

## ESTIMACIÓN DE CO<sub>2</sub> ATMOSFÉRICO DE LA CIUDAD DE BOGOTÁ (COLOMBIA), UTILIZANDO HOJAS DE *GINKGO BILOBA* L. (GINKGOACEAE)

ESTIMATE OF ATMOSPHERIC CO<sub>2</sub> OF THE BOGOTÁ CITY (COLOMBIA), UTILIZING LEAVES OF *GINKGO BILOBA* L. (GINKGOACEAE)

Javier H. Jerez-Jaimes<sup>1,3</sup>, María C. Bernal-Pérez<sup>2,4</sup>

### Resumen

*Ginkgo biloba* L. (Ginkgoaceae) es considerado el último sobreviviente de un grupo con una gran variedad de plantas especialmente en el mesozoico, constituyéndose como el más antiguo "fósil viviente" vegetal. Los individuos de esta especie son especialmente sensibles a los cambios en las concentraciones de CO<sub>2</sub>, mostrando una relación inversa entre éstas y la densidad estomática. De acuerdo con esto, el patrón estomático en *G. biloba* no está definido por la edad de las plantas. *Ginkgo biloba*, no es una especie nativa pero presenta una marcada plasticidad estomática. En este estudio treinta hojas fueron colectadas de tres especímenes de dos años de vida cultivados en el Jardín Botánico José Celestino Mutis de la ciudad de Bogotá. Del material colectado fueron seleccionadas aleatoriamente seis hojas que posteriormente se trataron con hipoclorito de sodio durante la fase de aclaramiento. De cada una de estas hojas se tomaron tres submuestras al azar. Las cutículas adaxiales fueron removidas y coloreadas con tiónina para posterior observación a través del microscopio óptico en un campo de 400X. Se calculó la densidad estomática ( $\bar{x} = 69,39$  estomas/mm<sup>2</sup>; S = 16,93) e índice estomático ( $\bar{y} = 12,32$ ; S = 3,68). Con base en datos históricos de concentraciones de CO<sub>2</sub> e índice estomático se elaboró una regresión lineal simple ( $r = -0,99$ ,  $p = 0,000$ ) y se determinó la ecuación inversa [ $CO_2 = (IE - 33,427)/(-0,0704)$ ], con la que se estimó un rango de concentración de CO<sub>2</sub> atmosférico entre 381 y 384 partes por millón (ppm) para la ciudad de Bogotá.

*Palabras clave:* calentamiento global, densidad estomática, gases de invernadero, índice estomático, paleoclima

### Abstract

*Ginkgo biloba* L. (Ginkgoaceae) is considered the last survivor of a group of plants which exhibited great diversity in the Mesozoic era, and is now considered a "living fossil". The individuals of this species are especially sensitive to the changes in the CO<sub>2</sub> concentrations, showing an inverse relation with stomatal density. According to this, the stomatal pattern in *G. biloba* is not defined by the age of plants. *Ginkgo biloba* is not a native species but it presents a strong stomatal plasticity. In this study, thirty leaves were collected from three two-year specimens cultivated in the "Jardín Botánico José Celestino Mutis" in Bogotá. From the collected material, six leaves were selected randomly and were treated later with sodium hypochlorite. From each one of these leaves, three subsamples were taken at random. During this process, the adaxial cuticles were removed and colored with tionein for later observation through an optical microscope (400X). The stomatal density ( $\bar{x} = 69.39$  stomata/mm<sup>2</sup>; S = 16.93) and the stomatal index ( $\bar{y} = 12.32$ ; S = 3.68) were calculated. Based on historical data of CO<sub>2</sub> concentrations and stomatal index a simple linear regression was elaborated ( $r = -0.99$ ;  $p = 0.000$ ) and the inverse equation was determined [ $CO_2 = (SI - 33,427) / (-0.0704)$ ]. Taking into account this procedure, it was estimated for Bogotá an atmospheric CO<sub>2</sub> concentration between 381 and 384 parts per million (ppm.).

*Key words:* Global warming, greenhouse gases, paleoclimate, stomatal index, stomatal density.

Recibido: agosto 2007; aceptado: noviembre 2007.

<sup>1</sup> Escuela de Ingeniería Química, Universidad Industrial de Santander. Bucaramanga (Santander), Colombia.

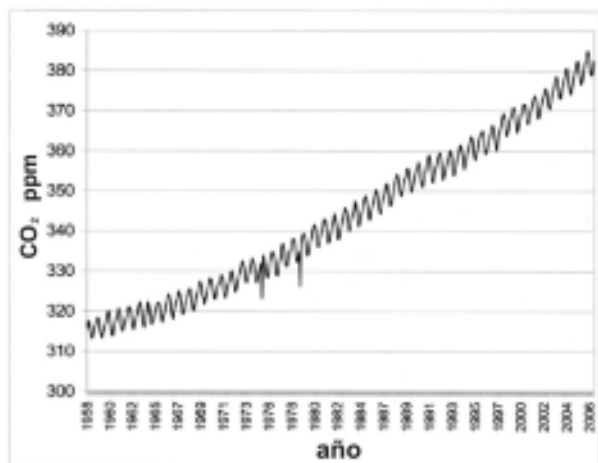
<sup>2</sup> Escuela de Biología, Universidad Industrial de Santander. Bucaramanga (Santander), Colombia.

Correos electrónicos: <sup>3</sup> <jaherjer@uis.edu.co>; <sup>4</sup> <kta\_berna@hotmail.com>.

## INTRODUCCIÓN

Durante el siglo XX las concentraciones de los principales gases de efecto invernadero (**GEI**) como dióxido de carbono (**CO<sub>2</sub>**), metano (**CH<sub>4</sub>**), óxido nitroso (**N<sub>2</sub>O**) y ozono (**O<sub>3</sub>**) han aumentado de forma continua debido principalmente al consumo de combustibles fósiles, la agricultura, y cambios en el uso de las tierras (Watson, 2001).

El incremento continuo en la concentración de CO<sub>2</sub>, es la principal causa del aumento en la temperatura media de la superficie del planeta tierra (Royer, 2003). Concentraciones de 280 ppm (partes por millón) desde el año 1750 han aumentado a 370 ppm en el año 2000, y se prevé que para el 2010 estas cifras aumenten a 540 y 970 ppm (Marland y Boden, 2005). Desde el año 1958 hasta el 2006 las concentraciones de CO<sub>2</sub> atmosférico muestran un aumento continuo (Trans, 2007), estimándose un promedio actual a nivel mundial de 381 ppm (figura 1).



**Figura 1.** Incremento de CO<sub>2</sub> atmosférico en los últimos 48 años a nivel mundial

Diferentes autores han realizado estimaciones de las concentraciones del CO<sub>2</sub> atmosférico estudiando la respuesta estomática de especies vegetales fósiles a los cambios en las concentraciones de CO<sub>2</sub> (Beerling y Royer, 2002; Chen et al., 2001; Keeling y Whorf, 2004; McElwain y Chaloner,

1995; Royer, 2003). De acuerdo con los resultados obtenidos en estos estudios, los niveles de CO<sub>2</sub> a los que se expongan las plantas durante su desarrollo inducen cambios en la densidad estomática (proporción de estomas por área) e índice estomático (proporción de estomas por células epidérmicas) (Chen et al., 2001; Kouwenberg et al., 2003). Estos cambios juegan un rol crucial en las plantas, afectando la conductancia estomática y la eficiencia del uso del agua (Chen et al., 2001). Aquellas plantas que son expuestas a altas concentraciones de CO<sub>2</sub> (por encima de 340 ppm) muestran reducciones en la densidad e índice estomático, comparadas con aquellas que crecen a bajas concentraciones (Beerling, 1999; Overdieck y Strassmeyer, 2005). En general la densidad e índice estomático varían ampliamente entre especies (Salisbury, 1927).

*Ginkgo biloba* L. (Ginkgoaceae) es el único representante de la familia Ginkgoaceae y es la especie más utilizada para este tipo de análisis. Este "fósil viviente" tuvo su máximo desarrollo y expansión durante el Jurásico (McElwain y Chaloner, 1995; Royer et al., 2003). Los individuos de esta especie son especialmente sensibles a los cambios en las concentraciones de CO<sub>2</sub> atmosférico. Chen y colaboradores en el 2001 realizaron estudios evaluando el potencial del carácter estomático de las hojas de *Ginkgo* como herramienta para el estudio de los cambios en la concentración de CO<sub>2</sub> atmosférico, demostrando que las hojas de *G. biloba* muestran una relación inversa entre la densidad estomática y la concentración de CO<sub>2</sub>. Resultados similares habían sido reportados por Beerling y colaboradores en 1998.

En Colombia no se han realizado estudios en cuanto a estimaciones de las concentraciones de CO<sub>2</sub> atmosférico utilizando el carácter estomático de especies vegetales. De acuerdo con esto y en respuesta a la ausencia de datos de la concentración de CO<sub>2</sub> atmosférico para la ciudad de Bogotá, este trabajo tiene como objetivo principal estimar la concentración de CO<sub>2</sub> atmosférico de la ciudad

de Bogotá, utilizando como indicadores la densidad estomática (**DE**) y el índice estomático (**IE**) de hojas de *G. biloba*.

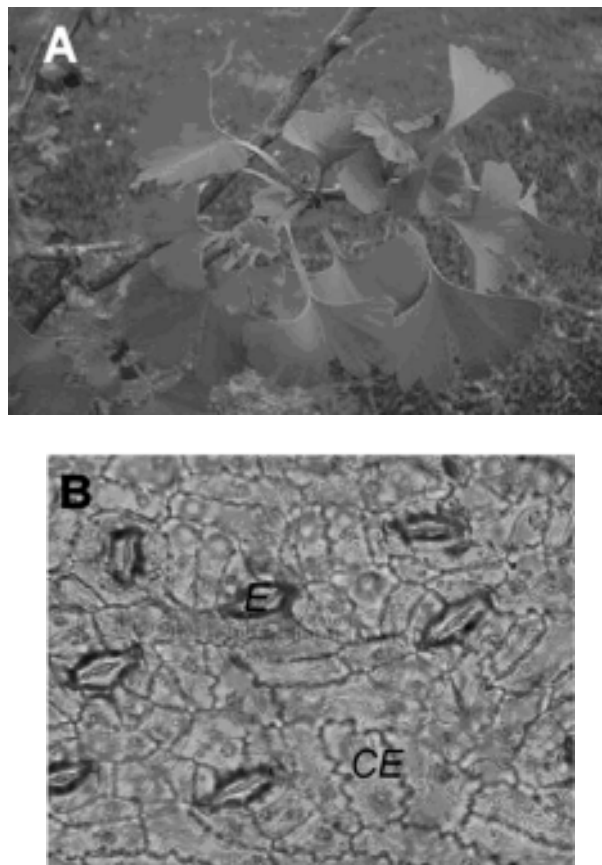
## MATERIALES Y MÉTODOS

**Material vegetal.** En junio de 2006 se colectaron hojas frescas de árboles de *Ginkgo biloba* L. de aproximadamente dos años de vida (figura 2A), ubicados en el Jardín Botánico José Celestino Mutis (4° 40' 24" N, 74° 06' 14,5" O) de la ciudad de Bogotá (Colombia).

**Conservación del material.** El material colectado se conservó en papel absorbente húmedo dentro de bolsas Ziploc® durante el traslado al laboratorio de Histotecnica de la Escuela de Biología de la Universidad Industrial de Santander en la ciudad de Bucaramanga.

**Tratamiento de las muestras.** Del total de muestras se seleccionaron al azar seis hojas que fueron procesadas en hipoclorito de sodio al 5,6% durante dos horas (fase de aclaramiento). Suavemente y con ayuda de una cuchilla se removió el envés de cada una de las hojas. La epidermis adaxial (superior) obtenida se enjuagó en alcohol al 70% y se conservó en agua limpia. Se realizaron un total de 18 montajes (tejido vegetal coloreado con tionina y glicerina) correspondientes a tres repeticiones por cada epidermis adaxial seleccionadas al azar. Las muestras se observaron a través del microscopio óptico en un campo de 400X. Posteriormente se tomaron fotografías de cada una de las muestras con ayuda de una cámara digital Fujifilm de 3,2 megapíxeles.

**Cálculo del índice estomacal.** El cálculo de la densidad estomática (**DE**) y el índice estomático (**IE**) se basó en el conteo del número de estomas y células epidérmicas típicas observadas a través de la pantalla del monitor. Solo se contaron las células y estomas que se observaron completas en el campo visual (figura 2B).



**Figura 2.** Hojas de *Ginkgo biloba* L. **A.** disposición de las hojas en una rama. **B.** epidermis adaxial (E = estoma, CE = célula epidérmica) (X 400)

La DE es expresada como el número de estomas por unidad de área foliar en mm<sup>2</sup>, para este estudio el área de conteo fue de 0,1633 mm<sup>2</sup> en el campo visual de 400X:

$$DE = \text{número de estomas/área}$$

El **IE** es expresado como el número total de estomas calculados sobre el total de células epidérmicas.

$$IE = (\text{número de estomas} / [\text{células epidérmicas} + \text{número de estomas}]) \times 100$$

**Estimación de la concentración de CO<sub>2</sub>.** Se debe tener en cuenta que el índice estomático ha mostrado experimentalmente respuestas a la presión parcial de CO<sub>2</sub> y no a la concentración (Woodward y Bazzaz, 1988), ésto se corrobora al existir una co-

relación positiva entre la elevación, la densidad estomática e índice estomático (Beerling et al., 1992). La relación entre la elevación y la presión parcial en atmósferas bajas es calculada con la ecuación de Jones (1992):

$$P = -10,6 \times E + 100$$

Donde:

**P** = porcentaje de presión parcial relativa al nivel del mar

**E** = elevación en kilómetros

Para determinar la concentración de CO<sub>2</sub> atmosférico se tomó una serie de datos históricos de IE y

concentración de CO<sub>2</sub> (tabla 1) de Royer (2003), y mediante una regresión lineal se determinó la ecuación, también se utilizaron las ecuaciones de Royer et al. (2001):

$$Ca = \frac{(52 \times IE - 243)}{1049 \times IE - 6250} \times 5000$$

y, Beerling y Royer (2002):

$$Ca = -180,57 \times \ln(0,048 \times IE - 0,3418)$$

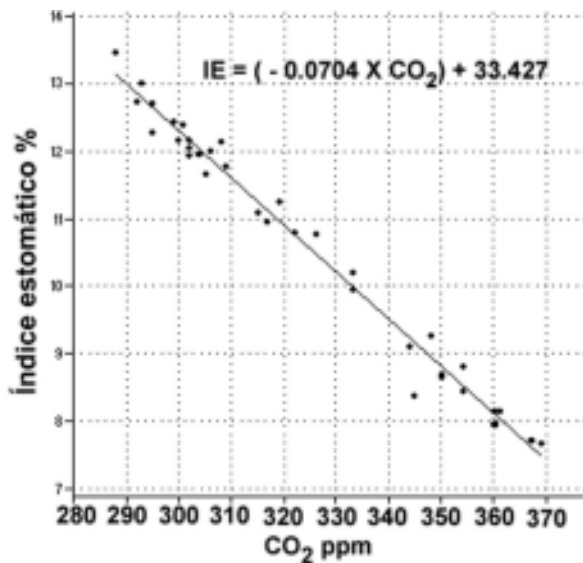
Donde Ca es la concentración de CO<sub>2</sub> calculada.

**Tabla 1.** Datos históricos de CO<sub>2</sub> y el índice estomático (IE) tomados de Royer (2003) (\* N. A. = no aplica)

<b>Año</b>	<b>CO2 (ppm)</b>	<b>IE (%)</b>
1856	288	13,44
1880	292	12,73
1883	293	13
1900	295	12,25
1900	295	12,7
1910	299	12,42
1915	300	12,13
1918	301	12,37
1920	302	11,9
1921	302	12,02
1922	302	12,13
1928	304	11,93
1932	305	11,63
1937	306	11,98
1942	308	12,11
1943	309	11,75
1958	315	11,07
1960	317	10,93
1965	319	11,24
1968	322	10,77
1971	326	10,76
1977	333	9,92
1977	333	10,17
1984	334	9,08
1985	345	8,35
1987	348	9,24
1988	350	8,68
* N. A.	350	8,63
1990	354	8,42
1990	354	8,78
1995	360	7,94
1995	360	8,12
1996	361	8,12
1999	367	7,71
2000	369	7,66

**RESULTADOS**

Los cálculos de la densidad e índices estomáticos se reportan en la tabla 2. El valor de la presión parcial para la ciudad de Bogotá (2.640 m) fue de  $P = 72,016$  por lo que se debe asumir un desestimativo del 28% en la concentración de  $CO_2$  que debe ser agregado al valor obtenido en cada ecuación. El coeficiente de regresión para los valores históricos de  $CO_2$  e IE fue de  $r = -0,99$  y  $p = 0,0001$  (figura 3) y la ecuación obtenida fue la siguiente:  $IE = (-0,0704 \times CO_2) + 33,427$ . Para calcular el  $CO_2$  se obtuvo la ecuación inversa para la predicción:



**Figura 3.** Análisis de regresión para los valores históricos de  $CO_2$  e y el índice estomático (IE) elaborado con datos históricos de Roger (2003) desde el año 1856 al 2000 (ppm = partes por millón)

$$CO_2 = \frac{IE - 33,427}{-0,0704}$$

**Tabla 2.** Valores y el índice estomático (IE) y densidad estomática (DE) calculados

hoja	N.º de estomas	células epidérmicas	IE	DE
1	13	97	11,81	79,6
1	13	109	10,65	79,6
1	14	108	11,47	85,73
2	11	99	10	67,36
2	12	104	10,34	73,48
2	9	88	9,27	55,11
3	10	96	9,43	61,23
3	9	82	9,89	55,11
3	9	96	8,57	55,11
4	8	63	11,26	48,98
4	8	65	10,95	48,98
4	12	70	14,63	73,48
5	13	63	17,10	79,60
5	14	82	14,58	85,73
5	19	59	24,35	116,35
6	10	80	11,11	61,23
6	9	71	11,25	55,11
6	11	61	15,27	67,36
<b>Media</b>			12,32	69,39
<b>Desviación estándar</b>			3,68	16,93

La concentración de  $CO_2$  calculada a partir de la ecuación de regresión simple, es similar a la obtenida con la ecuación de Royer (2001). En comparación con el resultado de la ecuación de Beerling y Royer (2002), se encontró un desestimativo del 16% en el cálculo de la concentración de  $CO_2$  (tabla 3).

**Tabla 3.** Estimativos de  $CO_2$  atmosférico para Santafé de Bogotá, Colombia (\* RL = regresión lineal simple; \*\* 28% a partir del cálculo de la presión parcial)

ecuaciones	$CO_2$ ppm calculado	$CO_2$ ppm corregido**
Este estudio * RL	300	384
Royer (2001)	298	381
Beerling y Royer (2002)	251	321

## DISCUSIÓN

Basados en la sensibilidad de *G. biloba* a cambios en la concentración atmosférica de CO<sub>2</sub> (Chen et al., 2001) y la utilidad que esto representa para la reconstrucción de paleoclimas, utilizamos esta planta para calcular concentraciones de CO<sub>2</sub> actuales. *G. biloba* no es una planta nativa de la Sabana de Bogotá, pero su plasticidad y adaptabilidad la hacen una especie idónea para realizar este tipo de estudios. Según Beerling y Royer (2002), la edad de las plantas de *Ginkgo* no juega un papel importante en aquellos casos en que la concentración de CO<sub>2</sub> es alta, por lo que la edad de las plantas utilizadas no generó errores en el estimativo.

La respuesta histórica del índice estomático de *G. biloba* se ajusta a un modelo regresional en el rango de CO<sub>2</sub> comprendido entre las 288 y 369 ppm, incremento característico producto de la actividad antropogénica; a valores superiores, la respuesta es no lineal debido a los principios fisiológicos de la planta (Royer, 2003). El rango de datos utilizado para construir el set de entrenamiento comprendía registros desde el año 1856 hasta el 2000, ajustándose a un modelo lineal, que hace que la concentración calculada de CO<sub>2</sub> (384 ppm) para la ciudad de Bogotá sea un estimativo confiable (p = 0,0001). Consideramos una coincidencia el valor estimado en nuestro estudio con el valor de CO<sub>2</sub> atmosférico global para el mes de junio de 2006 reportado por *National Oceanic and Atmospheric Administration (NOAA)* (figura 4), debido a que la plasticidad del patrón estomático de la planta no responde a los pequeños cambios mensuales en la concentración de CO<sub>2</sub> atmosférico, es decir, que estos cambios no pueden estimarse en periodos de tiempo muy cortos (días o meses). Este valor es similar al resultado obtenido utilizando la ecuación de Royer (381 ppm) el cual se corrobora con los datos suministrados por NOAA para el año 2006. La ecuación de Beerling y Royer (2002) produce un valor subestimado debido a que para su construcción se tuvieron en cuenta datos de paleosoles, siendo más efectiva en el cálculo de paleo CO<sub>2</sub>.

Mes	CO2 (ppm)
01	381,40
02	382,20
03	382,66
04	384,68
05	384,94
06	384,02
07	382,14
08	380,31
09	378,81
11	378,99
12	380,17
13	382,43

Ecuaciones	CO <sub>2</sub> calculado (ppm)	CO <sub>2</sub> corregido (ppm)
Este estudio	300	384
Royer (2001)	298	381
Beerling y Royer (2002)	251	321

**Figura 4.** Concordancia del valor estimado de CO<sub>2</sub> atmosférico para la ciudad de Bogotá con el registro global para el mes de junio de 2006 reportado por *National Oceanic and Atmospheric Administration (NOAA, Mauna Loa)*

Se puede inferir a partir de los resultados obtenidos que la concentración de CO<sub>2</sub> atmosférico de la ciudad de Bogotá está dentro del rango de las 381 a 384 ppm. No es posible confirmar estos valores debido a la ausencia de datos estimativos de este gas para la ciudad. Sin embargo, es válido resaltar que los valores calculados estiman la concentración de CO<sub>2</sub> que la planta ha experimentado durante los años de su desarrollo y crecimiento, induciendo cambios morfofisiológicos que permiten inferir las concentraciones globales de CO<sub>2</sub>.

Las concentraciones actuales de CO<sub>2</sub> atmosférico han alcanzado el umbral de linealidad de la respuesta del índice estomático en *G. biloba*, por lo que se recomienda realizar estudios con plantas nativas que puedan aportar información sobre las concentraciones de CO<sub>2</sub> pasadas y presentes a nivel local o global.

## AGRADECIMIENTOS

Nuestros más sinceros agradecimientos al profesor Gustavo Morales coordinador de colecciones del Jardín Botánico José Celestino Mutis por el sumi-

nistro del material vegetal. Asimismo, al profesor Edgar Rincón por facilitarnos el laboratorio de Histología de la Escuela de Biología de la Universidad Industrial de Santander y asesorarnos en el tratamiento de las hojas.

## REFERENCIAS

- Beerling D, Chaloner W, Huntley B, Pearson J, Toolei M, Woodward F.** 1992. Variations in the stomatal density of *Salix herbacea* L. under the changing atmospheric CO<sub>2</sub> concentrations of late and post glacial time. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, B336:215-224.
- Beerling D, McElwan J, Osborne C.** 1998. Estomatal responses of the "living fossil" *Ginkgo biloba* L. to changes in atmospheric CO<sub>2</sub> concentrations. *Journal of Experimental Botany*, 49:1603-1607.
- Beerling D.** 1999. Stomatal density and Index: theory and application. Pp. 251-256. En: Jones T, Rowe N (eds.). *Fossils plants and spores: modern techniques*. Geological Society, London. London.
- Beerling D, Royer D.** 2002. Reading a CO<sub>2</sub> signal from fossil stomata. *New Phytologist*, 153:387-397.
- Chen L, Chaloner W, Beerling D, Sun Q, Collinson M, Mitchell P.** 2001. Assessing the potential for the stomatal characters of extant and fossil *Ginkgo* leaves to signal atmospheric CO<sub>2</sub> change. *American Journal of Botany*, 88:1309-1315.
- Jones HG.** 1992. *Plants and microclimate. A quantitative approach to plant physiology*. Second edition. Cambridge University Press. Cambridge.
- Kouwenberg L, McElwain J, Lurschner W, Wagner F, Beerling D, Mayle F, Visscher H.** 2003. Stomatal frequency adjustment of four conifer species to historical changes in atmospheric CO<sub>2</sub>. *American Journal of Botany*, 90:610-619.
- Keeling C, Whorf P.** 2004. *Atmospheric Carbon Dioxide Concentrations*. Scripps Institution of Oceanography. University of California, San Diego.
- McElwain J, Chaloner W.** 1995. Stomatal density and index of fossil plants track atmospheric carbon dioxide in the Paleozoic. *Annals of Botany*, 76:398-395.
- Marland G, Boden T.** 2005. *The increasing concentration of atmospheric CO<sub>2</sub>: How much, when, and why?* Environmental Sciences Division. Oak Ridge, Tennessee National Laboratory. USA. <<http://cdiac.ornl.gov/epubs/other/Sicilypaper.pdf>>. Fecha de consulta: 1 de noviembre de 2006.
- Overdieck D, Strassmeyer J.** 2005. Gas exchange of *Ginkgo biloba* leaves at different CO<sub>2</sub> concentration levels. *Flora*, 200:159-167.
- Royer D.** 2001. Stomatal density and stomatal index as indicators of paleoatmospheric CO<sub>2</sub> concentration. *Review of Paleobotany and Palynology*, 114:1-28.
- Royer D, Berner R, Beerling D.** 2001. Phanerozoic atmospheric CO<sub>2</sub> change: Evaluating geochemical and paleobiological approaches. *Earth Science Reviews*, 54:349-392.
- Royer D.** 2003. Estimating latest Cretaceous and Tertiary atmospheric CO<sub>2</sub> from stomatal indices. *Geological Society of America*, 369:79-93.
- Royer D, Hickely L, Wing S.** 2003. Ecological conservatism in the "living fossil" *Ginkgo*. *Paleobiology*, 29:84-104.
- Salisbury E.** 1927. On the causes and ecological significance of stomatal frequency, with special reference to the woodland flora. *Philosophical Transaction of the Royal Society of London*, B216:1-65.
- Trans P.** 2007. *Earth system research laboratory. Global monitoring division*. Mauna Loa Observatory, Hawaii. <<http://www.esrl.noaa.gov/gmd/ccgg/trends/>>. Fecha de consulta: 16 de enero de 2007.
- Woodward F, Bazzaz F.** 1988. The responses of stomatal density to CO<sub>2</sub> partial pressure. *Journal of Experimental Botany*, 39:1771-1781.
- Watson R.** 2001. *Cambio climático. Informe de síntesis*. Organización Meteorológica Mundial (OMM) y Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático PNUMA. Ginebra, Suiza.