5º CONGRESO FORESTAL ESPAÑOL

5º Congreso Forestal Español

Montes y sociedad: Saber qué hacer.

REF.: 5CFE01-517

Editores: S.E.C.F. - Junta de Castilla y León
Ávila, 21 a 25 de septiembre de 2009
ISBN: 978-84-936854-6-1
© Sociedad Española de Ciencias Forestales

Variación del contenido de clorofila en hojas mediante biomonitoreo del arbolado afectado por contaminantes atmosféricos

CALDERON GUERRERO, C.[1], MONSÓ SENABRE, M.A.[2] y LEGAZ GONZÁLEZ, M.E.[3]

[1] Departamento de Silvopascicultura. EUIT Forestal. Universidad Politécnica de Madrid. Autor para correspondencia: carlos.calderon@upm.es
[2] Departamento de Producción Vegetal: Botánica y Protección Vegetal. EUIT Forestal. Universidad Politécnica de Madrid
[3] Departamento de Biología Vegetal I. Facultad de Biología de la Universidad Complutense de Madrid

Resumen

La actividad fotosintética en las hojas está afectada por factores externos de diversa índole como la temperatura, la radiación solar o la humedad del suelo. La presencia de contaminantes atmosféricos podría ser otro factor a considerar. En el presente estudio se comparan las concentraciones de clorofilas a y b en distintas especies del arbolado urbano de Madrid bajo diferentes niveles de exposición a contaminantes procedentes de emisiones del tráfico rodado. Durante el periodo 2006-2007 se recogieron de las calles de Madrid y se conservaron en frio muestras foliares de las siguientes especies: *Platanus sp. Aesculus hippocastanum, Cedrus, sp., Pinus pinea, Ulmus sp y Quercus ilex*; todas ellas muestreadas estratificadamente según niveles de contaminación atmosférica. En el caso de las especies caducifolias las muestras se recogieron en tres momentos distintos entre principios de verano y antes del final del periodo vegetativo. Mientras que en el caso de las especies perennifolias se hizo un cuarto muestreo a principios de invierno. Los contenidos de clorofilas obtenidos mediante técnica espectrofotométrica previa extracción con acetona a 24 y 48 horas se compararon con las concentraciones de contaminantes atmosféricos en las épocas de muestreo y los niveles de metales pesados por deposición, así como con la tasa de fotosíntesis neta en el momento de la recogida de las muestras. Entre otras, en las muestras otoñales, el contenido de clorofila total fue de 1,13 $mg \cdot g^{-1}$ y de 2,40 $mg \cdot g^{-1}$ de peso fresco para niveles bajos de contaminación, frente a 0,84 $mg \cdot g^{-1}$ y 1,83 $mg \cdot g^{-1}$ de peso fresco en lugares de alta contaminación para *Aesculus hippocastanum* y *Cedrus sp.* respectivamente. Los contenidos de clorofilas a lo largo del año sugieren que el efecto de estos contaminantes sobre el estado fisiológico del árbol es un factor a tener en cuenta.

Palabras clave
Factores abióticos, variación estacional, arbolado urbano, espectrofotometría.

1 Introducción

Las plantas están sujetas a diferentes factores de estrés que en el caso del medio ambiente urbano suelen ser de origen antrópico en la mayoría de los casos. Elementos como los metales pesados se pueden encontrar en condiciones naturales en los suelos, pero su concentración y frecuencia es más acusada en el entorno industrial, urbano y de explotaciones agrícolas intensivas (KABATA-PENDIAS & PENDIAS, 2001). Las emisiones producidas por los motores de los vehículos son una de las fuentes más importantes de contaminantes atmosféricos dentro de las ciudades. Algunos de estos metales pesados como el Plomo (Pb), Cadmio (Cd) y Zinc (Zn) se encuentran en las proximidades de las vías urbanas y pueden afectar a la vegetación y especialmente al arbolado circundante. Estos elementos pueden ser

absorbidos por el arbolado en su mayor parte a través del suelo y en pequeñas cantidades desde la atmósfera, acumulándose en distintos tejidos vasculares y de reserva, tanto en las raíces, como en troncos, ramas y hojas, llegando a resultar fitotóxicos si se exceden ciertos niveles de concentración (BAYÇU & ONAL, 1992).
Entre otros, las bajas temperaturas, los daños antrópicos, los patógenos, la sequía, los gases tóxicos, la excesiva radiación ultravioleta y los metales pesados, son distintos factores que pueden afectar al estado vegetativo del árbol. Debido a la acción de múltiples factores, resulta complicado aislar el efecto de uno de estos factores de estrés sobre las planta.
Los taxones elegidos (*Platanus sp. Aesculus hippocastanum, Cedrus, sp., Pinus pinea, Ulmus sp y Quercus ilex*) son algunas de las más frecuentes en el arbolado de alineación o de parques y jardines de las principales ciudades.

2 Objetivos

El objeto del presente estudio será la comparación de las concentraciones de clorofilas a y b en las distintas especies del arbolado urbano de Madrid, anteriormente citadas, bajo diferentes niveles de exposición a contaminantes procedentes de emisiones del tráfico rodado.

3 Metodología

3.1 Zonas de muestreo y material vegetal.

A lo largo del periodo 2006-2007 se recogieron de las calles de Madrid y se conservaron en frio muestras foliares de los siguientes taxones: *Platanus sp. Aesculus hippocastanum, Cedrus sp., Pinus pinea, Ulmus sp y Quercus ilex*. Para ello se realizó un muestreo estratificado en función de los distintos niveles de contaminación atmosférica y de las intensidades medias diarias del tráfico de las principales vías de la ciudad. La localización específica de los árboles expuestos a ciertos niveles de contaminación en los que se realizó el muestreo correspondió a las proximidades (con una distancia inferior a 100 metros) de las principales estaciones de la red de seguimiento de la calidad del aire de Madrid, tomándose la precaución de que todos estos árboles tuvieran unas condiciones de suelo, orientación, riego, edad y porte similares. Entre otros, los puntos muestreados se localizaron en las proximidades de la Plaza de España y Templo de Debod, Pº. de Recoletos, Plaza de Gregorio Marañón, Plaza de Marqués de Salamanca, Plaza de Castilla y nudo norte de la M-30, Avda. de Ramón y Cajal, Plaza de Manuel Becerra, entorno de Cuatro Caminos, Plaza de Cristo Rey, Glorieta de la Puerta de Toledo, Glorieta de Carlos V, Arturo Soria, Casa de Campo de Madrid y Monte de El Pardo. Además de 10 árboles del perímetro y otros 10 del interior de El Parque de El Buen Retiro de Madrid.

En el caso de las especies caducifolias las muestras se recogieron en tres momentos distintos entre principios de verano y antes del final del periodo vegetativo. Mientras que en el caso de las especies perennifolias se hizo un cuarto muestreo a principios de invierno.

3.2 Determinación del contenido de clorofila.

Las clorofilas a y b se determinaron por el método de Jeffrey and Humphrey (1975). Para ello se tomaron 5 g de tejido de hoja o acícula a los cuales se añadieron 50 mL de acetona *Panreac*® PRS al 80% (v/v). El extracto se agitó en un “vortex” y se mantuvo en obscuridad durante 24 ó 48 h, para después filtrarlo por papel *Whatman*® nº 42, 110 mm libre

de cenizas. En éste último se midieron las absorbancias a 649 nm y a 665 nm. La concentración de cada clorofila, en (μg•mL-1), fue calculada según las siguientes expresiones:

Clorofila a ($\mu g \cdot mL^{-1}$)= ($11,63 * A_{665}$) – ($2,39 * A_{649}$)
Clorofila b ($\mu g \cdot mL^{-1}$)= ($20,11 * A_{649}$) – ($5,18 * A_{665}$)

El resultado final de la concentración total de clorofila a o b, así como la suma de ambas se expresa en ($\mu g \cdot$clorofila$\cdot mL^{-1} \cdot g^{-1}$ peso seco).

3.3 Determinación del contenido de metales pesados en muestras foliares y de suelo.

Para la determinación del contenido de Pb, Cd y Zn, tanto en muestras foliares como de suelo, se tomaron los datos coincidentes con los diferentes puntos de muestreo utilizados en este estudio, con los de un estudio anterior realizado en dichas zonas (CALDERÓN, GÜNTHARDT-GOERG & VOLLENWEIDER, 2008). En aquellas analíticas de realizó un secado de las hojas a 103º C hasta alcanzarse el peso seco constante entre dos pesadas. Las muestras de suelo fueron tomadas de los primeros 10 cm de profundidad del suelo bajo la perpendicular de las copa de los árboles seleccionados. La digestión de ambas muestras se hizo con ácido nítrico y analizadas usando espectrofotometría de emisión atómica (IPC-AES).

4 Resultados

La media de las concentraciones de metales pesados en las hojas y acículas (en $mg \cdot kg^{-1}$ de peso seco) de los árboles analizados fue según elementos en orden descendente: Zn > Pb > Cd. Las concentraciones de Cd en las muestras foliares de principios de verano tomadas de los puntos de muestreo control y con menores intensidades de tráfico variaron entre los 0,05 en los casos de *Aesculus hippocastanum y Platanus sp*, y los 0,82 encontrados en *Cedrus sp.* en la Glorieta de Gregorio Marañón. Mientras que los valores de Cd al final del periodo vegetativo y en invierno, con niveles de tráfico y contaminación de aire superiores, oscilaron entre los 0,05, nuevamente en *Aesculus hippocastanum y Platanus sp*, en el interior del parque de El Retiro y los 1,91 en *Cedrus sp.* del perímetro del parque de El Retiro próximo a la estación de medición de la calidad de aire de Escuelas Aguirre.

En el caso del Pb, la concentraciones menores (en $mg \cdot kg^{-1}$ de peso seco) se encontraron en las muestras control de principios de verano, registrándose valores de 0,0 en *Platanus sp* en la Casa de Campo a 3,97 en *Quercus ilex* en la Plaza de España. Mientras que en invierno y con tiempo seco, en *Pinus pinea* las concentraciones fueron de 18,15 y hasta 23,40 en el caso de *Cedrus sp*. próximo a la estación de medición de la calidad de aire del Paseo de Recoletos. Se observó que en general había un incremento de las concentraciones de Pb en los puntos de muestreo con más tráfico y también un incremento de las concentraciones de finales del periodo vegetativo e invierno comparadas con los principios del verano. También se encontraron altas concentraciones de Zn (en $mg \cdot kg^{-1}$ de peso seco) en las dos especies coníferas al final del periodo vegetativo, con valores de 77,65 en *Cedrus sp*. y 71,96 en *Pinus pinea* en las proximidades de los sitios con mayor tráfico en la intersección del Paseo de la Castellana con el nudo norte de la vía denominada *Calle-30*., donde se encuentra la estación de medición de la calidad de aire de Plaza de Castilla.

En general, cuando se compararon las muestras control con las muestras de los puntos contaminados se observó que para las mismas especies había ciertas diferencias más allá del efecto estacional. En general, las muestras analizadas de los puntos con alta contaminación mostraron la concentración de Cd, Pb y Zn ligeramente superior a la encontrada en las muestras control. En algunos casos, los valores de altas concentraciones de Pb fueron encontrados en el centro de grandes zonas verdes que no hacían esperar esos valores elevados. Sin embargo en las analíticas de suelo se comprobó que la alta concentración de plomo se encontraba presente en el suelo.

En el caso de las clorofilas, se observó, en general, contenidos de clorofila menores tanto a comienzos del verano, como a finales del periodo vegetativo, en las muestras procedentes de cruces y glorietas con alta densidad de tráfico en comparación con los contenidos de las muestras de zonas con baja intensidad de tráfico en ambas épocas.
Los contenidos de clorofila en el mes de junio en las zonas de niveles bajos de tráfico tuvieron una media de 1,36 (en $mg \cdot g^{-1}$ de peso fresco) en las muestras de *Aesculus*, mientras que en las mismas fechas para las muestras de los sitios contaminados fue de 0,92.

A finales del mes de octubre, en las muestras de *Aesculus* de las zonas de niveles bajos de tráfico la media fue de 1,13 (en $mg \cdot g^{-1}$ de peso fresco) mientras que en el mismo periodo las muestras de los lugares con mayor contaminación tuvieron una media de 0,83.

Los valores, en el caso de *Cedrus sp*, fueron de 1,66 de media en zonas contaminadas a comienzos de verano frente a los 2,05 de las zonas no contaminadas. A finales del mes de octubre los valores del contenido de clorofila aumentaron ligeramente en ambos casos, siendo de 1,84 de media en las zonas contaminadas frente a los 2,40 de media en las no contaminadas.

Las cifras medias para el caso de *Pinus pinea* se mantuvieron en la misma línea con valores medios de 1,71 y 2,56, según se trate de muestras de zonas con tráfico intenso o no. En el caso de *Quercus ilex* no se encontraron diferencias entre las muestras analizadas con unos valores medios de 0,28 a 0,52, pero sin distinguirse significativamente las muestras según los niveles de contaminación.

La reducción del contenido de clorofila de los sitios urbanos comparados con los de control también fue detectada en las muestras de *Platanus sp y Ulmus sp.*

Respecto al ratio de los valores obtenidos de la concentración de clorofila a frente a la clorofila b, para el caso de *Aesculus*, el ratio Ch a/Ch b fue de 0,76, mientras que para *Platanus* dicho ratio fue de 0,74. En el caso de *Cedrus*, el ratio Ch a/Ch b fue sensiblemente diferente obteniéndose un valor medio de 1,32.

5 Discusión.

A lo largo de la literatura se ha comprobado que la acumulación de metales pesados producida por la emisión de partículas de los vehículos suelen contaminar la superficie del suelo de los primeros 10 cm de profundidad y que las plantas próximas a estas vías presentan concentraciones en Pb y Cd superiores a las de sitios sin contaminación (BAYÇU & ONAL, 1993); (QUIEROLO et al., 1989). En este estudio se ha comprobado que la concentración de Pb fue superior a la de Cd y a pesar de hacerse disminuido las emisiones de Pb al ser reemplazado de los combustibles de los vehículos, normalmente el plomo queda en el suelo y

sigue recirculando. Las concentraciones de estos 2 elementos fueron superiores en las hojas de 2007 que en las de 2006 para el caso de las perennifolias, siendo el periodo de exposición la causa más probable de este incremento.

Respecto al análisis de clorofilas, se comprobó que los contenidos de clorofila era superiores en las hojas de 2007 que en las hojas de 2006 en las muestras control. Mientras que en las zonas contaminadas se comprobó que los niveles totales de clorofila constituyen una señal de fitotoxicidad en las acículas de *Cedrus sp* y *Pinus pinea*. De tal manera que en la mayoría de los casos cuando las concentraciones de Pb, Zn y Cd en las acículas y en el suelo se incrementan, se veía cómo el contenido de clorofila, tanto de las acículas jóvenes como de las adultas, disminuía, siendo detectable más claramente en las acículas viejas y más expuestas al tráfico. Similares resultado han sido encontrados en acículas de pino, abeto y picea como consecuencia de concentraciones elevadas de metales pesados (TAE & HEINRICH, 1997) (BEREKET & YUCEL, 1990) (REHFUESS, BOSCH & PFANNKUCH, 1983)

Las muestras de suelos que fueron tomadas de sitios contaminados y de sitios control mostraron concentraciones diferentes, siendo por ejemplo, la concentración de Pb de 429,19 µg Pb/g. peso seco en uno de los puntos con alto tráfico, mientras que la concentración de Pb en un paraje alejado del tráfico fue de 32,75 µg Pb/g. peso seco.

6 Conclusiones

Los contenidos de clorofila pueden ser apropiados como indicadores de estrés por metales pesados en condiciones de contaminación en las ciudades. Un descenso en los pigmentos sugiere la idea que la biosíntesis de clorofila puede estar inhibida por el estrés producido por los metales pesados.

La interacción con otros factores debe ser estudiada más detenidamente en próximos ensayos en condiciones aisladas.

7 Agradecimientos.

A la Dirección del Patrimonio Arquitectónico e Inmuebles de Patrimonio Nacional, a la Dirección General de Patrimonio Verde y al Servicio de Calidad del Aire del Ayuntamiento de Madrid y al Instituto Geominero Español por la atención y ayuda proporcionada.

8 Bibliografía.

BAYÇU, G.; ONAL, M.; 1992. The effect and the accumulation of cadmiun in Ailanthus altissima. Physiologia Plantarum 85 (3) (part 2).

BEREKET G., YUCEL, E., 1990. Monitoring of the heavy metal pollution of traffic origin in Eskisehir. Doga. Tr J Chem, 14, p. 266-271.

CALDERÓN, C.; GÜNTHARDT-GOERG, M.S.; VOLLENWEIDER, P.; 2008. Urban trees and air pollution: Quantitative and qualitative results from Madrid. En: Schaub, M., Kaennel Dobbertin, M., Steiner, D. (Eds) 2008. Air Pollution and Climate Change at Contrasting Altitude and Latitude. 23rd IUFRO. Conference for Specialists in Air Pollution and Climate Change Effects on Forest Ecosystems. Murten, (Suiza)

JEFFREY, S. W.; HUMPHREY, G. F.; 1975. New spectrophotometric equations for determining chlorophylls *a*, *b*, c_1 and c_2 in higher plants, algae and natural phytoplankton. *Biochem. Physiol. Pflanzen*. 167, 191 – 194.

KABATA-PENDIAS, A; PENDIAS, H.; 2001. Trace element in soils and plants. (3rd edition). CRC Press, Boca Raton, FL, USA.

REHFUESS; BOSCH; PFANNKUCH; 1983. Nutrient imbalancies in coniferous stands in Southern Germany. *Commun Inst For Fenn* 116.

TAE, W.K.; HEINRICH, G.; 1997. Effect of strontium on chlorophyll content, peroxidise activity and iron distribution in cell wall. J Plant Nutr 20: p. 255-269.