

**COMISIÓN ECONÓMICA PARA EUROPA DE NACIONES UNIDAS  
CONVENIO MARCO DE CONTAMINACIÓN ATMOSFÉRICA TRANSFRONTERIZA**

PROGRAMA INTERNACIONAL DE COOPERACIÓN PARA EL SEGUIMIENTO  
Y LA EVALUACIÓN DE LOS EFECTOS DE LA CONTAMINACIÓN ATMOSFÉRICA EN LOS BOSQUES

# **MANUAL RED CE DE NIVEL II**

## **RED DE PARCELAS PERMANENTES PARA EL SEGUIMIENTO INTENSIVO Y CONTINUO DE LOS ECOSISTEMAS FORESTALES.**

MÉTODOS Y CRITERIOS PARA HOMOGENEIZAR LA EVALUACIÓN, TOMA DE MUESTRAS, SEGUIMIENTO Y ANÁLISIS DE LOS EFECTOS DE LA CONTAMINACIÓN ATMOSFÉRICA Y OTROS FACTORES DE DECAIMIENTO SOBRE LOS BOSQUES.

## **PARTE V**

# **CALIDAD DEL AIRE: DAÑOS POR OZONO**



**Servicio de Sanidad Forestal  
y Equilibrios Biológicos (SSF)**



## INDICE

1	Introducción.....	1
2	Objetivos de la evaluación de daños en la vegetación.....	2
3	Visión general.....	3
3.1	Evaluación en las Parcelas de Seguimiento Intensivo. ....	3
3.2	Evaluación en Sitio de Muestreo Expuesto al Sol (LESS).....	4
3.3	Periodo de Evaluación.....	7
3.4	Pliegos de referencia, colección de fotos y muestras.....	7
3.5	Equipo y material.....	8
4	Identificación de síntomas y puntuación del daño.....	9
4.1	Identificación de síntomas y puntuación del daño. Frondosas. ....	9
4.2	Identificación de síntomas y puntuación. Especies de coníferas.....	9
5	Evaluación.....	11
5.1	Coníferas (MTS) en las Parcelas de seguimiento intensivo. ....	11
5.2	Frondosas (MTS y otros) dentro de la Parcela de Seguimiento Intensivo.....	12
5.3	Identificación de daños por Ozono y semejantes a Ozono en árboles, arbustos, y hierbas perennes en el LESS y, opcionalmente, en vegetación no arbórea dentro de la Parcela de Seguimiento Intensivo.....	13
6	Control de Calidad.....	14
6.1	Entrenamiento.....	14
7	ANEXO I. Procedimiento de muestreo para análisis microscópico (coníferas).....	15
8	ANEXO II. Diagrama de flujos para diagnosis de daños producidos por Ozono en frondosas.....	16
9	ANEXO III. Plantilla generada por ordenador para la evaluación de moteado clorótico. ....	17
10	Anexo IV. Fichas de campo.....	18
10.1	Formulario 1. Información de la parcela. ....	18
10.2	Formulario 2. Principales especies arbóreas (MTS); Coníferas y frondosas... 20	
10.3	Formulario 3. Zona de muestreo expuesta a la luz (LESS) y zona de seguimiento de la vegetación sub - arbórea (GVMS). ....	23

## 1 Introducción.

Los fotooxidantes, y especialmente el Ozono, han sido una preocupación respecto a la vegetación desde los años 80. Sin embargo, es durante la última década cuando el Ozono se ha convertido en un tema de preocupación en Europa. Existe la evidencia de que las concentraciones de Ozono que se presentan en Europa pueden causar diversos efectos negativos sobre la vegetación, incluyendo daños visibles en las hojas, reducciones en el crecimiento y producción, y alteran la sensibilidad a los estreses bióticos y otros estreses abióticos. Investigaciones recientes han aumentado nuestro conocimiento de los mecanismos subyacentes a los efectos del Ozono sobre cultivos agrícolas, y en menor medida, sobre los árboles y otras plantas silvestres. Se puede concluir que el aumento de las concentraciones de Ozono no sólo tienen un efecto negativo sobre la producción de madera (se han señalado disminuciones de hasta un 10%), sino que pueden producir situaciones inestables en ecosistemas forestales que pueden producir una disminución de la capacidad adaptativa a nuevos estreses en el futuro. Por tanto, efectos a largo plazo sobre los árboles pueden perjudicar la función de los ecosistemas forestales, e.g. su papel con respecto a los balances de agua y energía, protección del suelo frente a la erosión, cobertura de la vegetación en áreas secas así como apariencia estética del paisaje. Algunos de los cambios más importantes en las comunidades de plantas pueden ser a través de cambios en la composición de especies y pérdida de biodiversidad, particularmente en áreas con gran número de plantas endémicas con sensibilidad no conocida al Ozono. Sin embargo, antes de poder abordar estos problemas, son necesarios estudios mucho más detallados sobre exposición respuesta en diferentes especies y sitios.

La contaminación por Ozono, al contrario que la contaminación por fluoruros o por dióxido de azufre, no deja residuos elementales que puedan ser detectados por técnicas analíticas. Por tanto, los daños en hojas o acículas son la única evidencia fácilmente detectable en el campo. Hasta el momento, los experimentos se han concentrado en explicar los mecanismos que producen el daño en estudios experimentales, mas que a identificar y caracterizar los síntomas observados en el campo a escala regional. Las evidencias que tenemos hoy en día sugieren claramente que el Ozono se presenta en concentraciones que causan daños en las hojas de las plantas sensibles. Aunque los daños visibles no incluyen todas las posibles formas de daños a los árboles y vegetación natural (tales como cambios fisiológicos antes de que se presente el daño, reducción en el crecimiento, etc.), la observación de síntomas típicos sobre la parte aérea de las plantas en el campo ha resultado ser una herramienta valiosa para la evaluación del impacto del Ozono ambiental en especies sensibles en Europa, y además, los daños visibles se consideran el resultado de un estrés oxidativo, que produce una cascada de efectos adversos.

En ciertas partes de Europa, sin embargo, los daños visibles inducidos por el Ozono pueden verse rara vez en acículas y hojas de árboles. Por tanto, el uso de microscopía, puede ser una herramienta adecuada para identificar las respuestas del Ozono a nivel celular bajo condiciones de diagnóstico y estudio mucho más rigurosas, como un mecanismo de adicional de verificación.

El objetivo final de los muestreos es configurar un mapa mostrando una distribución de los síntomas de daños por Ozono en especies forestales existentes. Complementariamente, el estudio incrementará la información sobre la distribución y producirá una lista de especies con síntomas semejantes a los del Ozono en

comunidades autóctonas de plantas que se presentan en varios lugares a lo largo de las áreas forestales.

## **2 Objetivos de la evaluación de daños en la vegetación.**

El principal objetivo de *usar una aproximación con dosímetros pasivos* junto a la *búsqueda de síntomas en plantas nativas sensibles al Ozono* es aportar información sobre la distribución del Ozono en los ecosistemas forestales en Europa (vegetación espontánea y árboles) de una forma simple, fiable y con una base estadística. La razón esencial por la que se ha elegido los daños visibles es que muchas especies de plantas responden a niveles ambientales de contaminación por Ozono con daños visibles claros que pueden ser diagnosticados en el campo.

### 3 Visión general.

Muchas especies de plantas responden a niveles ambientales de contaminación por Ozono con claros síntomas foliares visibles específicos. Estos síntomas pueden diagnosticarse en el campo después de una preparación adecuada (ver punto 6.1).

La evaluación de los síntomas ha de realizarse preferiblemente en las parcelas de Nivel II en las que se hacen medidas con dosímetros pasivos (.Parcelas de seguimiento intensivo).

- *Dentro de la Parcela de seguimiento intensivo:*
  - Obligatoriamente, para la especie principal, denominada de ahora en adelante (MTS).
    - En las Parcela de 50 x 50 metros.
    - Parte superior de la copa de los árboles expuesta al sol
    - Cada 2 años
- Opcionalmente, en vegetación no arbórea en una subparcela dentro de la Parcela de seguimiento intensivo.
- En el denominado *Sitio de Muestreo Expuesto a la Luz (LESS)* al efecto: Ya que la mayoría de las Parcelas De seguimiento intensivo de Nivel II están situadas en bosques cerrados, y que los daños por Ozono se restringen normalmente a la parte superior de las copas expuesta al sol, se ha de establecer un *Sitio de Muestreo Expuesto a la Luz (LESS)* en las cercanías de la parcela exterior con meteorología y dosímetros pasivos. Este sitio sirve para examinar los daños visibles por Ozono en la vegetación y los muestreos se han de realizar una vez al año.

#### 3.1 Evaluación en las Parcelas de Seguimiento Intensivo.

- *En la especie arbórea principal (MTS):* en cada parcela de seguimiento intensivo se seleccionará la especie principal (MTS) para evaluar los síntomas de Ozono (ver Fig. 1). La evaluación de los síntomas de Ozono debe comprender:
  - La evaluación de daños por Ozono se realizará en los mismos árboles en los que se recogen muestras para el análisis foliar
  - Las muestras se han de obtener de la parte superior de la copa, expuesta al sol, cada 2 años, coincidiendo con el análisis foliar. (Ver manual de análisis foliar para más detalles)
  - Se sugieren dos procedimientos diferentes de evaluación para las coníferas y los árboles de hoja ancha, que se explican a continuación.
  - Es recomendable un muestreo anual, aunque es opcional.

- *En las especies de vegetación no arbórea (opcional):* Las especies más abundantes y las que se presentan en las listas de especies sensibles al Ozono se deben examinar para buscar síntomas de Ozono, siguiendo el mismo procedimiento explicado para el LESS.

### 3.2 Evaluación en Sitio de Muestreo Expuesto al Sol (LESS).

Cerca del sitio donde se instalan los dosímetros pasivos, se instalará un Sitio de Muestro Expuesto a la Luz (LESS). El LESS debe ser lo suficientemente grande como para incluir las especies más relevantes (Fig. 1).

Definición de la localización y el tamaño del LESS:

- Se ha de elegir el borde del bosque más cercano (o un claro en el bosque de dimensiones relevantes), preferiblemente con la especie principal de la parcela presente (por regeneración natural, chupones, etc.), cerca de la parcela exterior (instalaciones de meteorología/dosímetros pasivos) y dentro de un radio de 3 km desde ésta y con una diferencia de elevación de no más de 100 m. Siempre que se pueda se elegirá la misma exposición y pendiente.
- Los sitios seleccionados deben estar expuestos a pleno sol.
- El LESS, queda definido con un área mínima de 2 m x 25 m (en el margen de bosque). Se pueden también establecer LESS de mayores tamaños opcionalmente, considerando las características de cada localidad.
- Se dibujará un mapa y marcar el LESS de forma permanente.

Se muestrearán regularmente de daños por Ozono en una selección de los árboles, arbustos y plantas perennes de entre los disponibles en el LESS, en la época más adecuada para ello, que suele ser mediados-finales del verano:

Valoración:

- Examinar los posibles daños por Ozono en todas las especies presentes en el LESS.
- También se deben examinar las ramas accesibles de la principal especie arbórea (MTS), porque podría presentar síntomas en el margen del bosque que no se presentan en condiciones de bosque cerrado.
- Se puede utilizar esta información para preparar una lista de especies nacional o regional y completar la lista internacional preliminar de especies sensibles al Ozono. Sin embargo, sólo se deben considerar árboles, arbustos y las especies herbáceas perennes más importantes.

Herramientas complementarias:

1. Listados de vegetación para cada Parcela Instrumentada y preselección de las especies vegetales más abundantes. La lista debería incluir al menos la MTS de cada punto.
2. Comparar las especies seleccionadas con la 'Lista de Especies Europeas Sensibles al Ozono' aportada por el Centro de Coordinación como guía y la

información de las páginas web, y usar esta información como conocimiento *a priori* para el trabajo en campo. Una guía estándar de los daños por Ozono en coníferas y frondosas ha sido publicada recientemente (“La contaminación atmosférica en los bosques: Guía para la identificación de daños visibles causados por Ozono” Ministerio de Medio Ambiente, Dirección General de Conservación de la Naturaleza. Serie Técnica).

*Selección de plantas para el LESS:*

- Se han de examinar todos los árboles pequeños (de al menos 2 años), arbustos, y especies de hierbas perennes presentes en el LESS para identificar daños por Ozono o de sintomatología similar, una vez al año y en coincidencia alguna de las visitas que se realizan periódicamente a las parcelas.
- Siempre que sea posible, los árboles pequeños, arbustos, y hierbas perennes con síntomas de Ozono se identificarán de forma permanente para permitir un control de calidad (etiquetar con las 2 primeras letras del nombre del género en Latín y las 2 primeras letras del nombre específico, más un número progresivo para cada planta individual de cada especie).
- Cada planta (árboles diferentes de la especie arbórea principal –MTS-, arbustos y vegetación) se puede seleccionar en la subparcela definida (ver más adelante). En estas plantas, los síntomas se identificarán siguiendo el procedimiento propuesto en la siguiente sección (capítulo 4).

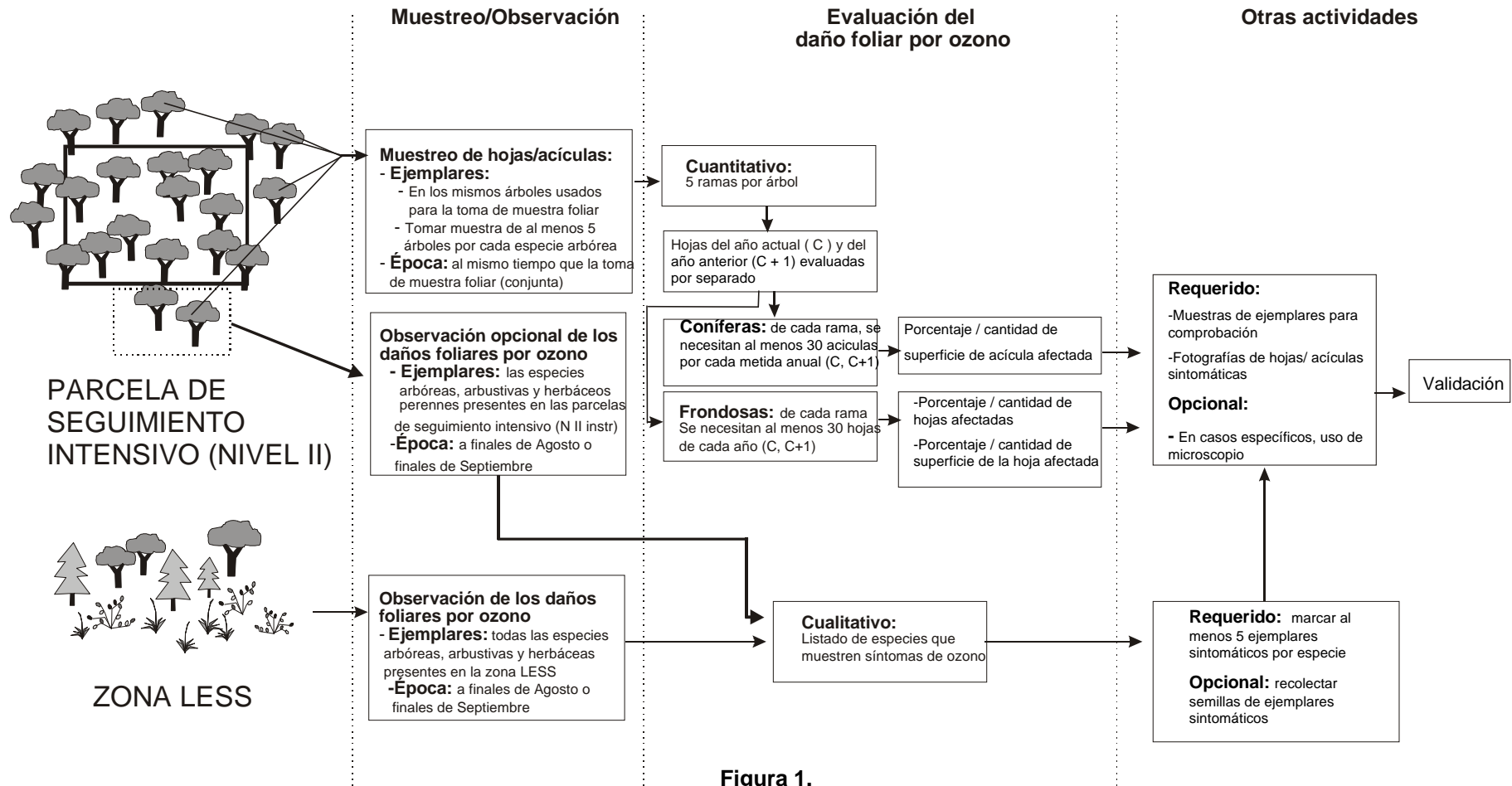


Figura 1.



### 3.3 Periodo de Evaluación.

La identificación y cuantificación de los daños visibles por Ozono en coníferas y frondosas en las Parcelas De seguimiento intensivo se llevarán a cabo durante los periodos recomendados para el análisis foliar.

- En coníferas, MTS, de octubre a febrero (ver manual de análisis foliar)
- En frondosas, MTS, de julio a principio de septiembre, a mitad o final del verano, o ambos si es posible (ver manual para el análisis foliar)

La identificación de daños visibles por Ozono en pequeños árboles, arbustos y plantas perennes dentro del LESS y de la vegetación no arbórea dentro de la Parcela de seguimiento Intensivo (opcional) se llevará a cabo al menos una vez al final del verano (y al principio del verano si es posible).

### 3.4 Pliegos de referencia, colección de fotos y muestras.

La colección de fotos y los pliegos de referencia, ramas/hojas son necesarios y se requieren para la validación de los síntomas de daños visibles observados en el campo por los equipos de evaluación. Esta colección sirve como documentación a nivel nacional.

*Muestras de especies sintomáticas:* Durante la evaluación, se deberán recolectar para cada especie evaluada un pliego de referencia (preferentemente pequeñas ramitas), que deberá incluir para cada especie 2 hojas o ramitas con hojas de plantas sintomáticas y no sintomáticas. Las hojas se prensarán el campo con dos hojas de papel secante y cartón y se harán llegar al Centro Focal Nacional para documentación (ver Fig. 2, se requiere una prensa de campo). El envío se debe hacer preferiblemente al final de cada día de campo, y las muestras mantenerse relativamente frías.

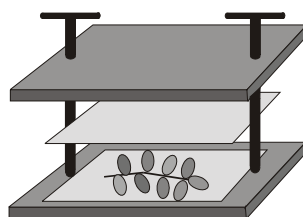


Figura 2. Ejemplo de cómo prensar una hoja.

*Muestras de fotos:* Durante la evaluación, se harán diapositivas de dos hojas con daños visibles por Ozono (preferentemente pequeñas ramas), tanto de la cara superior como de la inferior de las hojas sintomáticas, así como de hojas sanas. Se recomienda enfáticamente que se sigan las siguientes recomendaciones para facilitar el control de calidad y la uniformidad de las fotografías:

- Las fotografías se deberán realizar bajo el sol o usando flash. .
- Una película de fotografía de 200-400 ASA es preferible
- Debería usarse el mismo tipo de película en la misma serie, para todas las fotografías, si es posible (se recomienda usar una barra de referencia en la foto).
- La hoja muestreada debería cubrir al menos  $\frac{3}{4}$  del área final de la foto.
- Evitar sombras.
- Si es posible, se recomienda también tomar fotos con un objetivo macro.
- Las muestras deben ser etiquetados con el nombre en latín, fecha y número de identificación del punto.
- Las fotos se deben enviar al Centro Focal Nacional para evaluación/documentación.

*Recolección opcional de muestras:* Se pueden recolectar semillas de plantas sintomáticas y enviarlas al centro de validación nacional para crear un banco de semillas para futuras validaciones bajo condiciones controladas, de los daños semejantes a Ozono. Las semillas recolectadas se deberán etiquetar con el nombre en latín de la especie, la fecha y el número de identificación del punto. Si los frutos no están maduros en el momento de la evaluación, se recomienda marcar las especies potencialmente apropiadas para la recogida de semillas y recolectarlas posteriormente en el periodo apropiado. Las semillas recolectadas deberían enviarse al Centro de Validación Nacional (CEAM), designado por el SPCAN (Centro Focal Nacional) para su almacenamiento y uso posterior (e.g. control de calidad).

### **3.5 Equipo y material.**

Equipo mínimo para la evaluación de daños visibles por Ozono en el campo:

- Una lupa de mano 10x para un examen en detalle de las hojas de las plantas.
- Fotos de referencia que ayudan a la identificación de síntomas sobre especies reconocidas como sensibles (puede consultarse en la página Web: [www.gva.es/ceam/ICP-forests/](http://www.gva.es/ceam/ICP-forests/))
- Una prensa para guardar las hojas hasta que puedan ser enviadas para la validación de los síntomas.
- Una cámara y carretes para hacer fotos
- Bolsas de plástico para recolectar semillas
- Fichas de campo

Una nevera de suficiente tamaño como para guardar el material las muestras y semillas.

## **4 Identificación de síntomas y puntuación del daño.**

Cuando se puntúan los daños por Ozono en las hojas, se deben seguir las siguientes recomendaciones:

### **4.1 Identificación de síntomas y puntuación del daño. Frondosas.**

Los síntomas semejantes a Ozono se pueden identificar y distinguir de los síntomas causados por otros factores bióticos y abióticos siguiendo las siguientes recomendaciones:

1. Buscar los síntomas de Ozono en hojas maduras que están expuestas al sol.
2. Los síntomas son más severos en hojas de edad mediana y en las hojas más viejas que en las hojas más jóvenes. Las hojas más viejas son las primeras que muestran el daño (efecto de la edad).
3. Las porciones sombreadas de las hojas (e.g. cuando dos hojas se superponen) normalmente no presentan daños (efecto sombra).
4. Los daños por Ozono normalmente no alcanzan la parte inferior de las hojas. Los síntomas visibles están muy probablemente confinados a la cara superior de las hojas, expresándose típicamente como finas manchas púrpura-rojizas, amarillas o negras (punteaduras) o como un enrojecimiento general, que se presenta entre los nervios (internervial), no afectando a éstos. Posteriormente, en la estación de crecimiento, los síntomas foliares pueden progresar a un amarilleamiento de la hoja o a una senescencia prematura, y parece que las hojas severamente punteadas envejecen y se defolian.

Se examinarán los síntomas de Ozono con la ayuda de una lupa de mano y el empleo del diagrama de flujos para la diagnosis de daños producidos por Ozono en frondosas, que se presenta en el Anexo II.:

Una información adicional sobre factores que pueden confundirse se aportará en la página web del Centro de Coordinación ([www.qva.es/ceam/ICP-forests/](http://www.qva.es/ceam/ICP-forests/)).

### **4.2 Identificación de síntomas y puntuación. Especies de coníferas.**

Los síntomas de Ozono y similares a Ozono se pueden reconocer en la en la cara superior de las ramas y acículas de la parte superior de las copas. Para su identificación se siguen siguientes recomendaciones:

1. El moteado clorótico es el más común de de las acículas de coníferas; es el resultado de una exposición crónica. Se puede describir como áreas amarillas o verde claro sin bordes entre las zonas verdes y las amarillas. No todas las acículas de un fascículo estarán afectadas uniformemente.
2. El moteado clorótico aparece frecuentemente solo en acículas más viejas de un año (acículas de 2 años o más viejas). Esto es, parecen aumentar los síntomas al

incrementarse la edad de de las acículas.

3. El moteado puede ser más fuerte en las áreas más expuestas de las acículas que en las más sombreadas.
4. Es más fácil observar el moteado si varias acículas se colocan unas junto a otras.

Examinar los síntomas de Ozono con una lupa de mano como sigue:

- Están los síntomas presentes en las acículas del año corriente +1 y más intensas en las acículas del año corriente +n.
- Es el color del moteado amarillo (o pardo claro).
- Es el tamaño del moteado regular y con bordes difusos.
- Está el moteado distribuido por toda la acícula, y más intensamente en la superficie abaxial o la cara más expuesta al sol de las acículas.

Cuando 3 o más de las respuestas son afirmativas, los síntomas se pueden semejantes a los del Ozono.

Respecto a daños que se pueden confundir, hay que prestar particular atención a los ácaros y a insectos chupadores, cuyos restos se pueden detectar fácilmente usando una lupa de mano. Información adicional acerca de otros factores que pueden causar confusión se aportarán en la página Web.

## 5 Evaluación.

La evaluación será diferente para especies de coníferas y frondosas. Deben usarse los siguientes protocolos:

### 5.1 Coníferas (MTS) en las Parcelas de seguimiento intensivo.

Siguiendo el protocolo de muestreo de hojas, para cada árbol, varias ramitas (5 ramitas tan pequeñas como sea posible, pero teniendo al menos la primera y la segunda medidas de acículas) se cortarán de la parte expuesta al sol de la parte superior de la copa. Si esta parte del árbol no es accesible, se usarán parte de las ramitas recogidas para el análisis foliar. Una vez recolectadas y las diferentes clases de edad claramente definidas, y las acículas de clases de edad diferentes claramente identificadas, las acículas de cada clase de edad (al menos las del año en curso y las del año anterior, otras son opcionales) se han de colocar unas junto a otras (formando una "superficie" de al menos 30 acículas, si están disponibles) y ser examinadas a la luz del sol. El moteado clorótico se valorará para cada clase de edad de las acículas en porcentaje (pasos de 5%), y al porcentaje se le asignará una puntuación correspondiente (clases), en base a la siguiente tabla. Se recomienda especial atención para las acículas del segundo año (C+1).

La puntuación propuesta para cada clase de año en cada ramilla es la siguiente:

Clase	Definición
0	Sin daños
1	1-5% de la superficie afectada
2	6- 25 % de la superficie afectada
3	26-50 % de la superficie afectada
4	51 – 75 % de la superficie afectada
5	Más de 75 % de la superficie afectada

Una simulación generada por ordenador con puntuaciones ideales de daños puede usarse para la evaluación en el campo, como por ejemplo, la que se presenta en el Anexo III.

La puntuación final para las ramas recogidas de cada árbol en la parcela será la clase correspondiente al porcentaje medio para cada clase de año de las acículas (promediando el porcentaje asignado como media de todas las acículas en cada verticilo), mientras que la puntuación final será la clase correspondiente a los porcentajes medios de todos los árboles. La puntuación final se producirá para cada año de acículas; o sea, una especie tendrá una puntuación para las acículas del año en curso, otra para las acículas del 2 años, etc.

## 5.2 Frondosas (MTS y otros) dentro de la Parcela de Seguimiento Intensivo.

Evaluación en la especie arbórea principal (MTS)

Para la Especie Arbórea Principal (MTS), se cortarán del tercio superior de la copa, de su parte expuesta al sol, y a la vez que el muestreo foliar bianual, 4 ramitas (tan pequeñas como sea posible, pero con los años de hojas presentes). Una vez recolectadas han de examinarse a la luz y observar los síntomas semejantes a Ozono.

**Escala de porcentajes para la cantidad de daño por rama recogida:** Estimar y puntuar los porcentajes de hojas de la rama con daños por Ozono en relación con el número total de hojas evaluadas (30 hojas por rama).

Clase	Definición
0	Sin daños, ninguna de las hojas dañadas
1	1%-5% de las hojas muestran síntomas de Ozono o similares
2	6%-25% de las hojas muestran síntomas de Ozono o similares
3	26 %-50% de las hojas muestran síntomas de Ozono o similares
4	51% - 75 % de las hojas muestran síntomas de Ozono o similares
5	Más del 75 % de las hojas muestran síntomas de Ozono o similares

**Escala de porcentajes para la intensidad de daño por rama recogida:** estimar y puntuar la intensidad del daño en las hojas afectadas. A cada hoja se le asignará un porcentaje de daño (en pasos del 5%), y el promedio de las 30 hojas será calculado. Este promedio se transformará en las correspondientes clases para toda la rama, según la tabla siguiente.

Clase	Definición
0	Sin daños
1	1-5% de la superficie afectada
2	6- 25 % de la superficie afectada
3	26-50 % de la superficie afectada
4	51 - 75 % de la superficie afectada
5	Más del 75 % de la superficie afectada

**5.3 Identificación de daños por Ozono y semejantes a Ozono en árboles, arbustos, y hierbas perennes en el LESS y, opcionalmente, en vegetación no arbórea dentro de la Parcela de Seguimiento Intensivo.**

Para otras especies, el objetivo es simplemente detectar daños por Ozono o semejante a Ozono. La especie principal debería también examinarse en el LESS si está presente, porque podría presentar síntomas que no aparecen en formaciones cerradas (a menos que se corten ramas de la parte superior de los árboles). Comprobar si algunas de las especies de la lista preliminar 'List of European Ozone Sensitive Species' está presente en el LESS. Apuntar si tienen síntomas o no. Posteriormente, apuntar las otras especies con daños por Ozono incluidas en la lista.

Indicar las condiciones de las condiciones de humedad del suelo del LESS con tres niveles y la subparcela (opcional) (1, 2 o 3). Si las condiciones varían marcadamente a lo largo del sitio de muestreo, describir esto en la nota y dibujarla en el mapa. Las muestras y las fotos de cada especie con daños se deberían hacer según lo expuesto en la sección 3.4

<b>Clase</b>	<b>Definición</b>
1	Zonas mojadas o húmedas (zonas riparias y zonas mojadas o húmedas a lo largo de un riachuelo, prado o fondo de valle).
2	Moderadamente seco (pastizales o prados, y pendientes orientadas al norte o este).
3	Muy seco (roquedos expuestos)

## **6 Control de Calidad.**

Una guía estándar de los daños por Ozono en coníferas y frondosas ha sido publicada recientemente (“La contaminación atmosférica en los bosques: Guía para la identificación de daños visibles causados por Ozono” Ministerio de Medio Ambiente, Dirección General de Conservación de la Naturaleza. Serie Técnica). Incluye hojas individuales descriptivas (diagnóstico) para muchas especies con síntomas semejantes a Ozono, otros síntomas que pueden causar daños semejantes, e información fenológica relacionada. Toda esta información está disponible en una página Web del centro de Coordinación, con la posibilidad de incluir nuevos datos sobre descripciones de síntomas y verificaciones por parte de los países participantes.

### **6.1 Entrenamiento.**

Los equipos de campo país deberán estar entrenados en la identificación de los síntomas y muestreo. En este sentido, los equipos de campo se formarán por personas que participaran en los cursos de intercalibración, y que han sido probados para el proceso de datos, y por su capacidad de reconocer daños por Ozono y discriminar éstos frente a síntomas semejantes (miméticos).



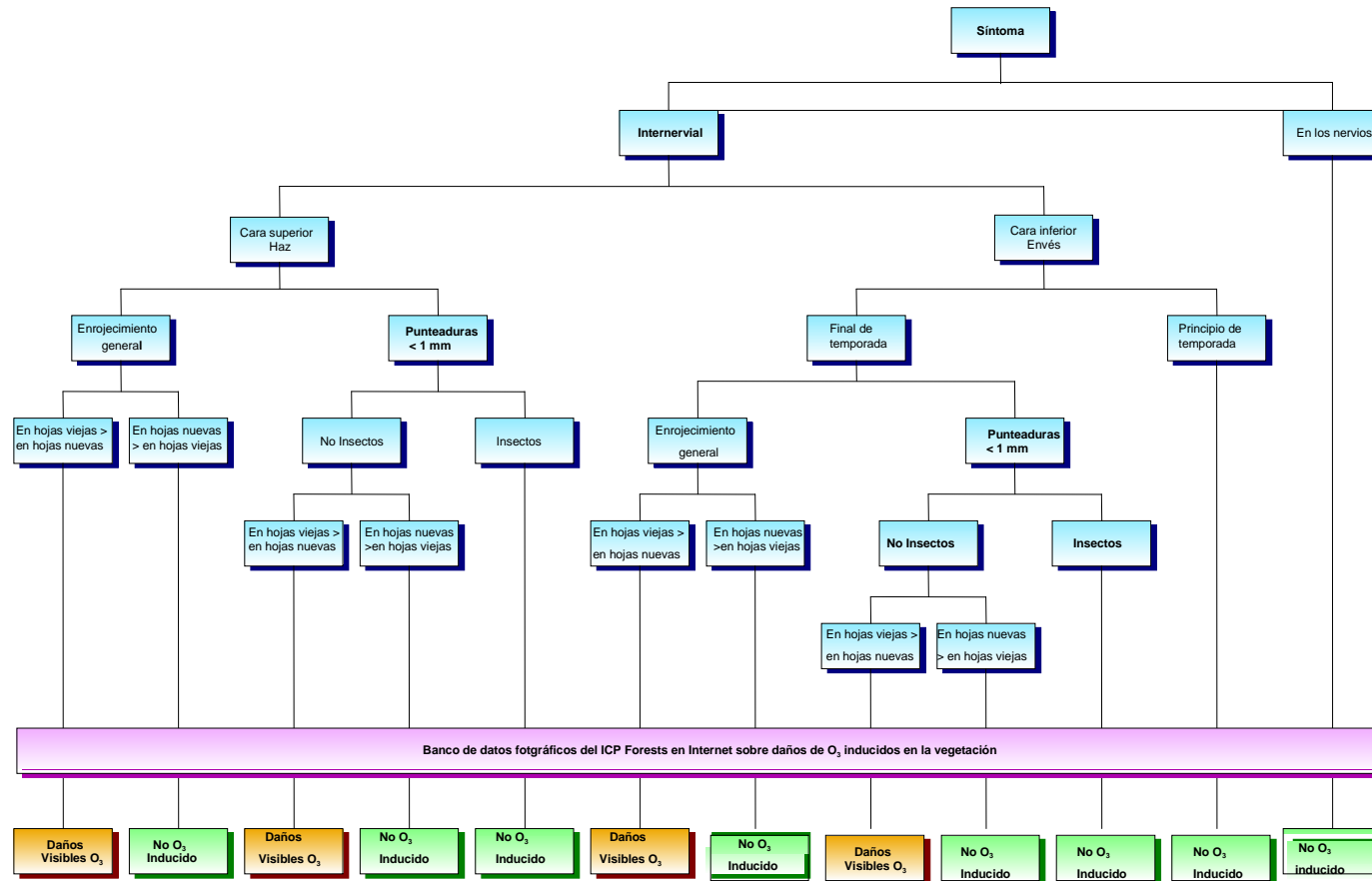
## **7 ANEXO I. Procedimiento de muestreo para análisis microscópico (coníferas).**

Para la recogida de acículas, los responsables del muestreo recibirán tubos conteniendo una solución fijativa apropiada, así como instrucciones para la recogida de las muestras para su análisis en laboratorio. Se cogerán 10 acículas del año en curso (C), del segundo (C+1) y del tercer año (C+2), se cogerán de la parte más expuesta de las ramas. Los tubos se enviarán al SPCAN-DGCN o al CEAM (Centro de Validación Nacional).

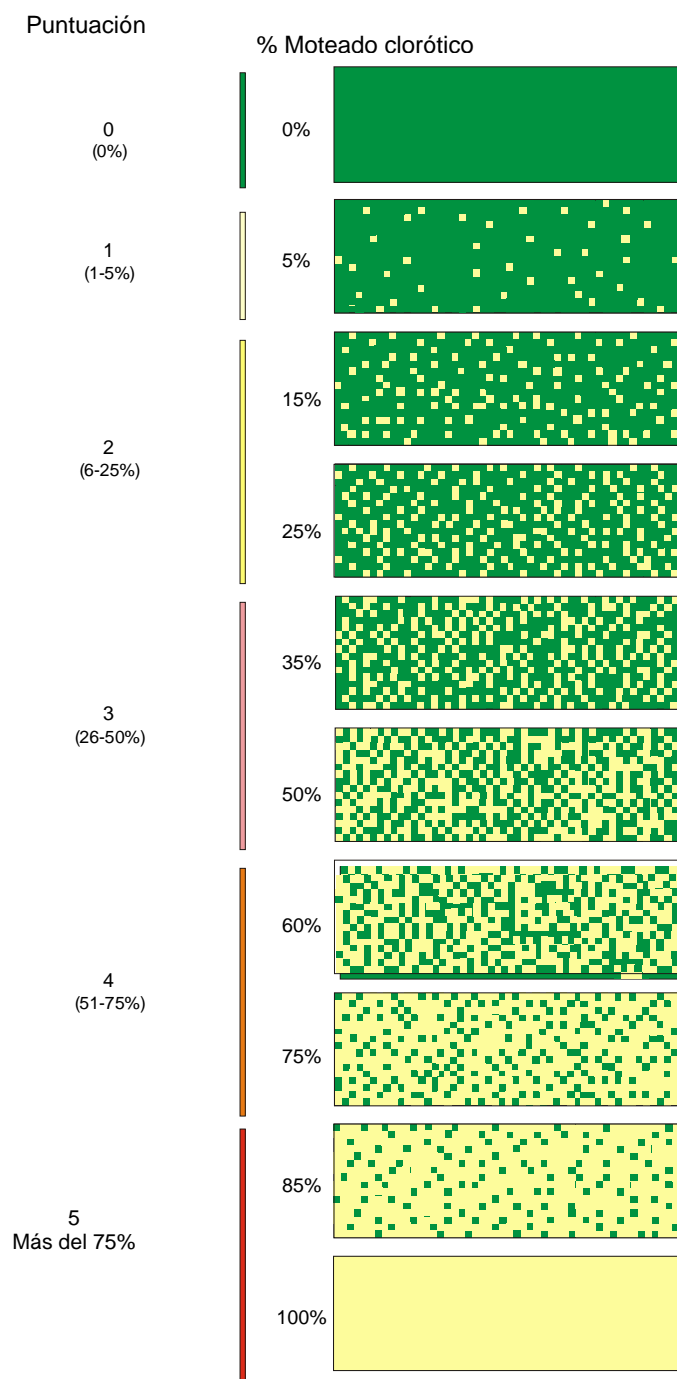
- Equipamiento mínimo para el muestreo de acículas y hojas para su evaluación por microscopía:
  - Cajas aislantes térmicas (aprox. + 7 °C)
  - Tubos con la solución fijadora (en la fase inicial enviadas por el FFRI-Finland)
  - Fichas de campo (ver Anexo IV)
  - Tijeras
  - Guantes de plástico

(Este proceso se llevará a cabo únicamente cuando haya inconsistencias entre los datos de valores de ozono y datos valores de daños).

### 8 ANEXO II. Diagrama de flujos para diagnosis de daños producidos por Ozono en frondosas.



## 9 ANEXO III. Plantilla generada por ordenador para la evaluación de moteado clorótico.



Moteado clorótico representado en amarillo



Ejemplo de ficha relativa a los datos de la parcela rellena:

Formulario SP2002.PLL

**EVALUACIÓN DE DAÑOS POR OZONO**

**FORMULARIO 1. INFORMACION DE LA PARCELA**

Número de orden	País	Parcela	Latitud	Longitud	Altitud	Numeración de la parcela.LESS.GVMS			Orientación	Humedad del suelo	Observaciones
1 - 5	7 - 8	10 - 13	15 - 21	23 - 29	31 - 32	34 - 43			45 - 46	48-49	51-60
00001	11	1234	454545	-012345	3	1234	01	00	S	W	
00002	11	1234	454545	-012346	3	1234	00	01	SE	W	
00003	11	1234	454545	-012347	3	1234	00	02	NE	W	
00004	11	1234	454545	-012348	3	1234	00	03	E	W	
00005	11	1235	464646	+001125	7	1235	01	00	SE	MD	
00006	11	1235	464646	+001126	7	1235	02	00	SW	D	
00007	11	1236	474747	+012349	1	1236	01	00	SW	D	
00008	11	1237	484848	+023460	12	1237	01	00	S	W	
00009	11	1238	494949	+034567	5	1238	01	00	SW	D	



A continuación se relacionan los códigos para completar la ficha:

**Número de la parcela**

**Número del árbol** (idéntico al número empleado en el muestreo para análisis foliar)

**Código de la especie** (código empleado para el muestreo foliar)

**Número de la muestra** (idéntico al número empleado en el muestreo foliar, si es posible)

**Fecha del muestreo** (en DDMMAA)

**Fecha del análisis** (en DDMMAA)

**Porcentaje de hojas sintomáticas** para las hojas/acículas del presente año (C), y para las hojas/acículas del año anterior (C+1) en código.

0=	No hay daño, ninguna de las hojas está dañada
1 =	1% - 5% de las hojas muestran síntomas de ozono
2=	6% - 25% de las hojas muestran síntomas de ozono
3=	26 % - 50% de las hojas muestran síntomas de ozono
4=	51% - 75 % de las hojas muestran síntomas de ozono
5=	Más del 75 % de las hojas muestran síntomas de ozono

**Intensidad del daño** para las hojas /acículas del presente año (C) y las hojas/acículas del año anterior (C+1) en código.

0=	No hay daño presente.
1 =	1- 5% de la superficie se encuentra afectada
2=	6 - 25 % de la superficie se encuentra afectada
3=	26 - 50 % de la superficie se encuentra afectada
4=	51 - 75 % de la superficie se encuentra afectada
5=	Más del 75 % de la superficie se encuentra afectada

**Validados (Y/N)** Los síntomas han sido validados por el centro de validación, reconocidos como daños por ozono

**Tipo de validación:** Los síntomas de ozono han sido validados por el centro de validación basándose en:

L=	Hojas
M=	Microscopio
P=	Fotos
LP=	Hojas y fotos
LM=	Hojas y microscopio
MP=	Microscopio y fotos
LMP=	Hojas, microscopio y fotos

Ejemplo de formulario para la evaluación de daños por Ozono en las principales especies arbóreas relleno:

FORMULARIO 2. PRINCIPALES ESPECIES ARBÓREAS (MTS); CONIFERAS Y FRONDOSAS														
Número de orden	INFORMACION ESTANDAR				INFORMACION DEL MUESTREO		PORCENTAJE DE HOJAS SINTOMÁTICAS		INTENSIDAD DEL DAÑO		VALIDACIÓN DE SÍNTOMAS		OBSERVACIONES	
	Parcela nº	Árbol nº	Código especie	nº muestra	Fecha muestreo	Fecha análisis	C	C+1	C	C+1	Validados (Y/N)	Tipo de validación (L,M,P)	(Ej.:presencia de otros factores bióticos o abióticos)	
1 - 5	7 - 10	12	14 - 16	18 - 19	21 - 30	32 - 41	43 - 45	47 - 49	51	53	55	57-59	61-80	
00001	1234	1	129	1	01/09/01	02/09/01	0	1	0		Y	LM		
00002	1234	1	129	2	01/09/01	02/09/01	0	0	0		Y	LM		
00003	1234	1	129	3	01/09/01	02/09/01	0	2	0		Y	LM		
00004	1234	1	129	4	01/09/01	02/09/01	0	3	0		Y	LM		
00005	1234	1	129	5	01/09/01	02/09/01	0	0	0		Y	LM		
00006	1234	2	129	1	01/09/01	02/09/01	0	0	0		Y	LM		
00007	1234	2	129	2	01/09/01	02/09/01	0	2	0		Y	LM		
00008	1234	2	129	3	01/09/01	02/09/01	1	1	5		Y	LM		
00009	1234	3	129	1	01/09/01	02/09/01	2	0	2		Y	LM		
00010	1234	3	129	2	01/09/01	02/09/01	4	2	2		Y	LM		
00011	1234	3	129	3	01/09/01	02/09/01	1	3	1		Y	LM		
00012	1234	3	129	4	01/09/01	02/09/01	1	0	1		Y	LM		
00013	1234	3	129	5	01/09/01	02/09/01	0	0	0		Y	LM		





A continuación se relacionan los códigos para completar la ficha:

**Número de LESS o GVMS** (número de 10 dígitos; 1234.01.00 or 1234.00.01)

**Fecha del muestreo** (en DDMMAA)

¿Está la especie incluida en la lista de especies sensibles (Y/N)?

Los muestreos deberán llevarse a cabo en: 1) Todas las especies presentes en las zonas LESS o GVMS consignadas como sensibles en la lista de especies sensibles al ozono; éstas deberían ser examinadas en busca de daños por ozono, indicando si muestran síntomas o no. Y 2) Otras especies que no se encuentran en la lista de especies sensibles pero que muestran síntomas parecidos/similares a los producidos por el ozono.

**Código de la especie;** un código de 11(o 14, para las especies nacionales adicionales) dígitos tomado de la Flora Europaea (ver Evaluación de la Vegetación)

¿Muestra la especie síntomas de ozono (Y/N)?

¿Plantas individuales sensibles marcadas (Y/N)?

**Número de plantas individuales marcadas** (hasta 99)

**Hojas recolectadas** (Y/N)

Cuando se recolecten las hojas para enviarse a los centros de validación, cada muestra deberá ser etiquetada con un único código: el número del LESS o GVMS + código del ejemplar + secuencia (indicar la codificación en observaciones)

¿Hay plantas adecuadas para la recolección de semillas (Y/N)?

**Semillas recolectadas** (Y/N)

Cuando se recolecten las semillas para enviarse a los centros de validación, cada muestra deberá ser etiquetada con un único código: el número del LESS o GVMS + código del ejemplar + secuencia (indicar la codificación en observaciones)

**Validados** (Y/N)

Los síntomas han sido validados por el centro de validación, reconocidos como daños por ozono

**Tipo de validación**

Los síntomas de ozono han sido validados por el centro de validación basándose en:

L=	Hojas
M=	Microscopio
P=	Fotos
LP=	Hojas y fotos
LM=	Hojas y microscopio
MP=	Microscopio y fotos
LMP=	Hojas, microscopio y fotos

Ejemplo de formulario relleno:

FormularioSP2002.LSS

EVALUACIÓN DE DAÑOS POR OZONO

FORMULARIO 3. Zona de muestreo expuesta a la luz (LESS) y zona de seguimiento de la vegetación sub - arbórea (GVMS)

Número de orden	INFORMACIÓN ESTANDAR Número de LESS o GVMS	INFORMACIÓN MUESTREO Fecha	INFORMACIÓN SOBRE LAS ESPECIES					RECOLECCIÓN DE HOJAS	RECOLECCIÓN DE SEMILLAS		VALIDACIÓN DE SÍNTOMAS		OBSERVACIONES  (Ej.: notas sobre la abundancia de plantas individuales de cada especie afectadas por síntomas de ozono, intensidad de los síntomas y presencia de otros factores bióticos o abióticos)
			¿Esta la especie incluida en la lista de especies sensibles (Y/N)?	Código de la especie	¿Muestra la especie síntomas de ozono (Y/N)?	¿Plantas individuales sensibles marcadas (Y/N)?	Número de plantas individuales marcadas	Hojas recolectadas (Y/N)	¿Hay plantas adecuadas para la recolección de semillas?	Semillas recolectadas (Y/N)	Validados (Y/N)	Tipo de validación (P,S,M)	
1 - 5	7 - 16	18 - 27	29 - 29	31 - 44	46	48	50 - 51	53	55 - 64	66	68	70-72	74-93
1	1234.01.00	01/09/01	Y	123.123.122	Y	Y	5	Y	Y	Y	Y	M	Hojas:1234.01.00-RedBush-02; Semillas: 1234.01.00-RedBush-03
2	1234.01.00	01/09/01	Y	123.123.123	N	N	0	N	N	N	N		
3	1234.01.00	01/09/01	Y	123.123.124	N	N	0	N	N	N	N		
4	1234.01.00	01/09/01	Y	123.123.125	N	N	0	N	N	N	N		
5	1234.01.00	01/09/01	Y	123.123.126	Y	N	0	N	N	N	Y	LMP	
6	1234.01.00	01/09/01	Y	123.123.127	N	N	0	N	N	N	N		
7	1234.01.00	01/09/01	Y	123.123.128	N	N	0	N	N	N	N		
8	1234.01.00	01/09/01	N	123.123.129	Y	N	0	N	N	N	Y	L	
9	1234.01.00	01/09/01	N	123.123.130	Y	Y	7	Y	Y	Y	Y	L	Hojas:1234.01.00-Blueberr-05; Semillas: 1234.01.00-Blueberr-09
10	1234.01.00	01/09/01	N		Y	Y	5	N	N	N	N		
11	1234.01.00	01/09/01	N		Y	Y	5	N	N	N	N		
12	1234.01.00	01/09/01	N		Y	Y	5	Y	Y	N	Y	MP	
13	1234.01.00	01/09/01	Y		Y	Y	5	Y	Y	N	Y	P	Hojas:1234.01.00-PrunSpin-01
14	1234.01.00	01/09/01	N		Y	Y	8	N	N	N	Y	P	
15	1234.02.00	01/09/01	N		Y	Y	5	N	N	N	Y	LP	
16	1234.02.00	01/09/01	N		Y	Y	5	N	Y	Y	Y	P	Semillas: 1234.02.00-RubFruct-18
17	1234.02.00	01/09/01	N										
18	1234.02.00	01/09/01	N										
19	1234.02.00	01/09/01	N										
20	1234.02.00	01/09/01	N										
21	1234.00.01	01/09/01	Y		Y	N			N		Y	M	
22	1234.00.01	01/09/01	N										
23	1234.00.01	01/09/01	N										
24	1234.00.01	01/09/01	N										