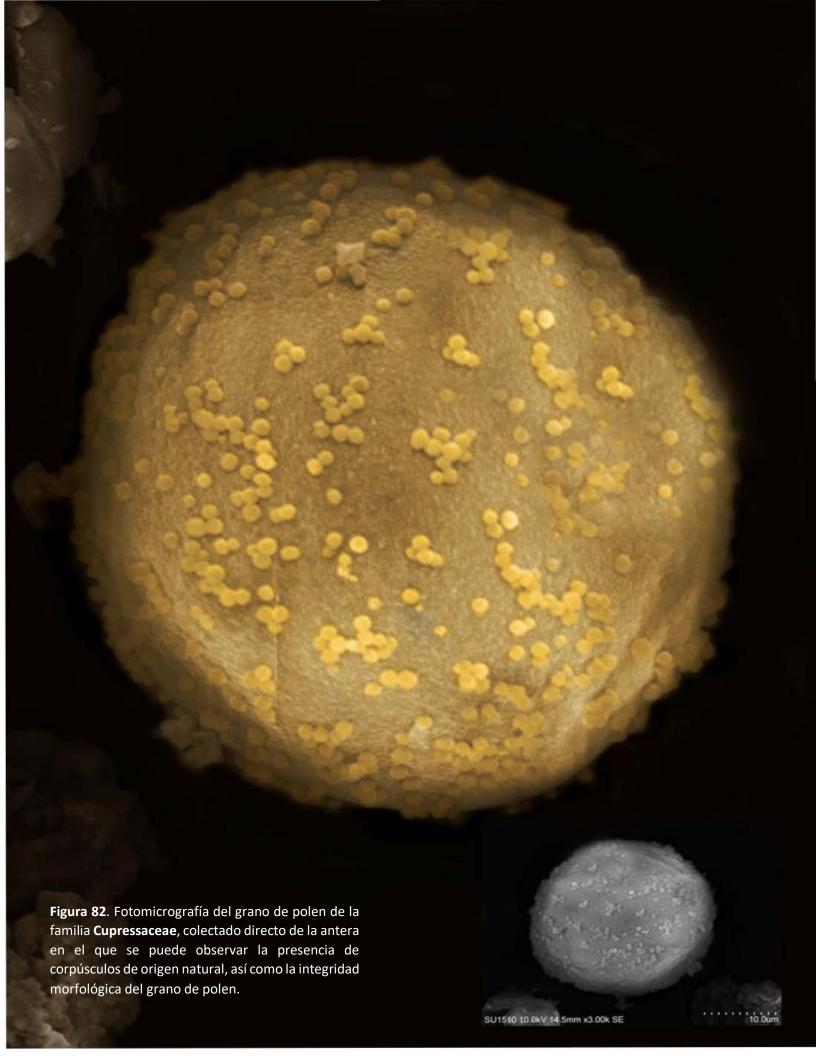












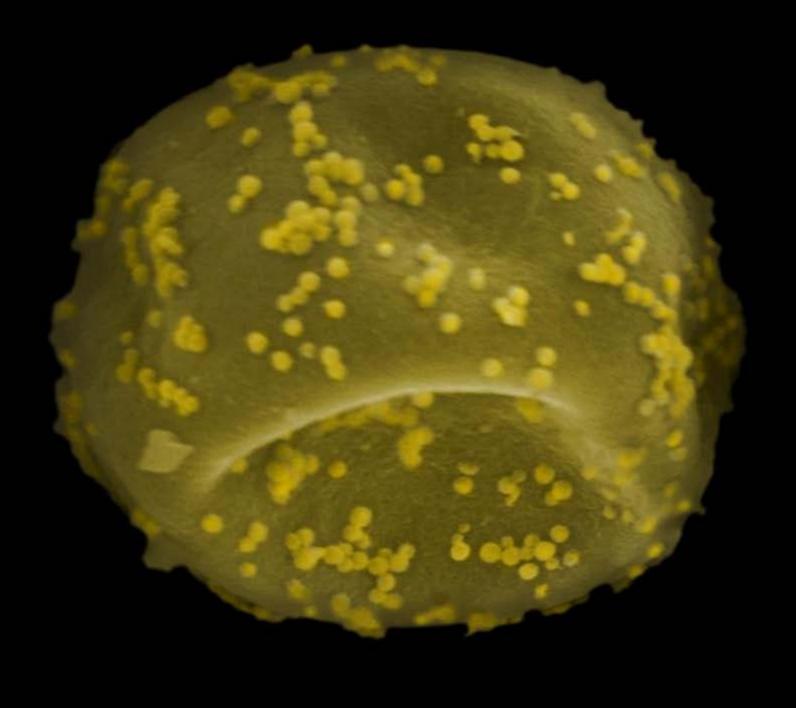
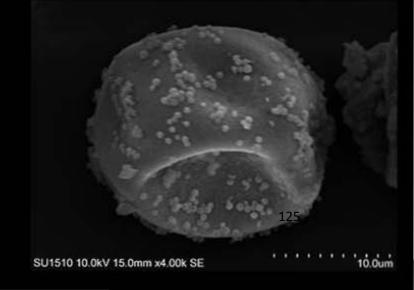
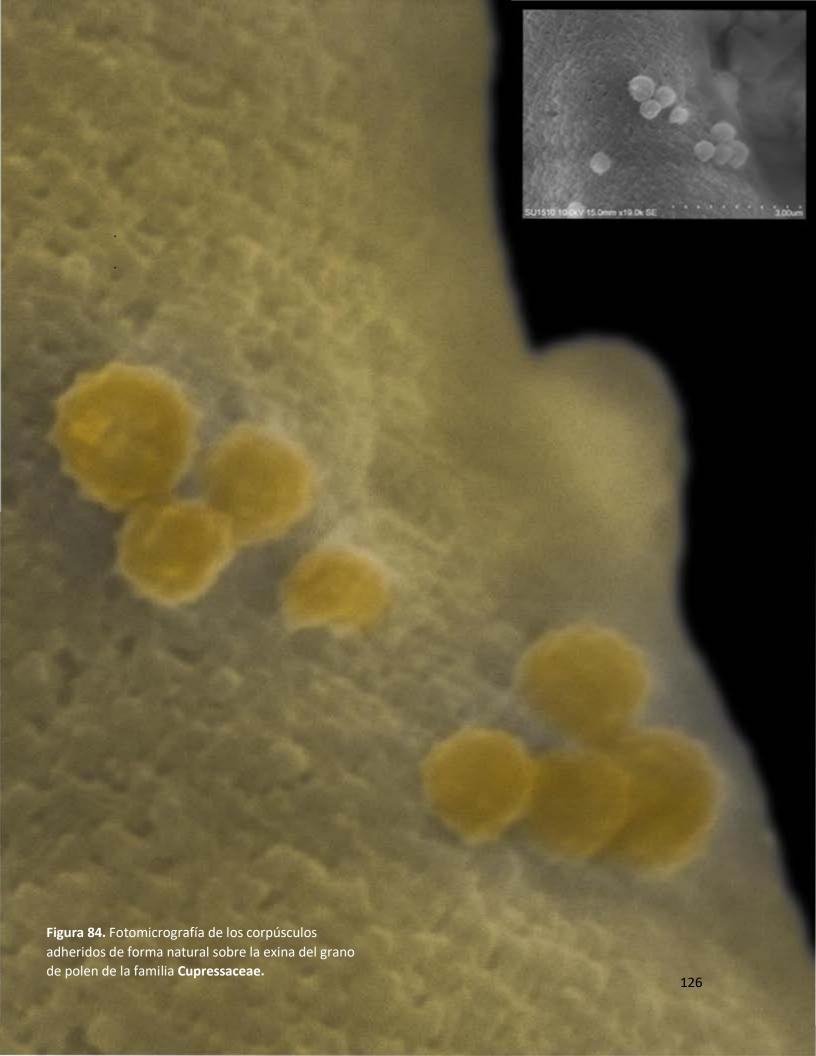
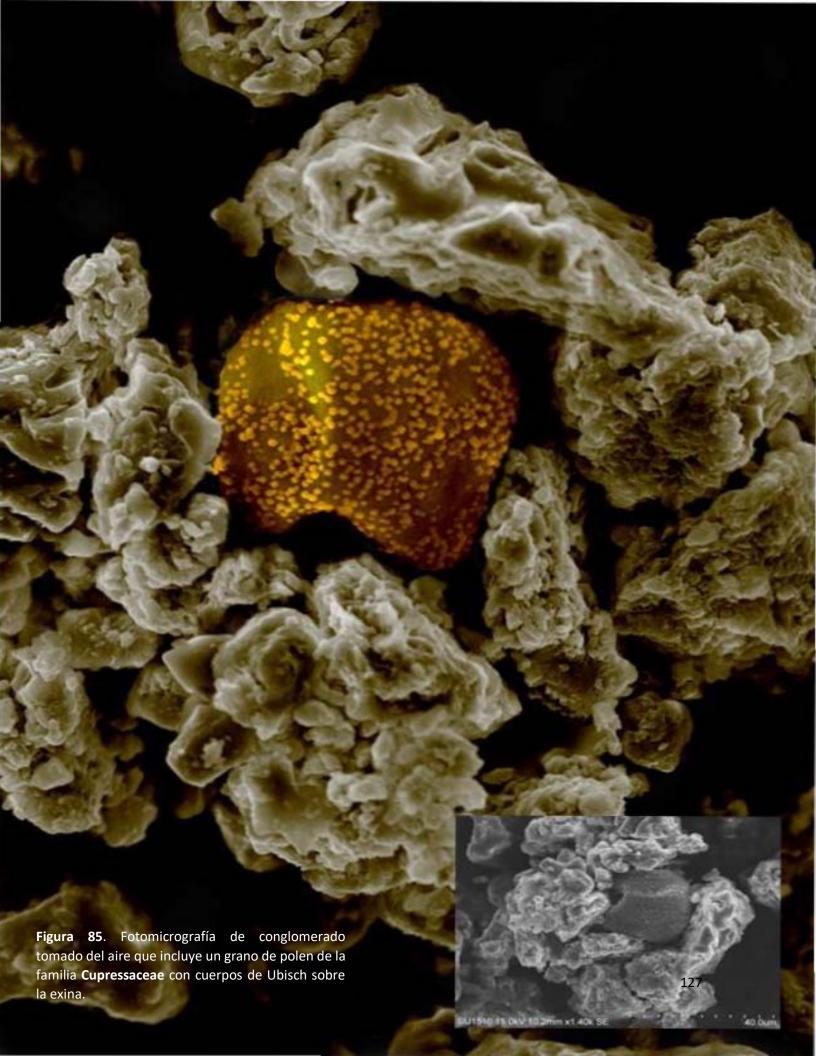


Figura 83. Fotomicrografía del grano de polen de la familia **Cupressaceae**, colectado del aire en el que se puede observar la presencia de corpúsculos de origen natural, así como colapsos en zonas adelgazadas del grano de polen.









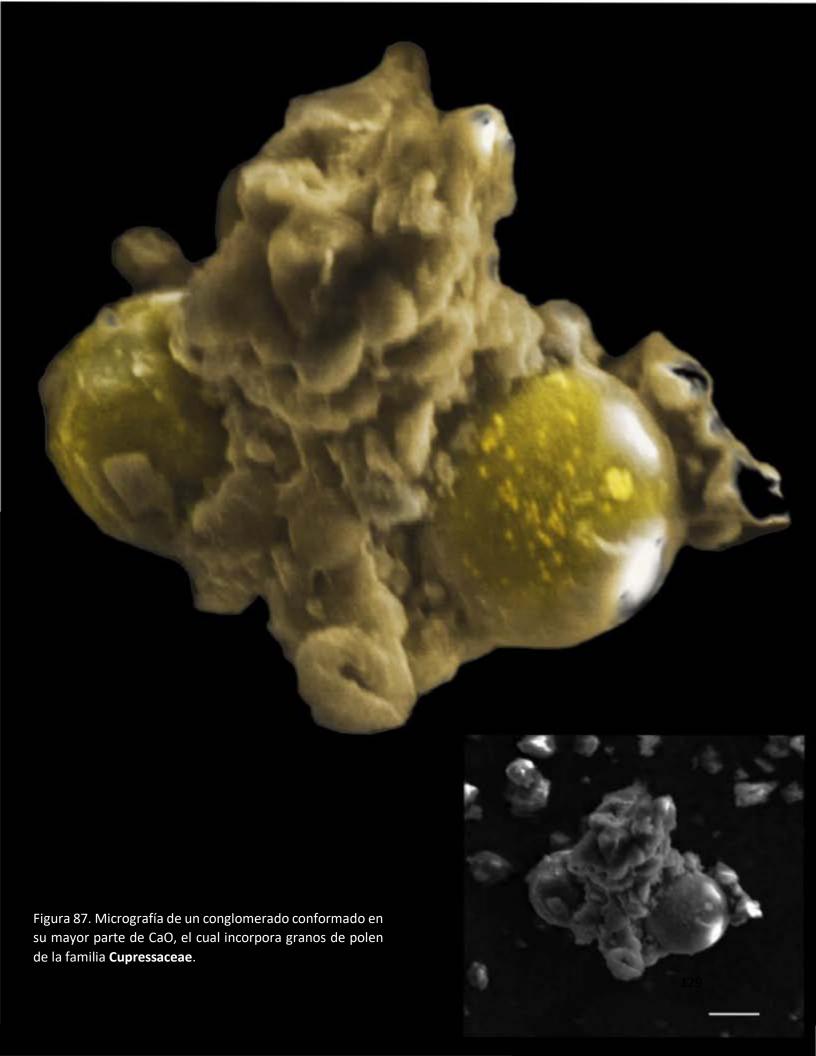
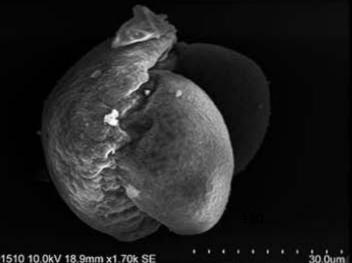




Figura 88. Fotomicrografía del grano de polen de Pinus pseudostrobus, colectado directamente del estróbilo.



SU1510 10.0kV 18.9mm x1.70k SE

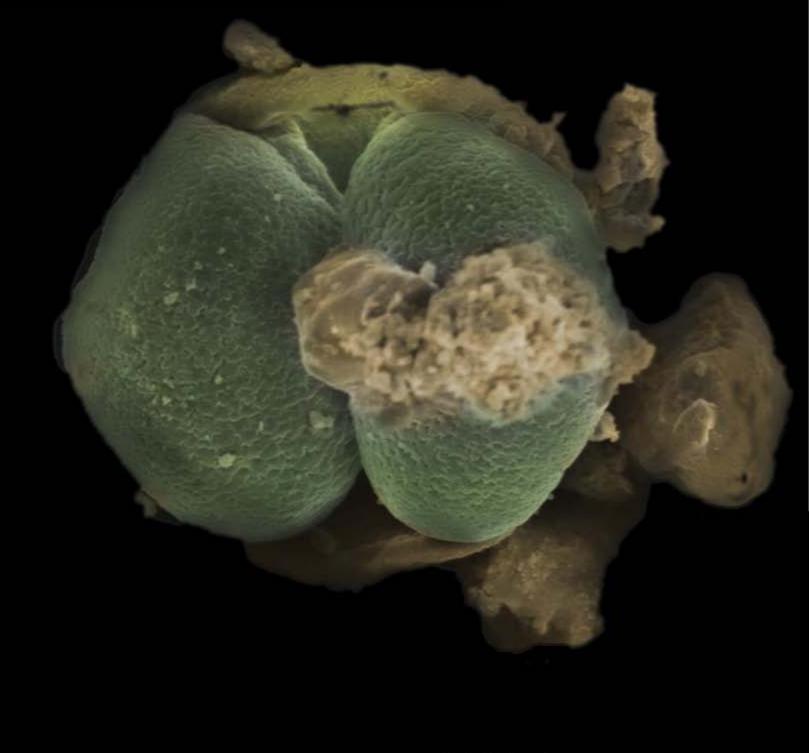


Figura 89. Micrografía del grano de polen del género *Pinus*, colectado del aire el cual presenta adherencia de partículas.

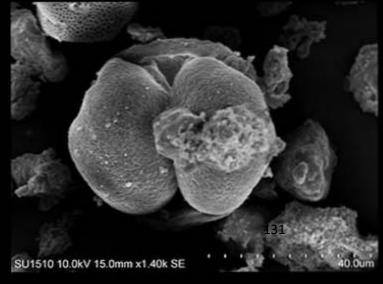
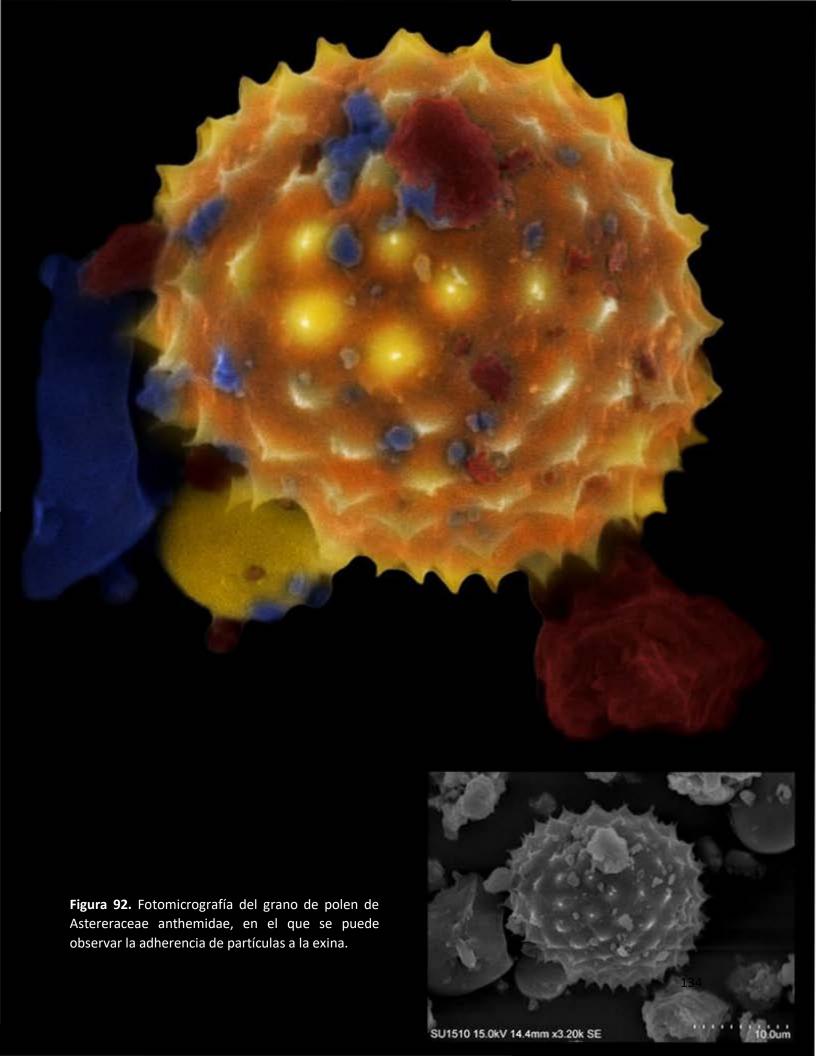




Figura 90. Fotomicrografía de conglomerado de Si colectado del aire el cual fusiona granos de polen del género *Pinus*,







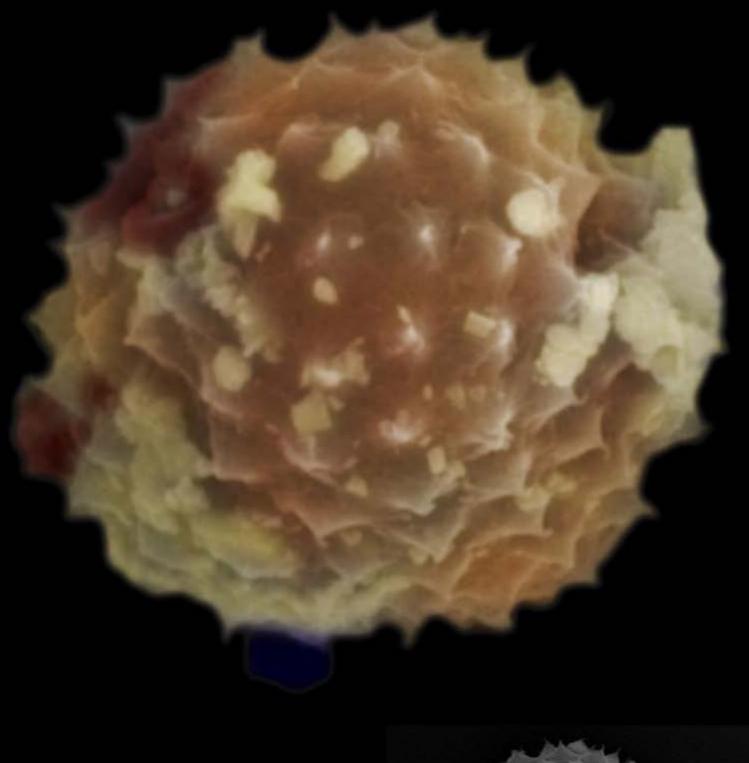
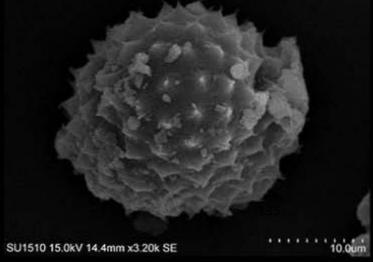


Figura 93. Fotomicrografía del grano de polen de Astereraceae tipo anthemidae, con adherencia de partículas.



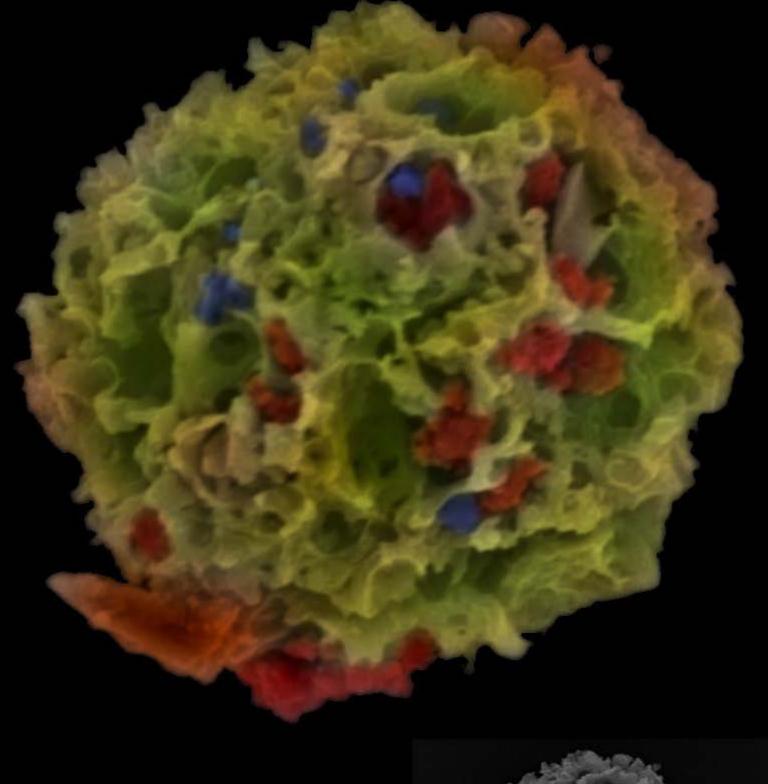
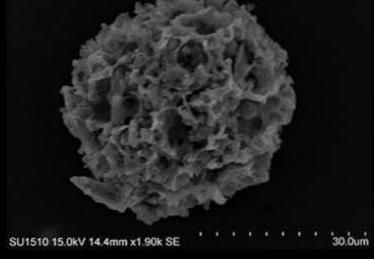


Figura 94. Fotomicrografía de partícula de combustión, con adherencia de partículas hacia el interior cavidades.



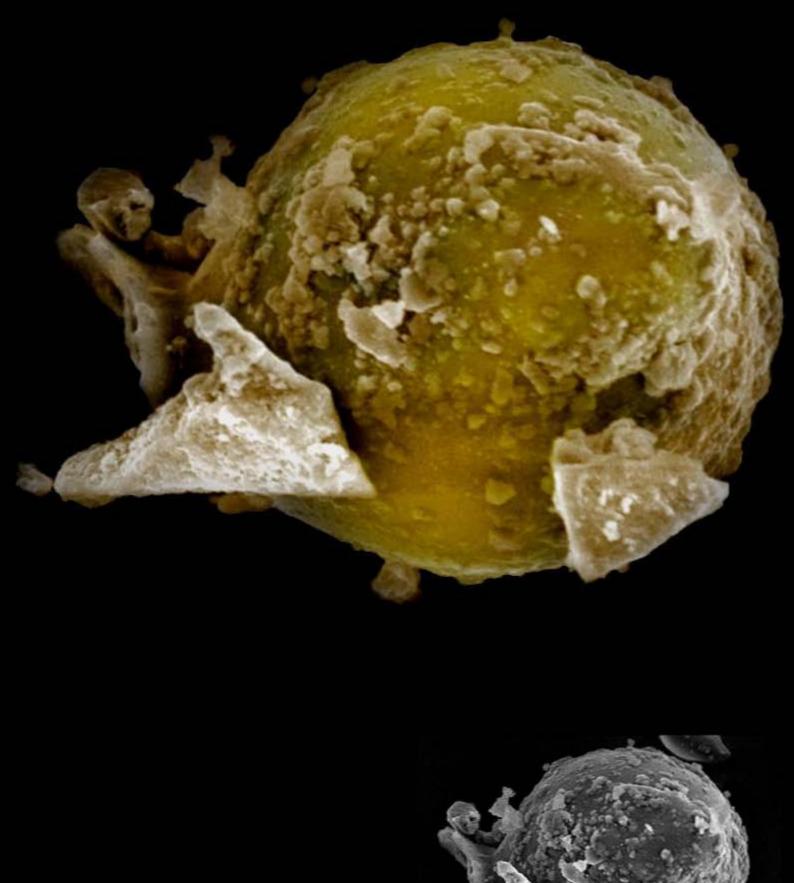
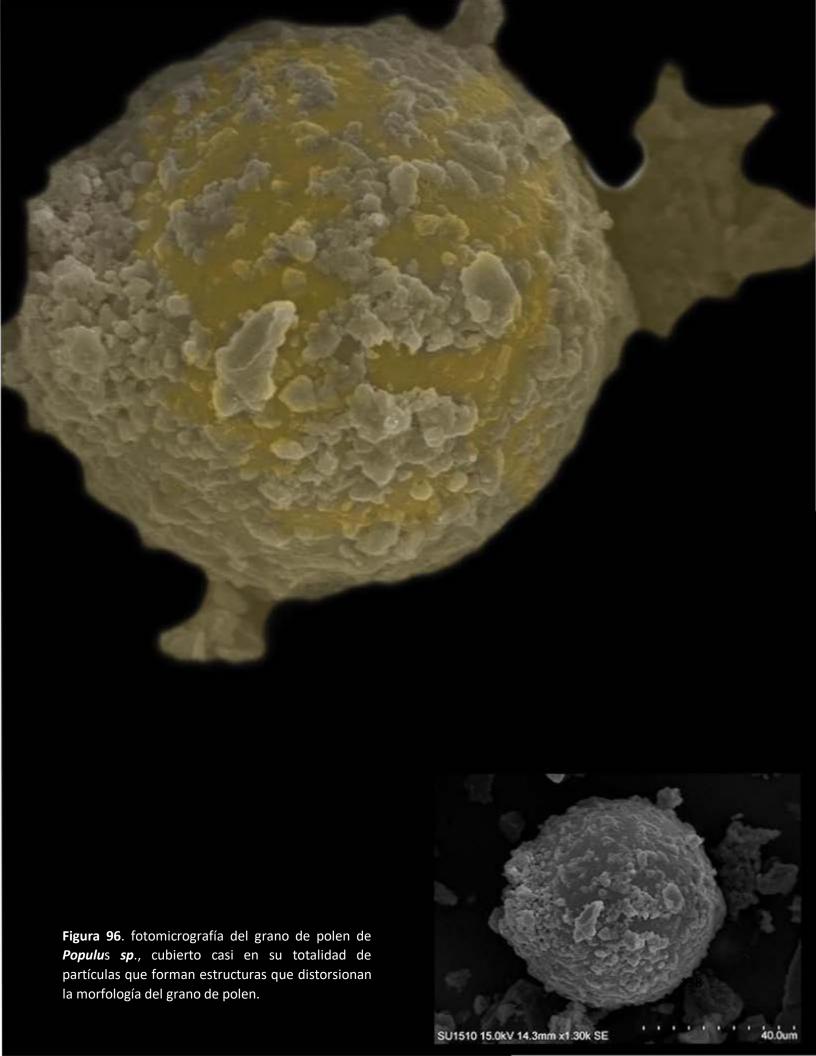


Figura 95. Fotomicrografía del grano de polen de **Populus sp**., parcialmente cubierto de partículas.



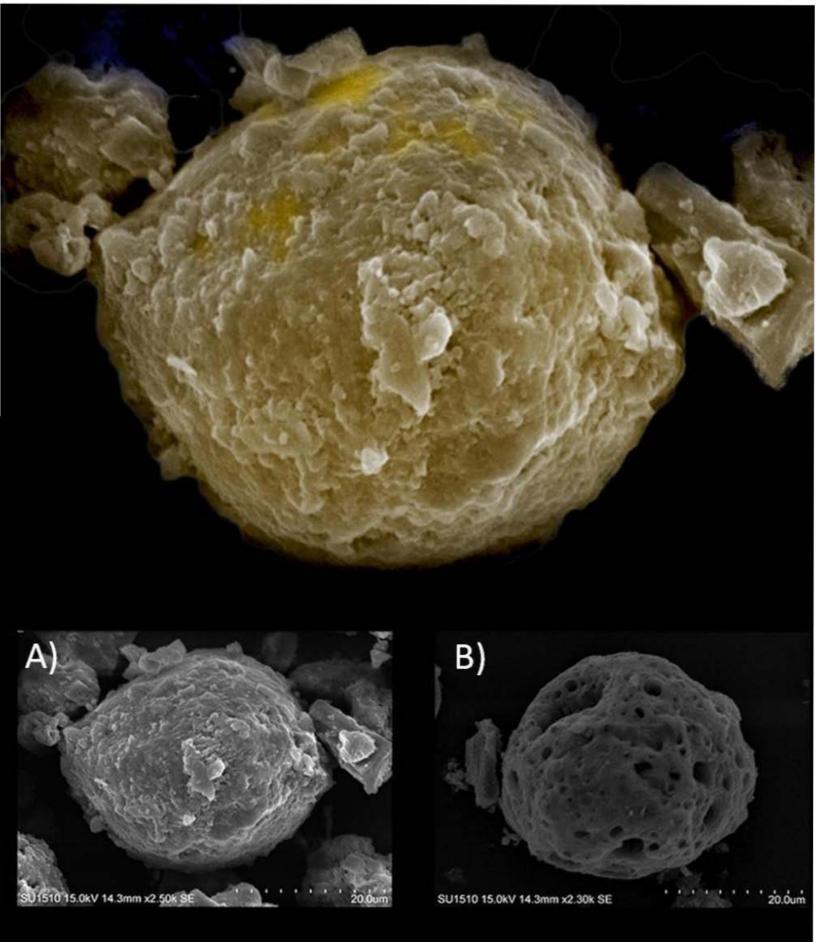


Figura 97. fotomicrografía del grano de polen de tipo *Populus sp* tomado del aire, cubierto en su totalidad de partículas, con una clara deformación, al mismo tiempo se muestra una comparación del mismo grano de polen con una partícula de diésel. A) Polen de *Populos sp*. cubierto de partículas, B) partícula formada de la combustión de diésel.

9.9.2 Análisis X-EDS

Por medio de este análisis se obtuvo la composición tanto de los granos de polen colectados de las anteras, como los del aire, así como de las partículas sobre y alrededor de los granos de polen, al igual que la composición de los conglomerados que incluyen diversos tipos polínicos.

9.9.2.1. Composición de los granos de polen de polen colectados de las anteras.

El análisis XEDS de los granos de polen colectados de la antera revelaron que éstos se componen en promedio de 7 a 11 elementos, siendo Potasio (K) el principal componente en la composición del grano de polen, presentando un porcentaje del 40.73%, seguido del fósforo (P) con 22.84%, azufre con (S) 15.87% y calcio (Ca) 6.56%, tal como se muestra en la **Figura 98**.

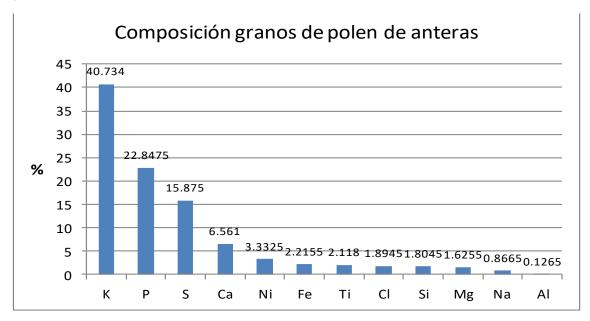


Figura 98: Porcentaje de concentración de elementos que componen los granos de polen colectados directo de las anteras, siendo el elemento K el más abundante.

9.9.2.2. Composición de los granos de polen colectados del aire

En cuanto al análisis de los granos de polen colectados del aire, se registró un total de 6 a 8 elementos que conforman el grano de polen siendo el P el principal componente representando el 34.54% seguido de K con 21.96%, S 12.21%, Ca 11.36%; además en éstos pólenes colectados del aire a diferencia de los directos de anteras, se incorpora el elemento Silicio (Si) con un porcentaje de 3.69%, como se muestra en la **Figura 99.**



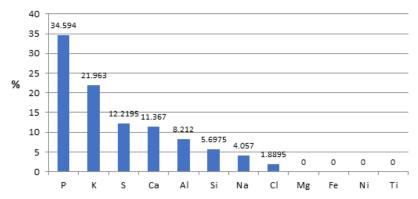


Figura 99: Porcentaje de concentración de cada elemento que compone a los granos de polen colectados aire, siendo el elemento P el más abundante.

9.9.2.3. Composición de partículas sobre granos de polen

El análisis de las partículas adheridas al grano de polen mostró que estas se encuentran principalmente conformadas por Si en un 72.49%, lográndose determinar un promedio de 8 elementos, pero en menor porcentaje como se muestra en la **Figura 100**.

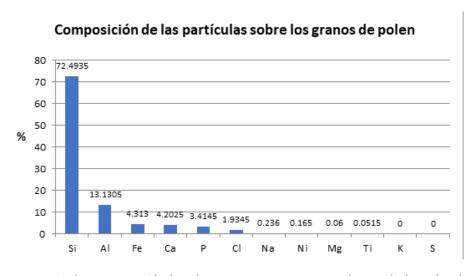


Figura 100. Porcentaje de concentración los elementos que componen a las partículas sobre los granos de polen, siendo el elemento Si el más abundante.

9.9.2.4. Composición de conglomerados.

En el análisis de MEB de los granos de polen, se pudo observar que las partículas conforman aglomerados sobre los granos de polen de diversos tipos polínicos; en los cuales, al acumular más partículas conforman conglomerados constituidos de diversos tipos de partículas de diferentes composiciones y orígenes; al mismo tiempo se pudo observar que las partículas se encuentran adheridas por medio de un mortero, que al ser analizado por medio del X-EDS, se pudo determinar dos tipos de composición Silicio (SI) y Calcio (Ca), siendo de este último el más común en las muestras.

9.9.2.4.1. Composición de conglomerados como principal componente Ca.

La composición de los conglomerados conformados principalmente por Ca, se componen de 67.82% de este elemento, seguido del 12.43% de Si, su conformación en general se compone de 9 a 11 elementos como se muestra en la **Figura 101**.

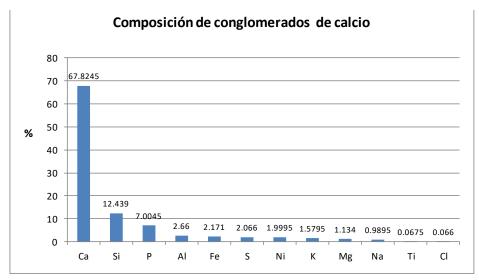


Figura 101. Porcentaje de concentración de elementos que componen los conglomerados de Ca.

9.9.2.6.2. Composición de conglomerados, como principal componente Si

Los conglomerados conformados principalmente de Si, presentaron un porcentaje de 70.69% de este elemento, mostrando una composición de entre 9 y 11 elementos, los cuales se mantienen en su mayor parte por debajo del 5% como se muestra en la **Figura 102**.

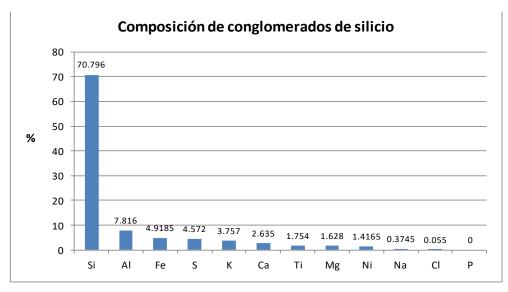


Figura 102. Porcentaje de concentración de elementos que componen los conglomerados compuestos principalmente de Si.

10.1. Discusión

La situación geográfica en que se encuentra localizado el Valle de México, así como los factores meteorológicos presentes en esta zona, promueven una gran diversidad de condiciones ecológicas en las que se diversifican diferentes tipos de vegetación, los cuales son influenciados por variaciones locales de clima (Estrada *et al.*, 2009). El deterioro de la flora original ocasionado por las diversas actividades humanas y cambios de uso de suelo ha ocasionado que cerca del 9% de la flora del Valle de México sea introducida (Rzedowski y Rzedowski, 2005). Por lo que determinar la calidad de la carga biológica atmosférica que se genera dentro de una localidad, así como la transportada desde otras regiones adquiere especial importancia, ya que la salud del ecosistema estará determinada en gran parte por la calidad de la carga biológica. Por lo que es importante conocer el tipo de partículas biológicas en el aire y su potencial para causar daños tanto a la salud humana como al ambiente como lo sugiere Calderón *et al.* (2016).

Tanto los factores meteorológicos regionales como locales, así como la propia fenología de la planta, intervienen positiva o negativamente en la producción de granos de polen viable y en la capacidad de germinación del polen, ya que dependiendo de las condiciones meteorológicas que influyen en las fases fenológicas pueden o no promover el adecuado desarrollo de los granos de polen, como se ha observado con las temperaturas previas a los periodos de floración, donde este factor atrasa o adelanta el periodo de floración, cuya duración estará determinada por la suma de las precipitaciones (Sáenz *et al.*, 1983).

Las diversas clases de vegetación que componen el Valle de México se ven reflejados en los 37 tipos polínicos descritos en el espectro aeropalinológico del presente estudio, obtenidos del monitoreo continuo de granos de polen del aire del municipio de Tlalnepantla de Baz, por un periodo de dos años ininterrumpidos, mostrando que el polen del grupo de árboles es el más abundante con el 93.9% del total para este periodo 2014-2016, siendo los tipos polínicos Fraxinus, Cupressus y Alnus los más abundantes y representativos de la temporada de secas, mientras que el grupo de herbáceas representó 6.05 % del total de este periodo, observándose con mayor abundancia en la temporada de lluvias con el tipo polínico Poaceae como el principal aportador. La mayor concentración de polen en la temporada de secas abarcó los meses de noviembre a marzo, teniendo un comportamiento similar para ambos periodos anuales estudiados, presentando un pico máximo entre enero y febrero. Éstos resultados difieren de los obtenidos en otros estudios realizados dentro de la misma zona por periodos cortos e Interestacionales (que no reflejan correctamente la abundancia y estacionalidad de los diversos tipos polínicos) como son los de Rosales-Lomeli (1985) y Cid-Martínez (2007); por otro lado, los resultados de este estudio son similares a los descritos por Bronillet (1992) para la misma zona en los que se reportan 47 tipos polínicos que también concuerdan con los obtenidos por Fuentes (2012), Olive (2012) y Calderón et al. (2016) por medio de monitoreos continuos a estos tipos polínicos como los más abundantes en diferentes demarcaciones de la CDMX.

10.2. Relación con la vegetación

La biogeografía de la zona contribuye de forma directa al contenido polínico de la atmósfera condicionando algunos elementos que le dan carácter propio al espectro aeropalinológico. Ésta característica se observó en el análisis aeropalinológico del municipio de Tlalnepantla de Baz, donde se denota el uso de plantas ornamentales como *Fraxinus sp. y* Cupressaceae como las más abundantes dentro de la zona y aunque éstos no son originarios del área, su uso intensivo como especies de reforestación se ve reflejado en los resultados del análisis aeropalinológico. Otra característica que demuestra el origen local de éstos tipos polínicos es que su variación intradiaria presenta mayores concentraciones durante las horas diurnas con picos máximos entre las 12 y 15 h., como lo observado en los tipos polínicos *Fraxinus* sp. y Cupressaceae mientras que lo contrario sucede con el tipo polínico Pinus, registrando mayores concentraciones durante la noche, lo cual indica un origen lejano (a mayor distancia mayor el tiempo que tarda en ser colectado por el muestreador) ya que este tipo polínico se ve beneficiado de las corrientes convectivas horizontales y verticales dispersando sus granos de polen a grandes distancias, alcanzando en este estudio sus máximas concentraciones alrededor de las 20 h (dependiendo si los vientos son o no favorables), concordando con lo obtenido por Trigo et al. (1997), Nieto (2008), Melgar et al. (2012), Calderón et al. (2016).

10.3. Variación estacional

La variación estacional está influenciada por diversos factores, entre ellos la ubicación del Valle de México, el cual se encuentra al límite entre la zona intertropical y la zona templada (Rzedowski y Rzedowski, 2005), de tal forma que la vegetación que se distribuye de forma natural en esta zona dependerá de manera general del incremento de luz y temperatura que favorece los periodos de floración después del invierno (Linkosalo *et al.*, 2006).

La influencia de la ubicación, así como de diversos factores tanto bióticos como abióticos se ve reflejada en la estacionalidad de los diversos tipos polínicos reportada en el presente estudio aeropalinológico, ya que las concentraciones y la diversidad de los tipos polínicos cambian a lo largo de cada periodo anual y a su vez en cada temporada, siendo la de secas (noviembre-abril) la que presenta mayores concentraciones y variedad de tipos polínicos, principalmente de árboles a diferencia de la temporada de lluvias (mayo-octubre) donde las concentraciones, así como la abundancia de tipos polínicos descienden, observándose predominancia del grupo de herbáceas; resultados que coinciden con los obtenidos por Khanduri y Sharma (2000), Hidalgo (2003), Nieto (2008), Fuentes (2012), Olive (2012), Retana (2013), Calderón *et al.* (2016) que en diversos estudios determinaron está marcada estacionalidad a lo largo de los periodos anuales estudiados.

A su vez el análisis de las concentraciones reportadas en cada periodo mostró que las concentraciones de polen disminuyen de un periodo anual a otro, siendo mayores durante 2014-2015 en comparación con 2015-2016, condición que se ha venido reportando desde 2010 en diversos trabajos como en los de Fuentes (2012), Olive (2012) y Calderón *et al.* (2016), en los que se demostró mediante monitoreos continuos variaciones interanuales en

la concentración de polen en la atmósfera, observándose un decremento a lo largo de los años, el cual se puede deber a diversos factores tanto intrínsecos de cada especie vegetal (como ocurre con *Quercus* sp. que presenta patrones de floración bi-anuales) o extrínsecos, como condiciones climáticas que intervienen en el desarrollo, emisión y dispersión de los granos de polen, así como al cambio de vegetación (proceso de reforestación y agricultura) y desaparición de vegetación urbana y de bosques, tal como plantean Kobzar (1999), Rendueles (2001), Rantaa *et al.* (2008), Bryce *et al.* (2010) y Calderón *et al.* (2016). Por lo anterior, mantener un monitoreo aerobiológico continuo permite observar la variación en la concentración aeropolínica ya sea su incremento, reducción, ausencia o introducción de un nuevo tipo polínico en la zona.

Al comparar la estacionalidad de los principales tipos polínicos del presente estudio con la de los tipos polínicos del calendario aeropalinológico de la CDMX presentado por Calderón *et al.* (2016), el cual es el resultado del monitoreo continuo de 5 años, fue posible observar una similitud en el comportamiento de la estacionalidad de los tipos polínicos colectados, variando solo en concentraciones de polen, debido probablemente a la diferencia en extensión de áreas verdes, las cuales son más abundantes en la Delegación Coyoacán a diferencia del municipio de Tlalnepantla de Baz, que en su mayor parte es una zona industrial y habitacional, a pesar de ésta diferencia es posible determinar claramente la similitud en el comportamiento de los periodos de polinización ya que gran cantidad de pólenes son aerotransportados por el viento de una zona a otra.

10.4. Variación intradiaria

La ocurrencia diaria de granos de polen en atmósfera, está dada por patrones de emisión de las plantas a lo largo del día, los que a su vez están influenciados por diversos parámetros meteorológicos, como la magnitud y dirección del viento, por lo que se estimó la variación intradiaria de los principales tipos polínicos en sus periodos principales de polinización, obteniéndose de forma general (polen total) que las concentraciones de polen son mayores hacia la segunda mitad del día, coincidiendo con lo reportado por Cid-Martínez (2007) quien estimó este comportamiento dentro de la misma zona, calculando que las concentraciones máximas se registraban entre las 17 y 19 h, como se observó en el presente estudio, lo que también coincide con los resultados obtenidos por Bronillet (1992) para la zona norte de la CDMX en la delegación Gustavo A. Madero que reporta no solo la variación intradiaria de polen total, sino también las de cada tipo polínico, siendo similares a los datos reportados en el presente estudio para, *Fraxinus sp*, Cupressaceae y tipo Pinus. A su vez estos resultados coinciden con los descritos por Calderón et al. (2016) en el monitoreo aerobiológico de la delegación Coyoacán, CDMX, demostrando que las altas concentraciones de tipos polínicos como Fraxinus sp y Cupressaceae se dan hacia la segunda mitad del día, disminuyendo hacia la noche, como se observó en el presente estudio.

El análisis de la variación intradiaria de cada periodo anual mostró que, aunque los porcentajes de concentración varían en cada periodo, el comportamiento es similar,

registrándose concentraciones altas en las mismas horas y que, aunque las concentraciones varían de año en año, éstas siempre mantienen un porcentaje mínimo del 5% similar a lo reportado por Brolinet, (1992); Trigo *et al.*, (1997); Recio *et al.*, (1999); Nieto, (2008); Calderón *et al.*, (2016).

10.5. Relación con los parámetros meteorológicos

La influencia de los factores meteorológicos como temperatura, humedad relativa y precipitación en condiciones extremas se ven reflejados en la formación y maduración de los granos de polen, ya que éstos factores influyen en el desarrollo de los órganos reproductivos, interviniendo antes y durante la fase reproductiva, etapa en que la planta es más susceptible a presentar algún daño en el grano de polen (Castillo y Alvarado 2002; Díaz *et al.*, 2006; Imin *et al.*, 2006; Gothandam *et al.*, 2007). Los daños provocados por acción de estos factores en condiciones extremas sobre las anteras se observan en su ultra estructura del grano de polen que promueve su esterilidad (Zinn *et al.*, 2010; Dolferus *et al.*, 2011).

Durante los periodos de polinización la temperatura es un factor que influye directamente sobre los granos de polen, ya que facilita la emisión al promover la apertura de las anteras (dehiscencia), así como el transporte tanto vertical como horizontal de los granos de polen en la atmósfera (Yang et al., 2009; Fuentealba et al., 2014). Bajo este planteamiento se observó que las altas concentraciones se encuentran asociadas a la segunda mitad del día, después de incrementarse la temperatura y disminuir la humedad relativa; observaciones que son similares a las reportadas en diversos estudios llevados a cabo por Trigo et al. (1991), Galán et al. (2001), Nieto (2008), Calderón et al. (2015).

Por otra parte, la combinación de factores como las bajas temperaturas al inicio de la temporada de secas junto con las precipitaciones de finales de la temporada de lluvias, condiciona el crecimiento de las plantas, por lo que el desarrollo de los granos de polen al interior de las anteras y estróbilos se ven fuertemente comprometidos por la acción de estos factores (Valero y Picado, 2001).

Los daños en los granos de polen por efecto de las bajas temperaturas (menores a los 16 °C) se observan desde la micróspora hasta la antesis (Dolferus *et al.*, 2011) ya que durante su producción las bajas temperaturas afectan a las células del tapete (recubrimiento interno de la antera) provocando esterilidad masculina debido a la inadecuada formación del grano de polen, observándose que los pólenes presentan una exina adelgazada, así como disminución del tamaño y deformidad o apreciándose al interior de la antera ausencia de granos de polen. Estos daños están asociados a la perdida funcional del tapete en el momento de mayor metabolismo, impidiendo el adecuado suministro de nutrientes necesarios para la formación de los granos de polen; principalmente los precursores de la esporopolenina componente principal de la exina (Graçan *et al.*, 2005; Mamun *et al.*, 2006; Gothandam *et al.*, 2007).

En cuanto a los daños provocados por altas temperaturas (mayores a los 27 °C), se han reportado efectos como el acortamiento del periodo de crecimiento de las estructuras reproductivas, registrándose un menor porcentaje de viabilidad y germinación de granos de polen, debido a que al igual que con las temperaturas bajas las células del tapete se ven comprometidas, promoviendo la formación de granos de polen subdesarrollados. Por otra parte, también las altas temperaturas se relacionan con un bajo porcentaje de dehiscencia de las anteras, por lo que se observa una menor dispersión de los granos de polen (Prasad et al., 2006). Considerando lo anterior, en el presente estudio no fue posible observar la influencia de las altas temperaturas en la comparación de los registros de temperatura con los datos de variación estacional de polen total y de los principales tipos polínicos, ya que se observó que la temperatura desciende al comienzo del periodo principal de polinización, llegando a una temperatura media de 16 °C y alcanzando una máxima de 21 °C, rango que interactúa de forma adecuada en la apertura de anteras, así como en la dispersión de granos de polen, sin embargo hay que considerar que este análisis se llevó a cabo con temperaturas promedio y que en determinados periodos a lo largo del año llegan a ser mayores de 27 °C por cortos periodos de tiempo que pueden llegar a promover afecciones en los granos de polen de determinadas especies.

Éstas fluctuaciones de temperatura que se presentan en las etapas previas al desarrollo de los granos de polen y que podrían afectar el desarrollo de éstos, se observaron como granos de polen colapsados al ser analizados al MEB, el cual reveló un gran número de ellos; característica que refleja un adelgazamiento de la exina debido al subdesarrollo del grano de polen como lo explica Cox *et al.* (1983) al observar ésta característica en granos de polen desarrollados en diversos grados de temperatura. Ésta condición se observó con mayor frecuencia en granos de polen colectados del aire y anteras de zonas de avenidas que en aquellos granos de polen tomados de anteras de zonas naturales, las cuales presenta mínimos o nulos granos de polen colapsados, sin embargo y como se discutirá más adelante, ésta situación no es una determinante para evaluar el efecto de la temperatura en el grano de polen, ya que el adelgazamiento del grano de polen también está asociado a la influencia de ciertos contaminantes.

10.6. Relación con contaminantes

La influencia de contaminantes como: O₃, CO, SO₂, NO₂ y PM₁₀ inducen diferentes afecciones en los granos de polen que van desde cambios químicos hasta morfológicos, tal como lo han reportado en diversos estudios autores como Manning y Feder (1976), Thérese *et al.* (1991), Motta *et al.* (2004), Chichiriccó y Picozzi (2007), Traidl-Hoffman *et al.* (2009), Bosch-cano *et al.* (2011), Sousa *et al.* (2012), Gonçalves *et al.* (2013) y Sénéchal *et al.* (2015) observaron que éstos cambios pueden ocurrir durante todas las etapas de desarrollo del grano de polen.

En el municipio de Tlalnepantla de Baz el análisis de contaminantes como: O_3 , CO, SO_2 , NO_2 y PM_{10} mostró que O_3 , SO_2 y NO_2 presentaron concentraciones mayores a lo establecido por las Normas Mexicanas (NOM-020-SSA1-2014, NOM-022-SSA1-2010 y NOM-023-SSA1-1993,

respectivamente), mientras que el CO y PM₁₀ se mantuvieron por debajo de los limites establecido en sus Normas Mexicanas correspondientes (NOM-021-SSA1-1993 y NOM-025-SSA1-2014). Al comparar las concentraciones de los diferentes contaminantes con las concentraciones de polen de los tipos polínicos *Fraxinus sp.*, Cupressaceae y tipo Pinus, se observó que durante el PPP de éstos tipos polínicos, el cual inicia en el mes de noviembre durante la época de secas, las concentraciones de los contaminantes son mayores en comparación a las concentraciones reportadas previas al PPP, las cuales no sobrepasan los límites permisibles en las normas mexicanas, sin embargo aunque las concentraciones son relativamente bajas éstas pueden afectar el desarrollo de los granos de polen ya que durante este periodo se da la formación de las yemas florales, las cuales, pueden tener un subdesarrollo por la influencia de éstos contaminantes que pueden estar afectando de forma negativa tanto la morfología como la química de los granos de polen, tal como lo explican Ribeiro *et al.* (2014) quien reportaron que al exponer polen de *Quercus sp.* y *Platanus sp.* a concentraciones de O₃ de 58 ppm (limite permisible en la Unión Europea) presentaban un decremento de la proteína soluble.

Los efectos ocasionados por contaminantes como: O₃, CO, SO₂, NO₂ y PM₁₀ no fueron estudiados de forma individual en el presente estudio. Sin embargo, fue posible observar mediante el análisis de polen por microscopía electrónica de barrido, así como pruebas de viabilidad y de germinación, diversos efectos en su morfología y desarrollo, similares a los reportados por autores como Manning y Feder (1976), Thérese *et al.* (1991), Motta *et al.* (2004), Chichiriccó y Picozzi (2007), Traidl-Hoffman *et al.* (2009), Bosch-cano *et al.* (2011) Sousa *et al.* (2012), Gonçalves *et al.* (2013).

En el caso del ozono se pudo observar que las concentraciones previas al inicio de los periodos principales de polinización PPP son más altas en comparación con las reportadas por el PPP, cantidades que estimularían el aumento del potencial alergénico durante el desarrollo de los granos de polen como lo describen Beck et al. (2013), Ribeiro et al. (2014); a su vez este contaminante durante el desarrollo del grano de polen provoca una disminución en el porcentaje de viabilidad como lo demostrara Pasqualini et al. (2011), al observar un decremento de hasta el 17% en polen fumigado con O₃ en comparación con el polen no fumigado. Estos resultados coinciden con los obtenidos en el análisis de viabilidad realizado en el presente estudio que mostró que los pólenes expuestos en zonas con ambientes contaminados presentaron un menor porcentaje de viabilidad, probablemente debido al incremento de especies reactivas de oxigeno que se incrementan al interior de la célula provocando muerte celular como lo detallan Masuch et al. (1997), Pasqualini et al. (2011).

En cuanto a la exposición de los granos de polen a CO y NO₂, autores como Ruffin *et al.* (1983), Lhuissier *et al.* (1999), Koti *et al.* (2005), Visez *et al.* (2013) han reportado cambios en la química del grano de polen, así como la disminución de hasta el 70% de la proteína soluble, pero a su vez, también encuentran cambios estructurales como el adelgazamiento de la exina presentando granos de polen colapsados y con disrupciones en la ornamentación,

característica observadas en el análisis al microscopio electrónico de barrido en este estudio donde se presentaron granos de polen colapsados en las muestras tomadas del aire, lo que refleja una exina adelgazada y débil tal como lo señala Lu *et al*. (2014).

En el caso de las partículas PM₁₀ los efectos generados por la exposición a éstos materiales van desde cambios tanto en la composición química como estructurales, ya que en el trayecto de los granos de polen por la atmósfera especialmente en ambientes contaminados las aeropartículas suelen adherirse a la exina del polen. Las PM₁₀ presentan diversos orígenes, tanto naturales como antropogénicos, siendo éstos últimos los que provocan mayores cambios químicos al ser materiales altamente oxidantes que reaccionan con los componentes de la pared del polen cambiando la configuración de éstos, tal como lo explican Knox et al. (1997) que al observar que partículas antropogénicas, como las provenientes de la combustión del diésel al adherirse a la exina del grano de polen exacerba el potencial alergénico del grano del polen. Este tipo de partículas fueron observadas en el presente estudio, formando desde una capa ligera hasta conglomerados completos (asociaciones de partículas de diferentes orígenes con uno o más granos de polen), los cuales fueron reconocidas por su morfología como lo explica Aragón et al. (2006). La importancia de esto radica en que los aglomerados de partículas pueden colapsar los granos de polen o cambiar su morfología, impidiendo el reconocimiento del polen por parte del estigma como lo explica Thérense *et al.* (1991).

Sin embargo, no todos los tipos polínicos son igualmente susceptibles al efecto de los contaminantes ya que aquellos que pertenecen a la subdivisión de las gimnospermas, generalmente presentan una mayor resistencia a los daños ocasionados por contaminantes a diferencia de las angiospermas, las cuales suelen ser más susceptibles, como lo han señalado Manning y Feder (1976), Beda (1982), Ruffin *et al.* (1983), Wolters *et al.* (1987), Cox *et al.* (1983), Sénechal *et al.* (2015) quienes demostraron que las plantas con hojas más anchas por lo regular angiospermas suelen ser más propensas a daños por la acción de los contaminantes, ocasionando que se dañen estructuras prefoliares, comprometiendo el desarrollo de los granos de polen haciendo de la subdivisión angiosperma un mejor indicador de los efectos de contaminantes, por otra parte, cada contaminante puede causar diferentes tipos de daños de acuerdo al tipo polínico, los cuales reaccionan de formas distintas dependiendo de la cantidad de agua almacenada que permitirá una menor o mayor reactividad de los agentes externos (Cox *et al.*, 1983).

10.7. Viabilidad

El análisis de viabilidad permite inferir la influencia del medio ambiente en los granos de polen al comparar zonas de ambientes contaminados con zonas de ambientes rurales con menor grado de contaminación como lo describen Gottardini *et al.* (2004) y Duro *et al.* (2013), quienes observaron un decremento de la viabilidad en granos de polen en zonas con mayor tránsito vehicular en comparación con granos de polen de zonas rurales, los cuales presentaban un mayor grado de viabilidad.

La interacción del grano de polen, tanto con factores meteorológicos como con contaminantes ambientales afectan en gran medida la viabilidad del polen, como lo han reportado diversos autores como Lannotti *et al.* (2000), Gottardini *et al.* (2004), Rezanejad *et al.* (2007, 2008, 2009) y Duro *et al.* (2013) quienes determinaron que los granos de polen tienden a reducir el porcentaje de viabilidad cuando son expuestos a contaminantes, especialmente en aquellos donde la influencia industrial y vehicular es más activa. En el presente estudio se observó este comportamiento, ya que los granos de polen presentaron porcentajes de viabilidad más bajos en los provenientes de avenidas y camellones en comparación con los pólenes colectados de áreas naturales donde el porcentaje de viabilidad fue más alto.

El análisis de viabilidad por medio de la prueba enzimática TTC es considerada como rápida y eficaz por autores como Vieitez (1952), Gottardini *et al.* (2004), Duro *et al.* (2013) quienes demostraron que la tinción de color rojo, producto de la reducción de las sales de cloruro 2,3,5-trifeniltetrazolium a trifenil formazan por acción de la enzima deshidrogenasa, forma leucoformas de color rojo al interior del grano de polen lo que permite determinar que es viable. Sin embargo, no siempre una tonalidad rojiza es sinónimo de viabilidad, ya que como se observó en las muestras obtenidas de avenidas, donde la emisión de contaminantes es mayor, se presentaron colores rojos intensos y muy pálidos con sus variantes intermedias que no se consideraron viables ya que los granos de polen de color intenso provienen de una infiltración del reactivo en granos de polen con daño estructural, mientras que los tonos pálidos se presentan en granos de polen que ya ha perdido la actividad enzimática dejando las tonalidades intermedias sin una valoración por lo cual es necesario en cada especie llevar a cabo una gama de color que permita elevar el criterio de evaluación (Vieitez, 1952).

A su vez, autores como Gottardini *et al.* (2004) y Duro *et al.* (2013) determinaron que existen tipos polínicos más resistentes que otros al efecto de los contaminantes, como *Pinus nigra L.* el cual, presentó porcentajes de viabilidad muy semejantes, tanto en zonas contaminadas como en zonas de bajos niveles de contaminación. En el presente estudio, los tres tipos polínicos analizados: *Fraxinus uhdei, Cupressus lusitanica* y *Pinus pseudostrobus* mostraron reducciones en sus porcentajes de viabilidad conforme la zona se encontraba más próxima a puntos de emisión de contaminantes, no obstante, se pudo observar diferencias entre los porcentajes de viabilidad de cada tipo polínico, reportándose menor el porcentaje de viabilidad de *Fraxinus uhdei* al de los tipos polínicos *Cupressus lusitanica* y *Pinus pseudostrobus*; por lo que se consideró que *Fraxinus uhdei* es más afectado por la influencia de los contaminantes.

10.8. Germinación

Los resultados obtenidos en la prueba de germinación para el tipo polínico *Fraxinus uhdei* en zonas rurales con un porcentaje 15.88% coincidió con los resultados obtenidos por Rejón *et al.* (2010), ya que esté porcentaje se encuentra dentro del rango de 1.4 a 42% de germinación en la familia **Oleaceae** en zonas rurales.

El bajo potencial de germinación reportado para los principales tipos polínicos en las zonas de parque y jardines, así como avenidas, podría relacionarse con las altas concentraciones de contaminantes como O₃, SO₂ y NO₂ dados en ambos periodos anuales (2014-2015 Y 2015-2016), tal como lo demuestran los estudios realizados por Chichiriccó *et al.* (2007), Cuinica *et al.* (2014 (a, b)) quienes demostraron que contaminantes como los mencionados pueden reducir el potencial de germinación de los granos de polen expuestos, mientras que los tipos polínicos de *Cupressus lusitanica* y *Pinus pseudostrobus* presentaron mayores porcentajes de germinación debido quizás a la fenología de cada planta productora o a la resistencia de ciertas plantas a los contaminantes, como lo son las especies *Cupressus lusitanica* y *Pinus pseudostrobus* que al pertenecer a la subdivisión de las gimnospermas, éstas suelen ser más resistentes al efecto de los contaminantes (Cox *et al.*, 1983).

Por otra parte, hay que considerar que el análisis de germinación de polen *in vitro*, como el llevado a cabo en el presente estudio, puede llegar a subestimar los resultados al aplicarse en otras especies, debido a que en condiciones naturales estructuras como los estigmas de las flores femeninas tienen la capacidad de rehidratar y reactivar los granos de polen que lleguen a él, lo cual no es posible en muchas ocasiones con los diversos medios de cultivo, por lo cual como lo sugiere Sénéchal *et al.*, (2015) ésta prueba siempre debe de estar de la mano de otra que verifique la viabilidad del grano de polen. En el presente estudio, se pudo observar que la germinación de los diferentes tipos polínicos reduce cuando la planta productora se encuentra expuesta a zonas contaminadas a diferencia de zonas rurales donde la germinación es mayor, tal como lo demostró Chichiriccó *et al.* (2007), Cuinica *et al.*, (2014 (a, b)).

10.5. Microscopia electrónica.

El análisis de microscopía electrónica de barrido (MEB) mostró daños estructurales en los granos de polen, lo que concuerda con lo reportado por Manning y Feder (1976), Thérese *et al.* (1991), Motta *et al.* (2004), Chichiriccó y Picozzi (2007), Guedes *et al.* (2009), Traidl-Hoffman *et al.* (2009), Bosch-cano *et al.* (2011), Sousa *et al.* (2012), Gonçalves *et al.* (2013), Sénéchal *et al.* (2015) los cuales observaron daños durante el desarrollo de los granos de polen provocados por exposición a contaminantes como O₃, CO, SO₂, NO₂. En el presente estudio el análisis MEB reveló cambios en la morfología del grano de polen al alterarse la ultraestructura del mismo, producto de la adherencia de partículas a la exina.

Las observaciones al MEB mostraron diferencias morfológicas en los granos de polen colectados del aire con respecto a los tomados directamente de anteras y estróbilos de *Fraxinus* y Cupressus. En las muestras de polen del aire se observaron pólenes colapsados, característica que fue menos frecuente en los pólenes provenientes directamente de las anteras o de los estróbilos. Ésta diferencia en los cambios morfológicos refiere un posible adelgazamiento de la exina, lo cual es una afección promovida por la exposición durante el desarrollo a contaminantes como O₃, NO_X, como lo reportan autores como Cerccau-Larriva y Dcrouct (1988), Thérese *et al.* (1991), Peltre *et al.* (1991), Duhoux *et al.* (2009), Shahali *et al.*

(2009 a, b), Cuinica et al., (2014 a,b), Sénéchal et al., (2015) quienes observaron que éstos adelgazamientos solo se presentan en granos de polen expuestos a contaminantes o en su defecto, en granos de polen donde la planta de origen se desarrolla en ambientes contaminados.

El análisis al MEB mostró la adherencia de partículas en los granos de polen colectados del aire, cuyos tamaños fueron desde 10 nanómetros de diámetro hasta un poco más de los 100 micrómetros (Ramírez *et al.*, 2007), tamaño que les facilita adherirse e incrustarse a los espacios que se forman en los distintos tipos de ornamentaciones de los granos de polen.

Las partículas adheridas a la pared de los granos de polen se observaron como un polvillo que recubre el grano de polen, acumulándose y formando aglomerados que llegan a cubrir todo el grano de polen y el cual a su vez, aglutina partículas de diferentes composiciones y orígenes conformando conglomerados que utilizan elementos de calcio (Ca) y silicio (Si), como material aglutinante, el cual es muy abundante en la atmósfera; en dichos conglomerados difícilmente se pueden identificar partículas orgánicas como los granos de polen, ya que éstos suelen estar recubiertos por diversas capas de partículas; éstas observaciones son similares a las reportadas por autores como Behrendt *et al.* (1992), Ghanati y Majd (1995), Knox (1997), Risse 2000, Majad *et al.* (2004), Chehregani *et al.* (2004), Séhénechal *et al.* (2015) los cuales confirmaron la adherencia de partículas en diversos tipos polínicos y cuyos orígenes pueden ser tanto naturales como antropogénicos, presentando diversos cambios en la morfología que permiten identificar y diferenciar las partículas adheridas de los granos de polen (Ramírez *et al.*, 2007).

10.6. Análisis por Espectrometría de Dispersión de Energía de rayos X, X-EDS

El análisis X-EDS mostró que los granos de polen tomados directamente de las anteras y estróbilos presentan un total de 10 elementos en el que predominó K, lo que concuerda con lo reportado por Peltre *et al.*, (1991) y Cerseau-larrival y Derrouet (1998) quienes determinaron que la composición química del grano de polen colectado directo de la antera, está conformada principalmente de elementos como K, Cl, S, p, Ca, Mg, Fe Si, Al y Na siendo K el dominante. Cerseau-larrival y Derrouet (1991) también reportaron que los granos de polen al estar expuestos ambientes contaminados presentan una reducción de 5 a 6 elementos en su composición, a su vez resaltan la ausencia de Al y Si. Lo que concuerda con los resultados obtenidos en este estudio, ya que también se observó una reducción de 6 a 8 elementos y la ausencia de Al.

Al mismo tiempo, con este análisis se observó una inversión de los elementos dominantes, ya que en los pólenes colectados de la anteras el elemento predomínate fue K, mientras que en los pólenes colectados del aire el elemento predominantes fue P, ésta inversión coincide con la reportara en los estudios realizados por Nilsson y Berggren (1991), Cerseau-Larrival y Derrouet (1998) los cuales mostraron que los granos de polen expuestos a ambientes contaminados presentaron una inversión de elementos dominantes debido a la ganancia

dada por los elementos que componen a las partículas que se adhieren a la exina del grano de polen; siendo más frecuentes cuando los granos de polen son expuestos a gases contaminantes en zonas de alta afluencia vehicular mostrando inversiones por Cl, P, S, Al, Mg o Si.

En estudios realizados por Nilsson y Johansson (1986) y Nilsson (1988) se ha reportado que la composición de las partículas de ambientes contaminados presentan elementos como Al, Si, P, K, Br, Ca o Fe, los cuales se observaron en el presente estudio, ya que análisis, tanto en las partículas situadas sobre el grano de polen así como las cercanas a él se observó que el principal es Si y otras donde el dominantes es Ca, materiales que son considerados Aragón et al. (2006) como predominantes en la atmósfera debido a su origen natural, producto de la erosión eólica que a su vez pueden estar combinadas, como se encontró en gran abundancia en las muestras analizadas; lo que coincide con los resultados reportados por Cerceau-Larrival et al. (1991), Thérese et al. (1991), Ramírez et al. (2007), Aragón et al. (2006). Adicionalmente, estas partículas al irse acumulando forman conglomerados en los que se incluyen partículas de diferentes orígenes como lo reporta Ramírez et al. (2007).

Por otra parte, el análisis X-EDS de los conglomerados puede suministrar información sobre la calidad del aire, debido a que éstas estructuras incorporan distintos tipos de partículas, las cuales pueden dar información sobre las actividades llevadas a cabo dentro de cada zona, como lo demostró Ramírez *et al.* (2007) al analizar éstas estructuras y concluir que la presencia de elementos como el Ti indica actividades industriales. Esto coincide con la información obtenidos en el presente estudio, ya que el análisis de los conglomerados de Ca arrojó la presencia de P (7%) y Ti (0.6%) indicadores de actividades industriales dentro de la zona monitoreada, lo cual es concordante con el tipo de operaciones desarrolladas en la zona de estudio Tlalnepantla de Baz. Con respecto a los conglomerados conformados principalmente de Si, el análisis no mostró presencia de P o Ti como parte de su composición, debido quizá a su menor tamaño y abundancia.

Por otra parte, hay que considerar que los elementos que constituyen éstos conglomerados son altamente oxidantes y pueden llegar a afectar biomoléculas como proteínas y ácidos nucleicos, comprometiendo gravemente la integridad, viabilidad y potencial germinativo de los granos de polen (Harrison y Feder, 1974; Wolters y Markens, 1987; Matsui y Omasa, 2002; Gonçalves *et al.*, 2013). Entre los componentes oxidados que afectan el grano de polen están el S, P y Ca siendo este último, el componente más abundante en los conglomerados de las muestras estudiadas, elemento que en la atmósfera se encuentra como oxido de calcio (CaO), el cual procede de procesos geológicos y de construcción Ramírez *et al.* (2007).

Bioindicadores

El polen es considerado como un sensible bioindicador de contaminación atmosférica por autores como Wolters y Markens (1987), Bellani et al. (1988), Contois y Shemenauer (1991), Thérese et al. (1991), Contois y Perfetto (1996), Iannotti et al. (2000), Onorari et al. (2000), Gottardini et al. (2004), Chehregani et al. (2006); Sénéchal et al. (2015) quienes probaron la eficiencia de la viabilidad de los granos de polen como indicador de contaminación atmosférica al observar que la interacción con ambientes contaminados promueve tanto la disminución de la viabilidad como del potencial de germinación de los granos de polen, aunque al mismo tiempo, reportan especies tolerantes e intolerantes a ambientes contaminados. En el presente estudio se encontró que los tipos polínicos Fraxinus uhdei, Cupressus lusitanica y Pinus pseudostrobus, mostraron intolerancia a ambientes contaminados, siendo Fraxinus uhdei el más afectado, debido probablemente a que es una especie más sensible al presentar hojas más anchas y estructuras foliares más expuestas a los contaminantes del ambiente en que se desarrolla. Autores como Ruffin et al. (1983), Wolters et al. (1987), Cox et al. (1983) consideran a este tipo de plantas más sensibles como excelentes bioindicadores de contaminación ambiental. Aunado a lo anterior, Fraxinus uhdei es uno de los tipos polínicos más abundantes en la Ciudad de México y su periodo de floración abarca casi toda la temporada de secas lo que la hace más adecuada para ser utilizada como bioindicadoras, ya que además los pólenes están presentes cuando los índices de contaminación atmosférica son muy elevados en la Zona Metropolitana del Valle de México.

Con respecto a los pólenes de la especie *Cupressus lusitánica*, que también resultó ser sensible a la contaminación atmosférica en menor medida que *Fraxinus uhdei*, no se consideró como un buen bioindicador de contaminación ambiental ya que al presentar una múltiple gama de colores durante la prueba TTC, dificulta la toma de decisiones sobre la actividad metabólica de la membrana del polen, ya que autores como Duro *et al.* (2013) solo consideran el color rojo como polen viable dejando un gran número de pólenes con diferente gama de colores como no viables.

El polen de la especie *Pinus psudostrobus* al igual que el anterior no fue considerado como un buen bioindicador de contaminación ambiental debido a que no forma parte predominante de la vegetación local y se localiza de forma aislada en parques y camellones o en forma más representativa en bosques circundantes a la CDMX, por lo que es mucho menos abundante. En cuanto a la tolerancia a la contaminación, está fue mayor que la de los otros tipos polínicos estudiados, sin embargo, el analizar este tipo polínico, aporta referencia del efecto de los contaminantes sobre él, observándose buenos resultados como especie intolerante a ambientes contaminados, como lo demuestra Gottardini *et al.*, (2004) al determinar que dentro del género *Pinus* se pueden presentar, tanto especies intolerantes como tolerantes a ambientes contaminados.

10.7. Efectos en la salud.

El análisis aerobiológico mostró que dentro del municipio de Tlalnepantla de Baz, los tres principales tipos polínicos que superaron en conjunto el 74-76 % del IPA para el periodo (2014-2016) están reportados como de alta alergenicidad (Gidos y Almeida, 2005; Terán *et al.*, 2009; Calderón *et al.*, 2016) siendo en orden de mayor porcentaje *Fraxinus*, Cupressus y *Alnus*, los cuales se determinaron para la temporada de secas comprendida entre los meses de noviembre a marzo, mientras que para la temporada de lluvias se encontró que el tipo polínico más abundante fue de la familia **Poaceae** (3-4% del IPA), el cual se ha reportado como altamente alergénico (Gidos y Almeida, 2005; Terán *et al.*, 2009; Calderón *et al.*, 2016) siendo éstos resultados similares a los reportados por Fuentes (2012), Olive (2012) y Calderón *et al.* (2016) por lo que, la presencia de éstos pólenes en la atmósfera del municipio de Tlalnepantla de Baz, junto con la actividad industrial y vehicular representan un riesgo para la población sensible esto debido a que adicionalmente a la alergenicidad intrínseca de cada tipo polínico, dada principalmente por las proteínas que lo conforman, la incorporación de partículas a la exina de los pólenes puede exacerbar el potencial alergénico convirtiéndose en un factor de riesgo para la población sensibilizada (Knox *et al.*,1997).

A su vez, ésta adición de partículas a la exina del grano de polen que conforman aglomerados que al unir más partículas de diversos orígenes forman de conglomerados que asocian tanto granos de polen de diversos tipos polínico como diversos sub productos de la combustión, incrementan el factor de riesgo ya que al ser inhalados provocan irritabilidad de las mucosas exacerbando la respuesta alérgica, de tal manera que los granos de polen de bajo potencial alergénico, al encontrase en los conglomerados podrían incrementar su potencial alergénico, exacerbado una reacción alérgica en la población ya sensibilizada (Traidl-Hoffmann *et al.*, 2009; Bosch-Cano *et al.*, 2011; Sousa *et al.*, 2012; González *et al.*, 2013; Calderón *et al.*, 2016).

Por otra parte la observación de cuerpos de Ubisch sobre la exina del tipo polínico **Cupressaceae**, los cuales presentan una conformación química similar a la pared externa (exina) del grano de polen, representa un riesgo para la población, ya que el grano de polen al ser liberado a la atmósfera pierde éstos corpúsculos, los cuales son de una talla muy reducida, traduciéndose en un bajo perfil de sedimentación, por lo que se mantienen más tiempo en la atmósfera, aun cuando el PPP del tipo polínico haya concluido como han sido descrito por El-Ghazaly *et al.* (1995), Takahashi *et al.* (2001), Takahashi *et al.* (2002), Shahali *et al.* (2013 (b)); Wang *et al.* (2010), Wang *et al.* (2012). Sin embargo, aunque éstos orbículos solo fueron evidentes en los granos de polen de **Cupressaceae**, autores como Ubisch (1927) y Kosmath (1927) no descartan que pólenes como *Alnus, Ulmus* y Poaceae también pueden presentar éstas estructuras incrementando el factor de riego a la salud (El-Ghazaly *et al.*, 1995; Takahashi *et al.*, 2002; Shahali *et al.*, 2013 (b)).

11.1. Conclusiones

De los 34 tipos polínicos registrados del aire para el periodo 2014-2016 los más frecuentes y abundantes fueron *Fraxinus*, Cupressaceae y *Alnus*, los cuales son pólenes considerados como de alta alergenicidad, siendo *Fraxinus* el más abundante en la temporada de secas, mientras que para la temporada de lluvias lo fue el tipo polínico **Poaceae**, aunque este último se encuentra presente todo el año, pero en menor abundancia en la temporada de secas.

La variación estacional durante el periodo 2014 a 2016 del polen de árboles mostró una mayor concentración durante la temporada de secas mientras que la variación estacional del grupo de herbáceas mostraron mayores concentraciones durante la temporada de lluvias en cuanto a la variación intradiaria de árboles como *Fraxinus sp* mostró que ésta se da hacia la segunda mitad del día.

Los análisis de viabilidad y geminación de los pólenes de *Fraxinus*, Cupressaceae y Pinus mostraron una marcada diminución, según las zonas donde estuvieron expuestos a contaminantes atmosféricos, determinándose el mayor daño en los pólenes colectados de zonas con mayor tránsito vehicular.

Debido a la disminución de viabilidad y del potencial de germinación que presentaron los pólenes de *Fraxinus uhdei*, así como su mayor abundancia, se concluye en considerar a este tipo polínico como un buen bioindicador de contaminación ambiental.

En conclusión, la observación al MEB permitió determinar la morfología de las partículas observadas y diferenciar entre ellas las de origen antropogénico, natural y biológico.

El análisis MEB de los granos de polen colectados del aire, demostró que las aeropartículas de origen orgánico e inorgánico se adhieren a los granos de polen y pueden formar capas finas, aglomerados y en casos extremos conglomerados.

El análisis de la composición química de las partículas por medio del análisis X-EDS, demostró que éstas se componen principalmente de Sílice y Calcio, siendo este último el más abundante entre las muestras analizadas.

Con el análisis de las partículas mediante X- EDS se demostró la presencia de elementos como titanio y fosforo en las partículas, producto de actividades industriales.

Con el análisis de microscopia electrónica se pudo comprobar que la adherencia de partículas a la exina de granos puede cambiar la morfología del grano de polen.

Por medio del análisis de viabilidad y germinación de los granos de polen, se determinó que éstas se reducen conforme aumentan los contaminantes, presumiblemente por afectaciones de los contaminantes atmosféricos en el desarrollo del polen en la antera.

11.2 Recomendaciones

Se recomienda continuar con el monitoreo aerobiológico en el municipio de Tlalnepantla de Baz ya que es de suma importancia mantener un registro de los diversos tipos polínicos dentro de la zona que puedan ayudar a la población a prevenirse contra aquellos que pudieran ocasionar alergias o enfermedades respiratorias.

Se propone continuar con los estudios de viabilidad de los principales tipos polínicos, pero ahora comparando los tomados de anteras y estróbilos de las zonas muestreadas con granos de polen tomados del aire en las mismas zonas propuestas.

A su vez se propone el análisis tanto al MEB como de viabilidad y germinación de granos de polen fumigados con gases contaminantes como O₃, SO₂, NO, NO₂ y CO₂ con la finalidad de precisar los daños ocasionados por la acción de estos contaminantes.

12. Bibliografía

- Alché, J., Rodríguez, M., 1997. Fluorochromes for detection of callose in meiocytes of Olive (*Oliva europaea*). Biotechnic and histochemistry. 72 285-90.
- Amador, O., Villalobos, R., Miranda, J., Vera, LE. 2011. Organic compounds of PM_{2.5} in Mexico Valley: spatial and temporal patterns, behavior and sources. Sci Total Environ. 409:1453-1465.
- Anze, R., Franken M., Zaballa M., et al. 2011. Bioindicadores en la detección de la contaminación atmosférica en Bolivia., Revista Virtual REDESMA, 1(1): 53-74.
- Aragón, A., Campos, A., Leyva, R., Hernández, M., Miranda, N., Luszczewski, A. 2006.
 influencia de emisiones industriales en el polvo atmosférico de la ciudad de San Luis
 Potosí, México. Rev. Int. Contam. Ambient. 22 (1) 5-19.
- Azuela, O. 2007. Efecto de los aerosoles sobre las reacciones fotoquímicas involucradas en la formación de ozono troposférico. Tesis doctoral, Universidad del país vasco. España, Madrid. 6-9.
- Basset, J., Mullo, J., Del Culvillo, A., Davila, I., Ferrer, M., Jauregui, I., et al. 2007. Air pollution and allergens. J Investing Alergol ClinInmunol.
- Beck, S., Jochner, S., Gilles, E., et al. 2013. High environmental ozone levels lead to enhanced allergenicity of birch pollen. Plosone. 8: 11.
- Beda, H. 1982. Der Einfluss einer SO2-Begasung auf Bildung und Keimkraft des Pollens von Weisstanne, Abies alba (Mill.). Eidg. Anst. forstl. Versuchswes., Mitt. 58: 165-223.
- Behrendt, H., Becker, WM., Friedrichs, KH., Darsow, U., Tomingas, R. 1992.
 Interaction between aeroallergens and airborne particulate matter. International Archives of Allergy and Immunology. 99: (2–4), 425–428.
- Bellani, M., Paolletti, E., Cenni, E. 1988. Aire Pollution on pollen germination of forest species, in M. Cresti, P Gori and E pcini (ed.). Sexual Reproduction in Higher Plants, Springer-Verlang, Berlin. 265-270.
- Benítez, C., 2006. Botánica sistemática. Fundamentos para su estudio. Venezuela: Marlene Lapp.6-13.
- Bortenschlager, S. 1990. Aspects of pollen morphology in the **Cupressaceae**. Grana. 29:2, 129-138.
- Bosch-Cano, F., Bernard, N., Sudre, B., et al. 2011. Human exposure to allergenic pollens: A comparison between urban and rural areas. Environmental Research, 111, 619–625.
- Bosquet, J., Guerin, H., Hewtti, B., Dhivert. H., Michel, F. 1985. Allergy in the Mediterranean area II. Cross allergenicity among Urticacea pollen (Perietaria and urtica). Clin Allergy 16: 57-6.

- Bravo, H., and Torres, R. 2002. Air Pollution Levels and Trends in the Mexico City Metropolitan Area Urban Air Pollution and Forests Ecological Studies Volume. Urban Air Pollution and Forests. 156, pp 121-159.
- Brewbaker, J., and Kwack, B. 1963. The essential role of calcium ion in pollen germination and pollen tube growth. American Journal! of Botany 50: 8.59-865.
- Bronillet, I. (1996). An annual study of airborne pollen in northern Mexico City. Aerobiologia, 12, 191–195.
- Bronillet-Tarrago, I. (1992). Estudio aeropolínico de la zona norte de la Ciudad de México en un ciclo anual. Bachelor's degree thesis. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. México, DF.
- Bryce, M., Drews, O., Schenk, MF., et al. 2010. Impact of urbanization on the proteome of birch pollen and its chemotactic activity on human granulocytes. International Archives of Allergy and Immunology. 151 (1): 46–55.
- Calderón, MC., Guerrero, C., Martínez, B., et al. 2016. First airborne pollen calendar for Mexico City and its relationship with bioclimatic factors. Aerobiología. 32: 225.
- Castillo, D. y Alvarado R. 2002. Caracterización del germoplasma de germoplasma de arroz para tolerancia a frio en la etapa de germinación. Agricultura Técnica (Chile). 62(4):596-603.
- Cerccau-Larrival, H., and Derrouet, L. 1988. Relation possible entre les elements inorganiques détectés par Spectrométrie X á Sélection d'Energic et l'allergenicité des pollens. Ann. Sci. Nat. 13é Sér., 9: 113-152.
- Cerceau-Larrival, MT., Nilsson, S., Cauneau-Pigot, A., et al. 1991. The influence of the environment (natural and experimental) on the composition of the exine of allergenic pollenwith respect to the deposition of pollutant mineral particles. Grana. 30: 532–545.
- Chaves, E., y Fonseca W. 1991. *Cupressus lusitanica* Mill. Especie de árbol de uso múltiple en América central. Costa Rica. CATIE.168.
- Chehregani, A., Malayeri, B., Kavianpour, F., Yazdi, H. 2006. Effect of acid rain on the development, structure and viability of pollen grains in bean plants (Phaseolus vulgaris). Pakistan Journal of Biological Sciences . 9: 1033-1036.
- Chehregani, AH., Majad, M., Moin, M., et al. 2004. "Effect of air pollution on some cytogenetic characteristics, structure, viability and proteins of *Zinnia elegans* pollen grains". Pakistan Journal of Biological Sciences. 7: 118–122.
- Chichiriccó, G., and Picozzi, P. 2007. Reversible inhibition of the pollen germination and the stigma penetration in Crocus vernus ssp. vernus (Iridaceae) following fumigations with NO₂, CO, and O₃ gases. Plant Biology. 9: 730–735.
- Cid-del Prado, ML., y Piedras V. 2015. Estudio aerobiológico de pólenes anemófilos en la ciudad de Toluca, México. Revista Alergia México 62: 8-14.

- Cid-Martínez, M. 2007. Estacionalidad de granos de polen en dos zonas de la Ciudad de México. Tesis de maestría. Instituto de Geología. Universidad Nacional Autónoma de México. México 70-87.
- Contois, P., Schemanauer, A. 1991. Tree pollen viability in areas subject to high pollutant deposition. Aerobiología. 7: 144-151.
- Contois, P., y Perffeto, A. 1996. Airborne pollen viability: Meteorological and air pollution determinants in *proceedings of the VII Congresso Nazionale dell'* Associazione Italiana di Aerobiologia Firenze. Italy. 16-19.
- Cox, RM. 1983. Sensitivity of forest plant reproduction to long range transported air pollutants: in vitro sensitivity of pollen to simulated acid rain. New Phytologist. 95: 269–276.
- Cueva-Velázquez, J. 1970. Flora y pólenes alergénicos en la República Mexicana. Alergia. 17: 99–110.
- Cuinica, L., Abreu, I., da Silva, J. 2014 (a). Effect of air pollutant NO2 on Betula pendula, Ostrya carpinifolia and Carpinus betulus pollen fertility and human allergenicity. International Journal of Environmental Health Research.7: 36-41
- Cuinica, L., Abreu, I., da Silva, J., 2014 (b). In vitro exposure of Ostrya carpinifolia and Carpinus betulus pollen to atmospheric levels of CO, O3 and SO2. Environmental Science and Pollution Research. 21: 2256–2262.
- Darré, E. 2011. Líquenes como bioindicadores de contaminación atmosférica en Montevideo-Uruguay. Tesis de maestría, Facultad de Ciencias, Universidad de la Republica Uruguay.
- Di Felice, G., Caiaffa, M., Bariletto, G., 1991. Allergens of Arizona cypress (*Cupressus arizonica*) pollen: characterization of the pollen extract and identification of the allergenic component. J Allergy Clin Immunol. 94:547-55.
- Díaz, S., Merrejón, R., Castro, N., Pérez, N. 2006. Comportamiento de genotipos de arroz (*Oryza sativa L.*) seleccionados para tolerancia a las bajas temperaturas en siembra temprana de frio. Cultivos Tropicales. 27: 71-75.
- Docampo-Fernández, S. 2008. Estudio aerobiológico de la atmósfera de la costa oriental de Málaga (sur de España) e incidencia de las esporas Fúngicas en el interior de la cuenca del Nerja. Tesis doctoral. Facultad de Ciencias. Universidad de Málaga. Málaga, España.
- Dolferus, R., Ji, X., Richards, R., 2011. Abiotic stress and control of grain numbers in cereal. Plant Science. 181: 331-341.
- Duhoux, E. 2009. Mechanism of exine rupture in hydrated taxoid type of pollen". Grana. 21: 1–7.
- Dupre, M. 1992. Palinología, Cuadernos técnicos de la sección No. 5. Sociedad española de geomorfología. España. Geoformas ediciones. 9-19.

- Duro, A., Piccione, V., Zampino, D. 2013. Air quality biomonitoring through pollen viability of Fabaceae. Environ Monit Assess. 185: 3803.
- Edmonds, RL., and Benninghoff, WS. 1973. Aerobiology and its modern applications. U.S. IBP. Aerobiology Program Report 3. Univ Michigan, Ann Arborn. 18.
- Eguiluz, P. 1978. Ensayo de integración de los conocimientos sobre el género *Pinus* en México. Tesis Profesional. Escuela Nacional de Agricultura. Chapingo. México, D. F. 623.
- El-Ghazaly, G., Takahashi, G., Nilsson, S., Grafstrom, E., Berggren, B. 1995. Orbicules in Betula pendula and their possible role in allergy. Grana. 34: 300–304.
- Espeche, M., Reyes, N., García, M., Slanis, A. 2014. Morfología polínica de las especies nativas y nativas de *Handroanthus* (Bignoniaceae) de la República Argentina. Acta botánica. malacit. 71-79.
- Estrada, F., Martínez, A., Fernández, A., Luyando, E., Gay, C. 2009. Definingclimate zones in Mexico City using multivariate analysis. Atmósfera. 22: 175-193.
- Farjon, A. 1995. Typification of *Pinus* apulcensis Lindley (*Pinaceae*), a misinterpreted name for a Latin American pine. Novon. 5: 252–256.
- Fernández-González, D., Valencia-Barrera, RM., Vega, A., et al. 1999. Analysis of grass pollen concentrations in the atmosphere of several spanish sites. Pollen 10: 123-132.
- Flores, j., Lopez-Moreno, S., Albert LA. 1995. Contaminación y sus efectos en la salud y el ambiente. Centro de ecololgia y desarrollo A.C. México D.F.
- Ford, S., Baldo, B., Panzani, R., et al., 1991. Cypress (*Cupresus* sempervirens) pollen allergens: identification by protein blotting and improved detection of specific IgE antibodies. International Archives of Allergy and Immunology. 95:178-83.
- Francis, J. 1990. *Fraxinus uhdei* (Wenzig) Lingelsh. Fresno, tropical ash. SO-ITF-SM- 28. New Orleans, LA: U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Southern Forest Experiment Station.
- Fuentealba, V., Finot, V., Wilcken, R., López-Sepúlveda, P. 2014. Efectos de la disminución de temperatura sobre el desarrollo de la pared de la antera y el grano de polen en Oryza sativa L. Gayana. Botánica. 71: 199-215.
- Fuentes F. 2012. Estudio aeropolinológico del sur de la Ciudad de México. Tesis de maestría en ciencias ambientales. Universidad Simón Bolívar, México. 56-67.
- Galán, C., Cariñanos, P., Domínguez, E. 2007. Manual de gestión y calidad de la Red Española de Aerobiología. Servicio de publicaciones. Universidad de Córdoba. 61.
- Galán, C., García, H., Cariñanos, P., Alcázar, P., Domínguez, E. 2001. The Role of temperature in the onset of the *Olea europaea L.* pollen season in south-western Spain. International Journal of Biometeorology. 45: 8-12.
- García, E. (2003). Distribución de la precipitación en la República Mexicana. *Investigaciones geográficas*. 50: 67-76.

- García, M. 2016. IES Poeta Claudio Rodríguez. Castilla y león; España.: recuperado de http://iespoetaclaudio.centros.educa.jcyl.es/sitio/index.cgi.
- Gastaminza, G., 2003. Alergia a polen de pino: ¿Solo en Euskadi? Sancho el sabio. 18: 105-118.
- Gernandt, D., Pérez, P. 2014. Biodiversidad de Pinophyta (coníferas) en México. Revista Mexicana de Biodiversidad, Supl. 85: 126-133
- Ghanati, F., Majd, A. (1995). The effect of air pollution on the allergenicity of *Pinus eldarica* pollen. Grana. 34: 208-211.
- Gilles, S., Behrendt, H., Ring, J., Traidl-Hoffmann, C. 2012. The pollen enigma: modulation of the allergic immune response by non-allergenic, pollen-derived compounds. Current Pharmaceutical Design. 18: 2314–2319.
- Gonçalves, L., Abreu, I. 2013. Exposure of Betula pendula Roth pollen to atmospheric pollutants CO, O₃ and SO₂. Grana. 52: 299-304.
- González, G., y Noguez, E., 2009. Principios de microscopia electrónica de Barrido y Microanálisis por Rayos X Característicos. Departamento de ingeniería química y metalúrgica. Facultad de Química. Universidad Nacional Autónoma de México. 79-86.
- González, M., Cerezo, A., González, M., Salazar, L. 1999. Comportamiento de las partículas suspendidas y polen de la región norte de la zona metropolitana de la Ciudad de México. Revista de la Sociedad Química de México. 43:155-164.
- Gothandam, K., Kim, E., Ciung, Y. 2007. Ultrastructural study of rice tapetum under low-temperature stress. Journal of Plant Biology 50: 396-402.
- Gottardini, E., Cristofolini, F., Paoletti, E., Lazzeri, P., Pepponi G. 2004. Pollen Viability for Air Pollution Bio-Monitoring. Netherlands. Journal of atmospheric Chemistry. 49: 149-159.
- Graçan, M., Furness, C., Prychid, J., Rudall, P. 2005. Microsporogenesis and anther development in **Bromeliaceae**. Grana. 44: 65-74.
- Gregory, PH. 1973. The Microbiology of the atmosphere, 2nd edit, Leonard Hill, Aylesbury. 167-172.
- Guedes, N., Ribeiro, H., Ribeiro. M., Oliveira, F., Noronha, I. 2009. Comparison between urban and rural pollen of Chenopodium alba and characterization of adhered pollutant aerosol particles. Journal of Aerosol Science. 40: 81–86.
- Guidos, G., y Almeida V. 2005. Polinosis y aeroalérgenos. Alergia, Asma e Inmunología. Pediátricas. 14: 52-55.
- Gutiérrez, M., Pérez, R., Cervigón, P. 2015. Aerobiología: redes de polen y esporas aerovagantes. Rev. Salud ambiente. 15: 155-156.
- Guzmán, E., y Reyes, L. 2009. Influencia de emisiones naturales y antropogénicas en el material aerotransportado del Valle de Toluca. Contacto Nuclear. 54: 12-17.

- Harrison, HB., and Feder, W. 1974. Ultrastructural changes in pollen exposed to ozone. Phytopath. 64: 257-258.
- Hernández, S., Gernandt, D., Pérez, J., Jardón, L. 2013. Phylogenetic Relationships and Species Delimitation in *Pinus* Section Trifoliae Inferred from Plastid DNA. Plus one. 8: e70501.
- Hidalgo, P., Galán, C., Domínguez, E. 2003. Male phenology oh three species of Cupressus: correlation with airborne pollen. Trees. 17: 336-344.
- Hinsinger, D., Basak, J., Gaudeul, et al. 2013. The Phylogeny and Biogeographic History of Ashes (*Fraxinus*, Oleaceae) Highlight the Roles of Migration and Vicariance in the Diversification of Temperate Trees. Plos one. 8: e80431.
- Historia y biografía. 2015. Reproducción de las plantas, órganos y mecanismos de fecundación. Argentina.: recuperado de http://historiaybiografías.com/reproduccion_plantas
- Iannotti, O., Mincigrucci, G., Bricchi, E., Frenguelli, G. 2000. Pollen viability as a bio-indicator of air quality. Aerobiologia. 16, 361-365. Alche J and Rodríguez M. 1997. Fluorochromes for detection of callose in meiocytes of Olive (*Oliva europaea*). Biotechnic and histochemistry. 72: 285-90.
- Imin, N., Kerim, T., Weinman, J., Rolfe, B.2006. Low temperature treatment at the young microspore stage induces protein changes in rice anthers. Molecular y Cellular Proteomics 5:274-279.
- Jáuregui, E. 1991. Effects of revegetation and new artificial water body on the climate of northeast México City. Energ. Buildings. 15-16.
- Jones, G., Brayant, V., Lieux, M., Jones, S., Ligren, P. 1995. Pollen of the southeastern United Stated; with emphasis on Melissopalynology and entomology. AASP Fundation Contribution Series. 30.
- Khanduri, V., Sharma, C. 2000. Development of groups of male strobili, anthesis and microsporangium dehiscence in *Pinus roxburghii*. Grana. 39: 196-174.
- Klumpp, A., Klumpp, G., Domingos, M. 1994. Plants as bioindicators of air pollution at the serra do mar near the industrial complex of Cubatão, Brazil. Environmental Pollution. 85: 109-116.
- Knox, RB., Suphioglu, C., Taylor, P., Desai, R., Watson, HC., Peng, JL., Bursill, LA. 1997. Major grass pollen allergen Lol p 1 binds to diesel exhaust particles: implications for asthma and air pollution. Clinical and experimental allergy. 3: 246-251.
- Kobzar, VN. 1999. Aeropalynological monitoring in Bishkek, Kyrgyzstan. Aerobiología, 15: 149–153.
- Kosmath, L. 1927. Studies über das antherentapetum. Oesterr Bot. 37:193-211.
- Koti, S., Reddy, K., Reddy, V., Kakani, G., Zhao, D. 2005. Interactive effect of carbon dioxide, temperature, and ultra-violet-B radiation on soyben (*Glysine max L.*) flower

- and pollen morphology, pollen production, germination, and tube lengths. Journal of Experimental Botany. 56: 725-736.
- Lacey, ME., West, JS. 2006. The Air Spore A manual for catching and identifying airborne biological particles. XVI, 156.
- Lahoz, C., Cortegano, I., Civantos, E. *et al.*, 2003. Alérgenos de las **Cupresáceas**. Allergol Immunol Clin. 18: 35-8.
- Lannotti, O., Mincigrucci, G., Bricchi, E., Frenguelli, G. 2000. Pollen viability as a bio-indicator of air quality. Aerobiología 16: 361–365.
- Larenas, D., Arias, A., Guidos, G., Lou-Cid, M. 2009. Alérgenos usados en las pruebas cutáneas en México. Revista Alergia México. 56: 41-47.
- Lhuissier, F., Lefebvre, F., Gibouin D. 1999. Structural and bio-chemical study of the effect of carbon monoxide on tree and grass pollen: labelling CO with ¹⁸O. Journal of trace an Microprobe Techniques. 17: 461-476.
- Lijteroff, R., Lima, L., Prieri, B. 2009. Uso de los líquenes como bioindicadores de contaminación atmosférica en la ciudad de San Luis, Argentina. Rev. Int. Contaminación Ambiental. 25: 111-120.
- Linares, F. 2007. Análisis del polen alérgeno de la atmósfera de Granada: Evolución de las concentraciones polínicas, actividad alergénica e incidencia en la población atópica. Tesis doctoral, Departamento de Botánica, Facultad de Ciencias, Universidad de Granada. España. 72-83.
- Linkosalo, T., Häkkinen, R., Häkkinen, H. 2006. Model of spring phenology of boreal and temperate trees: is there something missing? Tree physiol. 20: 1175-1182.
- Little, D. 2006. Evolution and Circumscription of the True Cypresses. American Society of Plant Taxonomists (**Cupressaceae**: *Cupressus*) 31: 461–480.
- López, G., Morfin, B., Huerta J, Mejia F. 2009. Prevalencia de las enfermedades alérgicas en la Ciudad de México. Revista alergia México, 56:72-79.
- Lu, S., Ren, J., Hao, X. 2014. Characterization of protein expression of *Plantanus* pollen following exposure to gaseous pollutants and vehicle exhaust particles. Aerobiología 30: 281-291.
- Majad, A., Chehregani, M., Moin, M., et al. 2004. The effects of air pollution on structures, proteins and allergenicity of pollen grains". Aerobiología. 20: 111–118.
- Mamun, E., Alfred, S., Cantrill, L., Overall, R., Sutton, B. 2006. Effect of chilling on male gametophyte development in rice. Cell Biology International. 30: 583-591.
- Manning, WJ., and Feder, WA. 1976. Effects of ozone on economic plants. Pages 47-60 in Mansfield TA. (ed.). Effects of air pollutants on plants. Soc. Exp. Biol., Ser. 1. Cambridge University Press, Cambridge.

- Markert, BA., Breure, AM., Zechmeister, HG. 2003. Definition, strategies and principles for bioindication/biomonitoring of the environment. in: Markert BA. Breure AM. Zechmeister HG. (eds)Bioindicators and biomonitors. Elsevier, Oxford. 3-39.
- Martínez, M. 1948. Los pinos mexicanos. 2ª edición. Editorial Botas. México. 175-209.
- Masuch, G., Franz, JT., Schoene, K., Musken, H., Bergmann, K. 1997. "Ozone increases group 5 allergen content of Lolium perenne". Allergy. 52: 874–875.
- Matsui, T., Omasa, K. 2002. Rice (*Oryza sativa* L.) cultivars tolerant to high temperature at flowering: anther characteristics. Annals of Botany. 89: 683–687.
- Melgar, M., Trigo, M., Recio, M., et al. 2012. Atmospheric pollen dynamics in Münster, north-western Germany: a three-year study (2004-2006). Aerobiología. 28: 423.
- Miguel, G., Maya, G., Flores, A., Amado, O., Villalobos, R., Eguía, P., Pérez-peñan, M.
 Arenas, F. 2013. Efectos de la contaminación del aire en células humanas de pulmón. Boletín médico del Hospital Infantil de México, 70: 07-115.
- Miller, P. 1908. The Gardeners Dictionary. London, eighth edition. 3. 1768.
- Mondragón, A. 2006. Caracterización morfológica de la exina del polen de siete especies del género Sterculia L. Bioagro. 18: 139-143.
- Moore, PD., Webb, JA., Collnson, ME. 1991. Pollen análisis. 2^{da} edición. Blackwell Scientific Publication. London UK.
- Motta, AC., Marliere, M., Peltre, G., Sterenberg, PA., Lacroix, G. 2006. Traffic-related air pollutants induce the release of allergen-containing cytoplasmic granules from grass pollen. International Archives of Allergy and Immunology. 139: 294–298.
- Motta, C. 2004. Effet de polluants atmosphériques gazeux sur lállergénicité du pollen de Phleum pratense et sur la response allergique respiratoire. Tesis de doctorado, Toxicologie Paris, Université Paris VII.
- Murillo, L., Hernández, X., Murillo, O. 1996. evaluación de la calidad de plantaciones de ciprés (*Cupressus lusitanica*) en el valle del Guarco, Cartago, Costa Rica. Agronomía Costarricense. 20: 17-23.
- Nieto, D. 2008. Estudio aerobiológico de la zona costera de la provincia de Granada (Motril): Evolucion de las concentraciones de pólenes y esporas. Tesis doctoral. Universidad de Granada., Facultad de Ciencias, Deptato de botánica., España 72-89.
- Nilsson, C., Jansson, R., Zinko, U. 1997. Long-term responses of river-margin vegetation to water-level regulation. Science 276: 798–800.
- Nilsson, C., Keddy, PA. 1988. Predictability of change in shoreline vegetation in a hydroelectric reservoir, northern Sweden. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 45: 1896–1904.
- Nilsson, S. 1992. Aerobiology: An interdisciplinary and limitless science. Ind. J. Aerobiol. 23-27.

- Nilsson, S., Berggren, M. 1991. Various methods to determine air pollutants on pollen grains. Grana. 30: 553-556.
- NORMA Oficial Mexicana NOM-020-SSA1-2014, Diario Oficial de la Federación.
 México. 19 de agosto de 2014.
- NORMA Oficial Mexicana NOM-021-SSA1-1993, Diario Oficial de la Federación. México. 23 de diciembre de 1994.
- NORMA Oficial Mexicana NOM-022-SSA1-2010, Diario Oficial de la Federación. México. 8 de septiembre de 2010..
- NORMA Oficial Mexicana NOM-023-SSA1-1993, Diario Oficial de la Federación.
 México. 11 de noviembre 1993.
- NORMA Oficial Mexicana NOM-025-SSA1-2014, Diario Oficial de la Federación. México. 20 de agosto 2014.
- Obispo, T., Madero, J., Carrera, J., Lombadero, M. 1993. The main allergen of *Olea european* (Ole e1) is also present in other species of the *Oleae* family. Clinical and experimental allergy . 23: 311.
- Olive, M. 2012. Estudio aeropolinológico de Chapultepec Ciudad de México: variación espacio-tempopral y efecto en la salud. Tesis de maestría. UNAM. México
- Onorari, M., Domeneghetti, M., Filippeli, N., Ciuti, P., Magrini, S. 2000. Pollini e inquina-mento atmosferico, in Proceding of the IX congresso Nazionale *Nazionale dell' Associazione Italiana di Aerobiologia, Cagliari, Italy, Octuber 5-8 A.L.A. 159.*
- Ortega, I. 2009. Espectroscopia FTIR de absorción solar y lunar para la determinación en columna de CO en la capa de mezcla de la Ciudad de México. Tesis de maestría en ciencias fisicoquímicas atmosféricas. UNAM. México2-9.
- Osorio, A., Quiroz, D. 2009. Lluvia de polen de la ciudad de Oaxaca, México. Polibotánica 28: 161-190.
- Parra, E. 2014. Aves silvestres como bioindicadores de contaminación ambiental y metales pesados. CES Salud Pública. 5: 59-69.
- Pasqualini, S., Tedeschini, E., Giuseppe, F., Wopfner, N., Ferreira, F., D'Amato, G., Ederlia, L. 2011. Ozone affects pollen viability and NAD(P)H oxidase release from Ambrosia artemisiifolia pollen. Environ Pollut. 159: 2823–2830.
- Patiño, V., De la Garza, L., Villagómez, A., Talavera, A., Camacho M. 1983. Guía para la recolección y manejo de semillas de especies foréstales. Boletín Divulgativo. 63. INIF-SFF-SARH. México. D. F. 181.
- Peltre, G., Derouet, L., Cerceau-Larrival, H. 1991. Model treatments simulating evironmental action on allergenic *Dactilis glonierata*-pollen. Grana 30: 59-61.
- Perry, J. 1992. The Pines of México and Central América. Timber Press. Portland, Oregon. USA. 231.

- Pico de Coaña, Y., Parody, N., Fuertes, M., et al. 2010. Molecular cloning and characterization of Cup a 4, a new allergen from *Cupressus arizonica*. Biochem Biophys Res Commun. 401:451-7.
- Pla-Dalmau, JM. 1961. Polen. Gerona, España: Talleres Figuras D.C.D. 567p.
- Plan de Desarrollo. 2016. Plan de Desarrollo Municipal de Tlalnepantla de Baz 2016-2018. Órgano Oficial del H. Ayuntamiento de Tlalnepantla de Baz. Gaceta municipal
- Prasad, P., Boote, K., Allen, L., Sheehy, J., Thomas, J. 2006. Species, ecotype and cultivar differences in spikelet fertility and harvest index of rice in response to high temperature stress. Field Crops Research. 95: 398-411.
- Quirós, J. 2003. Diagnóstico de alergias utilizando IgE alérgeno-específico. Revista Médica del Hospital Nacional de Niños Dr. Carlos Sáenz Herrera, 38(1-2), 20-25.
- Ramírez, R., Duarte, A., Esparza, H. 2007. Characterization of inorganic atmospheric particles in air quality program with SEM, TEM and XAS. Revista Mexicana de física. 53: 102-107.
- Rantaa, H., Hokkanenb, T., Linkosaloc, T., Laukkanena, L., et al. 2008. Male flowering of birch: Spatial synchronization, year-to-year variation and relation of catkin numbers and airborne pollen counts. Forest Ecology and Management. 255: 643–650.
- Raymúndez, M., Hernández-Chong, L., Silva, A., Mondragón, A., Torrecilla, P. Medina,
 E. 2012. Biosistemática vegetal en la caracterización y preservación de la biodiversidad. Memorias del Instituto de Biología Experimental. 6: 125-128.
- Raz, G. 2000. Crustáceos y Poliquetos. De la Lanza, E. Hernández P. y Carbajal, P. (Eds). Organismos Indicadores de la Calidad del Agua y de la Contaminación (Bioindicadores). Plaza y Valdés. México. 633.
- Recio, M. 1995. Análisis polínico de la atmósfera de Málaga (1991-1994), relación con los parámetros meteorológicos. Tesis doctoral. Universidad de Málaga. Facultad de Ciencias. Departamento de Biología vegetal. 304.
- Recio, M., Trigo, M., Toro, F., Cabezudo, B. 1999. Incidencia del polen de *Quercus* en la atmósfera de Málaga y su relación con los parámetros meteorológico. Act Bolt Malcitana. 24: 77-88.
- Red española de aerobiología. 2016. Muestreo aerobiológico, España.: recuperado de https://www.uco.es/rea/infor rea/captacion.htmL.
- Rejón, JD., Suárez, CG., Alche JD, Castro AJ, Rodríguez MI. 2010. Evaluación de diferentes métodos para estimar la calidad del polen en distintos cultivares de olivo (*Olea europea* L.). Polen .20: 61-72.
- Rendueles, M. 2001. Caracterización aeropalinológica del bioaerosol atmosférico de la ciudad de Cartagena. Tesis doctoral. Universidad Politécnica de Cartagena. 74-75.

- Rezanejad, F. 2007. The effects of air pollution on microsporogenesis, pollen development and soluble pollen proteins in *Spartium Junceum L.* (Fabaceae) Turkish Journal of Botany. 70: 51-57.
- Rezanejad, F. 2008. The structure and ultra-structure of anther epidermis and pollen in *Lagerstroemia indica L.* (Lythraceae)in repose to air pollution. Turkish Journal of Botany. 32: 35-42.
- Rezanejad, F. 2009. Air pollution effects on structure, proteins and flavonoids in pollen grains of *Thuja orientalis L.* (Cupressaceae). Grana 48: 205-213.
- Ribeiro, H., Duque, L., Sousa, R. 2014. Changues in the IgE reacting protein profiles of *Acer negund, Plantanus x acerifolia* and *Quercus robur* polllen in response to ozone treatment. International Journal of Environmental Health Research. 24: 515-527.
- Ríos, A., Ramírez, E., Reyes, M., Martínez, E., Rosas, J. (2014). airborne pollen grains collected in an urban area: Merced, Mexico City. Acta Microscópica. 23: 181 187.
- Ríos, B., Torres, R., Ramírez, E., Rosas, I. 2016. Diurnal variations of airborne pollen concentration and the effect of ambient temperature in three sites of Mexico City. 60.
- Risse, U., Tomczok, J., Huss-Marp, J., Darsow, U., Behrendt, H. 2000. Health relevant interaction between airborne particulate matter and aeroallergens (pollen). Journal of Aerosol Science. 31: S27–S28.
- Robledo, T. 2013. Éstablecimiento del calendario polínico de la atmósfera del Bosque de Chapultepec, y detección de las proteínas de granos de polen de *Fraxinus* ss. en muestras del aire. Tesis de maestría en ciencias biológicas. UNAM. 30-67.
- Rocha, A., Alvarado, M., Hernández, J., León, D., Guzmán, M. 2013. Diversidad polínica en la atmósfera del área metropolitana de Monterrey, N. L., octubre 2004 a marzo 2005. Revista Mexicana de Biodiversidad. 84: 1063-1069.
- Rodríguez, L., y Cohen, E. 2003. Guía de árboles y arbustos de la zona de la Zona Metropolitana de la Ciudad de México. México. Gobierno del Distrito Federal. 105.
- Rodríguez, T. 2000. A new procedure to asses pollen viability. Institute of Evolution. Haifa University. 12: 241-244.
- Rodríguez-Rajo, FJ., Frengelli, G., Jato, MV. 2003. Effect of air temperature on forecasting the star on the *Betula* pollen season at two contrasting sites in the south of Europe (1995-2001). Int. Biometeorol. 47: 117-125.
- Rosales, LJ. 1985. Análisis aeropalinológico anual del norte de la Ciudad de México, implicaciones en la contaminación ambiental y en la alergología (Tesis de Licenciatura). Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Rosas, A., Bautista, M., Velázquez, G. 2011. Atlas de los pólenes alergénicos de mayor relevancia en México. Rev. Alergia Mex. 58: 162-170.

- Roubik, D. y Moreno J. 1991. Pollen and spores of Barro Colorado Island. Panama. 268.
- Roure, J. 1985. Palinología Ibérica. Fam. 1 a 20. **Cupressaceae** a **Betulaceae** Departamento de Botánica. Facultad de Ciencias. Universidad Autónoma de Barcelona. Bellaterra (Barcelona). Orsis. 1: 43-69.
- Ruffin, J., Williams, D., Banerjee, U., Pinnix, K. 1983. The effects of some environmental weous pollutants on pollen-wall proteins of certain airborne pollen grain: a preliminary study. Grana. 22: 171-175.
- Rzedowski, G., Rzedowski, J., et al. 2005. Flora fanerogámica del Valle de México.
 Instituto de ecología, A. C. y Comisión Nacional para el conocimiento y uso de la Biodiversidad. Pátzcuaro, Michoacán. Edición digital INECOL 2010.
- Rzedowski, J., y Calderón, G. 2004. Flora del bajío y de regiones adyacentes. Centro Regional del Bajío Pátzcuaro, Michoacán: Instituto Nacional de Ecología, A.C. 124 1-37.
- Sáenz, C. 1976. Sobre la nomenclatura de palinológica: esporodermis. Anal. Inst. Bot. Cabanilles. 33: 155-177.
- Sáenz, C., Gutiérrez, M. 1983. El contenido polínico de la atmósfera de Madrid. Anales Jardín Botánico Madrid. 39: 433-463.
- Sáenz. J., Muños, H., Rueda, A. 2011. Especies Promisorias de clima templado para plantaciones foréstales comerciales en Michoacán. México. SAGARPA, INIFAP. 4.
- Salazar, M. 1940. Estudio de los pólenes en la atmósfera de la ciudad de México.
 Revista de la Sociedad Mexicana de Historia Natural. 1:147-164.
- Salazar, M., Rivera, R., Vázquez, M., Arenas, F. 2009. Synergistic effect of air pollution and habitual smoking on the retention of inorganic fibers identified as ferrginous bodies in autopsy cases in Mexico City. inhalation Toxicology. 21: 822-888.
- Salazar-Coria, L. (1995). Estudio anual de polen atmosférico en la zona sur de la Ciudad de México. Tesis de licenciatura. Escuela Nacional de Estudios Profesionales Iztacala. UNAM.
- Seinfield, JH., Pandis, SN. (1998). Atmospheric chemistry and physics: From air pollution to climate change. Wiley-Interscience 267-304.
- Sénéchal, H., Visez, N., Charpin, D., et al. 2015. "A Review of the Effects of Major Atmospheric Pollutants on Pollen Grains, Pollen Content, and Allergenicity," The Scientific World Journal.
- Serrano, J. 2007. Estudio comparativo de la simulación de dispersión de contaminantes en la atmósfera para estudios de impacto ambiental. Tesis maestría. Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Shahali, Y., Poncet, P., Sénéchal, H. 2013 (a). Pollinose aux **Cupressacée** set pollution atmosphérique. REVAL. 552:5.

- Shahali, Y., Poncet, P., Sénéchal, H. 2013 (b). Cupressaceae polinosis and air pollution. Revue Francaise d'Allergologie. 53: 468–472.
- Shahali, Y., Pourpak, Z., Moin, M., Mari, A., Majd, A. 2009 (a). Instability of the structure and allergenic protein content in Arizona cypress pollen. Allergy. 64: 1773–1779.
- Shahali, Y., Pourpak, Z., Moin, M., Zare, A., Majd, A. 2009(b). "Impacts of air pollution exposure on the allergenic properties of Arizona cypress pollens," Journal of Physics: Conference Series. 151, Article ID 012027.
- Shaw, R. 1909. Los pinos de México reproducido en 1978 por serie Técnica Reforéstación No. 15 de la Comisión Foréstal del éstado de Michoacán, México.17.
- Smith, E. 2000. Sampling and identifying allergenic pollen and molds. An illustrated identification manual for air samplers. Texas, USA. 59-137.
- Soman, KV., Midoro-Horiuti, T., Ferreon, JC. 2000. Homology remodeling and characterization of IgE binding epitopes of mountain cedar allergen Jun a 3. Biophys Journal. 79: 1601-9.
- Sousa, R., Duque, L., Duarte, AJ., Gomes, CR., Ribeiro, H., Cruz, A., Silva, J., Abreu, I. 2012. In vitro exposure of *Acer negundo* pollen to atmospheric levels of SO₂ and NO₂: Effects on allergenicity and germination. Environmental Science and Technology. 46: 2406–2412.
- Suárez-Cervera, M., Castells, T., Vega-Maray, A., et al. 2008. Effects of air pollution on Cup a 3 allergen in *Cupressus arizonica* pollen grains. Annals of Allergy, Asthma and Immunology, 101: 57–66.
- Takahashi, Y., Nagoya, T., Ohta, N. 2002. Identification of airborne pollen and airborne particles with pollen allergen (Cry j 1, Dac g) by aeroallergen immunoblotting technique. Japanese Journal of Allergology. 51: 609–614.
- Takahashi, Y., Ohashi, T., Nagoya, T., Sakaguchi, M., Yasueda, H., Nitta, H. 2001.
 Possibility of real-time measurement of an airborne Cryptomeria japonica pollen allergen based on the principle of surface plasmon resonance. Aerobiologia. 17: 313–318.
- Terán, I., Haselbarth, M., Quiroz, L. 2009. Alergia, pólenes y medio ambiente. Gac Méd Méx. 145: 3.
- Thérese, M., Larrival, C., Nilsson, S., et al. 1991. The influence of the environment (natural and experimental) on the composition of the exine of allergenic pollen with respect to the deposition of pollutant mineral particles. Grana. 30: 532-545.
- Traidl-Hoffmann, C., Jakob, T., Behrendt, H. 2009. Determinants of allergenicity. Journal of Allergy Clinical Immunology. 123: 558–566.
- Trigo, M. 2007. El polen en la atmósfera de Vélez-Málaga Concejalía de Medio Ambiente. España: Ayuntamiento de Vélez-Málaga.

- Trigo, M., Recio, M., Toro, F., Cabezudo, B. 1997. Intradiurnal fluctuations in airborne pollen in Málaga (S. Spain): a quantitative method. Grana. 36: 39-43.
- Ubisch, G. 1927. Zur Entewicklungsgeschichte der Antheren. Planta. 3: 490-495.
- Valero, A., Cadahía, A. 2005. Polinosis II. Polen y alergia. España: MRA ediciones, S.L. 23-25.
- Valero, A., Picado, C. 2002. Polinosis. En: Velero-Santiago AL, Cadahia A. Polinosis: Polen y Alergia. Laboratorios Menarini. MRA ediciones. España. 17-21.
- Van Campo, M., Lugardon, B. 1973. Structure grenue infratectale de l'ectexine des pollens de quelques Gymnospertnes et Angiospermes. Pollen spores. 15: 171.
- Vázquez, G., Castro, G., González, R., Castro, T. 2006. Bioindicadores como herramientas para determinar la calidad del agua. Contacto. 60: 41-48.
- Viéitez, E. 1952. El uso del cloruro 2, 3, 5-trifeniltetrazolium para determinar la vitalidad del polen. Anales de edafología y fisiología vegetal. 12: 1033-1044.
- Visez, N., Chassard, M., Gosselin, M., Choel, M., Petitprez, D. 2013. Differential uptake kinetics of nitrogen dioxide on various pollen grains "in Proceedings of the European Aerosol Conference. Prague, Czech Republic.
- Wallander, E. 2008. Systematics of *Fraxinus* (Oleaceae) and evolution of dioecy. Plant Syst Evol. 273: 25–49.
- Wang, Q., Nakamura, S., Gong, X., et al. 2010. Evaluation of elution behavior and morphological change of the Cryptomeria japonica pollen grain and release of its daughter allergenic particles by air polluted rainfall. in Air Pollution XVIII, J. Longhurst and C. Brebbia, Eds., vol. 136 of Transactions on Ecology and the Environment, WIT Press, Southampton, UK.
- Wang, Q., Nakamura, S., Lu, S., et al. 2012. Release behavior of small sized daughter allergens from Cryptomeria japonica pollen grains during urban rainfall event. Aerobiología. 28: 71–81.
- Wilhm, J. 1975. Biological indicators of pollution. B. A. Whitton (Ed.). River Ecology. Blackwell Sci. Publ., Oxford. 725.
- Wolters, J., Martens, M. 1987. Effects of air pollutants on pollen. The Botanical Review. 53: 372-414.
- Yang, C., Song. J., Marshal, A., Bradley, G., Wilson, ZA. 2009. stabilizing regulatory models for anther endothecium development and regulation of dehiscencia. 20th international Conference on Arabidopsis research- edinburg, UK 2009.
- Zamudio, S., Carranza, E. 1994. **Cupressaceae**. En Calderón G. Rzedowsk J. 2003. Flora del Bajío y de regiones adyacentes. México. INECO y CONABIO. 29.
- Zinn, K., Tunc, M., Harper, J. 2010. Temperature and plant sexual reproduction: uncovering the weakest links. Journal of Experimental Botany. 61: 1959-1968.

Anexo 1: Proceso para el cálculo del factor de corrección. (Fuentes 2012, Olive 2012).

En primer lugar, se mide el campo de visión del microscopio a utilizar en un objetivo de 40x10 aumentos.

Procedimiento:

Calculo del volumen de succión.

Diámetro medio del campo de visión al microscopio: 0.55 mm

- Área de un barrido horizontal = 48 mm X 0.55 mm = 26.4 mm²
- Superficie analizada = 26.4 X 4 barridos = 105.6mm²
- Superficie total muestreada = 48mm largo X 14 mm ancho = 672 mm²

$$gp/m^3 = \left[\left(\frac{672mm^2}{105.6mm^2} \right) X \left(\frac{1}{14.4m^3} \right) \right] X N$$

$$gp/_{m^{3=0.44 X N}}$$

Anexo 2: Calculo de Índice Polínico Anual (IPA).

- Para el cálculo de este índice, se lleva a cabo la sumatoria de las concentraciones medias diarias, dadas durante el periodo de muestreo, el valor resultante es a lo que se denomina IPA
- Tomando el valor anteriormente calculado como el 100% se procederá a realizar el cálculo del porcentaje de IPA, para cada tipo polínico, usando el total de la sumatoria de las concentraciones medias diarias de cada da tipo polínico, el resultado obtenido representará el porcentaje correspondiente al IPA para el periodo estudiado.
- Calculado el porcentaje de cada tipo polínico se destacará como principales a los tipos polínicos que superen el 1%, ordenándose de mayor a menor.

Anexo 3: Delimitación del periodo principal de polinización

Conociendo los tipos polínicos que han superado el 1% y según los intereses del estudio, se tomaran la base de datos de éstos tipos polínicos o algunos de ellos, para llevar a cabo los porcentajes acumulados correspondientes, valiéndose del método del 95%, propuesto por Andersen, (1991), con el cual se delimitara el Inicio de (PPP), cuando las concentraciones alcanzan el 2.5% del total anual acumulado y considerando el final de éstas cuando las concentraciones alcanzan el 97.5% del total anual acumulado (Fernández-Gonzales *et al.*, 1999; Rodríguez-Rajo *et al.*, 2003; Fuentes *et al.*, 2012; Calderón *et al.*, 2016).

3.1. Procedimiento

- Con la base de datos del tipo polínico a calcular, se lleva a cabo la sumatoria de las concentraciones medias diarias del tipo polínico, resultado que se tomara al 100 %.
- A la primera concentración media diaria del tipo polínico que se analiza, se le calcula el porcentaje correspondiente, utilizando el valor anteriormente calculado como el 100% para el cálculo de este porcentaje.
- Con el procedimiento anterior se calculará el porcentaje de la segunda concentración media diaria, el resultado obtenido se sumará con el resultado de la concentración anterior, de tal forma que se establece un acumulado.
- El procedimiento anterior se aplica para cada una de las concentraciones medias diaria del tipo polínico.
- Obtenidos los porcentajes acumulados para el tipo polínico analizado, se selecciona el porcentaje acumulado con el valor de 2.5%, el cual indicara el inicio del Periodo Principal de Polinización (PPP), a su vez también se selecciona el valor con el 97.5%, que indicara el fin del PPP.
- Los dos valores anteriormente determinados, delimitaran el PPP del tipo polínico analizado.
- Una vez determinado el PPP, se procede a calcular el pico máximo de concentración para este tipo polínico, el cual corresponde al día en que se registró la mayor concentración de granos de polen, concentración que está dada en granos de polen por metro cubico de aire (gp/m³).
- Con éstos tres valores obtenidos se puede delimitar el periodo pre-pico siendo los días desde el inicio del PPP, delimitado por el valor de 2.5% hasta el día en que se presentó el pico máximo, a su vez también se puede delimitar el periodo post-pico, el cual corresponde al periodo de días entre el pico máximo y el final del PPP, delimitado por el valor de 97.5%.

Anexo 4: Variación intradiaria.

- Para el tipo polínico a analizar, se calculará la media a partir del IPA, dividiéndose entre los días que duro el muestreo, ya calculado este valor se realizó el siguiente procedimiento:
- Con la base de datos del tipo polínico de interés dentro del PPP del mismo, se seleccionan los datos en que las concentraciones superaron el valor de la media anteriormente calculada.
- Ya extraídos los días seleccionados con los datos de los recuentos, se calcula una sumatoria de cada una de las 24 horas.
- Con los totales por hora obtenidos de la sumatoria anterior, se lleva a cabo una sumatoria de las 24 horas, resultado que se tomara como el 100%.
- Con el valor anterior se calcula el porcentaje de cada una de las 24 h., de la primer sumatoria calculada.

Anexo 5: Cálculo del Índice de Distribución Intradiaria (IDI)

El cálculo se lleva a cabo por medio de la siguiente ecuación:

$$IDI = \frac{M - m}{T}$$

Donde:

- M= Valor máximo de las sumatorias horarias.
- m= Valor mínimo de las sumatorias horarias.
- T= Valor de las sumatoria totales

Interpretación

- IDI < 0.1 Refiere a que los picos son inestables y se pueden presentar en cualquier hora del día.
- IDI oscila entre 0.1 0.2 Refiere a que los picos son moderados, apreciándose un aumento gradual en la liberación del polen a la atmósfera.
- IDI > 0.2 Refiere que el pico es estable, observándose que la liberación del polen se da en un periodo determinado.

Anexo 6: Registro de identificación de especies



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNGMA DE MÉXICO FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

HERBARIO IZTACALA





FES/HI/048/2016

JOSÉ JUAN ALCIVAR SALDAÑA Alumno del Posgrado en Ciencias Biológicas (Biología) Centro de Ciencias de la Atmósfera, UNAM Presente

Por este conducto me permito proporcionar a usted la identificación taxonómica del material botánico de respaldo del Proyecto de Tesis de Maestría "Polen como bioindicador de contaminación ambiental del Municipio de Tlalnepantla de Baz, Estado de México y sus efectos en la salud", que se realiza en el Centro de Ciencias de la Atmósfera, Ciudad Universitaria, bajo la dirección de la Dra. María del Carmen Leticia Calderón Ezquerro.

Así mismo, le informo que las plantas han sido integradas en la Colección Científica del Herbario Iztacala, con los siguientes números de registro:

Nombre Científico	Familia Botánica	Nombre Popular	No. de Registro
Cupressus Iusitanica Mill.	CUPRESSACEAE	"Ciprés"	42810 IZTA
Cupressus Iusitanica Mill.	CUPRESSACEAE	"Ciprés"	42811 IZTA
Fraxinus uhdei (Wenz.) Lingelsh.	OLEACEAE	"Fresno"	42812 IZTA
Fraxinus uhdei (Wenz.) Lingelsh.	OLEACEAE	"Fresno"	42813 IZTA
Pinus pseudostrobus Lindl.	PINACEAE	"Pino"	42814 IZTA
Pinus sp	PINACEAE	"Pino"	42815 IZTA

Sin otro particular, le envío un cordial saludo.

Atentamente

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Los Reyes Iztacala, Estado de México, 19 de octubre 2016

M. EN C. MA. EDITH LOPEZ VILLAFRANCO

Responsable del Herbario IZTA

