



ECOLOGÍA

# Estudio sobre el impacto del ozono en la agricultura

S. Del Valle, E. Barreno,  
A. Calatayud, J.L. Carrasco,  
J.W. Ramírez \*  
E. Aleixandre\*\*

DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA VEGETAL.  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS\*

ESTACIÓN EXPERIMENTAL AGRARIA. CARCAIXENT\*\*



**E**l daño producido por el ozono de la troposfera (parte más baja de la atmósfera) a la vegetación se conoce desde la década de los años 30, pero solamente a partir de los años 70 es cuando ha tomado importancia sus efectos en Europa y en la Cuenca Mediterránea, donde los niveles de  $O_3$  en las estaciones de primavera-verano superan los permitidos por la legislación Europea. El daño por ozono afecta a los cultivos agrícolas en un amplio rango de efectos que en última instancia pueden afectar a la producción agrícola. Por este motivo, la Conselleria de Agricultura, Pesca y Alimentación sensibilizada con esta problemática subvenciona desde 1997 dos proyectos de investigación realizados desde la Universitat de Valencia-Facultad de Ciencias Biológicas para estudiar los efectos del ozono en los cultivos agrícolas bajo una perspectiva fisiológica y bioquímica.

## 1. INTRODUCCIÓN

Desde el inicio de la revolución industrial, la implantación de grandes industrias, así como el aumento del tráfico rodado ha traído consigo importantes impactos ambientales con repercusión tanto en zonas industriales como rurales. En la actualidad, el problema de la contaminación atmosférica es global.

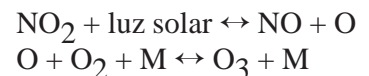
La concentración de ozono ( $O_3$ ) troposférico ha aumentado rápidamente desde los años 50 hasta la actualidad (Altshuller, 1986). El  $O_3$  troposférico es un contaminante secundario cuya formación es debida tanto a fuentes naturales como de la actividad humana. Las fuentes naturales son:

a) Formación durante las tormentas por las descargas eléctricas.

b) Intrusiones naturales del ozono desde la estratosfera.

Su contribución al aumento de la concentración de  $O_3$  en el sistema troposférico es mucho menos importante que las debidas a las actividades humanas (Colbeck & Mackenzie, 1994).

La emisión de hidrocarburos volátiles y óxidos de nitrógeno constituyen los compuestos claves a partir de los cuales se genera el ozono en la troposfera. La producción de ozono se debe, de modo simplificado, a una reacción que implica un equilibrio entre el  $NO_2$  y el  $NO$  (Seinfeld, 1989) según la reacción:



Estas reacciones, predicen de manera aproximada los cambios diarios en las concentraciones de  $O_3$ , aunque pueden desplazarse en uno u otro sentido por la presencia en la atmósfera de restos de hidrocarburos y radicales libres (Atkinson, 1990).

El ozono, o sus precursores, pueden ser transportados por los vientos dominantes desde su origen en las zonas industriales hasta zonas rurales que pueden estar cientos de kilómetros de los focos de emisión.

Existe una gran variabilidad en cuanto a la permanencia del ozono en la troposfera. Ésta depende de:

a) Concentración de precursores del ozono.

b) Variables climáticas (radiación solar, temperatura, etc.).

c) Velocidad de eliminación del O<sub>3</sub> en la zona, es decir, dinámica atmosférica.

d) Altitud.

Las primeras observaciones de fitotoxicidad por ozono en España en cultivos agrícolas se producen en 1987 sobre sandía de la variedad Toro en la finca Migjorn en el Delta del Ebro (Tarragona).

En 1988, se iniciaron los estudios tendentes a tipificar los efectos de fotooxidantes en el Delta del Ebro, utilizándose para ello cámaras abiertas (Open Top Chambers, OTCs) en las que se cultivaron sandías y judías en distintas condiciones de concentraciones de ozono. Las conclusiones fueron que, además de los daños visibles (Reinert *et al.*, 1992) existían diferencias significativas en el número total de frutos producidos y el contenido de sólidos solubles, entre las cámaras con aire filtrado (libre de contaminantes atmosféricos) y las del aire ambiental en detrimento de éstas últimas (Gimeno *et al.*, 1993; 1994).

Aunque las distintas especies, y dentro de éstas las variedades, tienen resistencias distintas frente al ozono, en general se considera que a partir de 33ppb (65 mg/m<sup>3</sup>) como media en 24 horas, empiezan a aparecer daños significativos en la vegetación, (directiva 92/72 de la Comunidad Europea, Consejo de 21 de Septiembre de 1992). En este sentido hay que recalcar que en el Sureste Peninsular hay zonas en las que las medias diarias durante los meses de primavera y verano sobrepasan las permitidas por la legislación.

Desde 1997 se vienen tomando muestras de la calidad del aire en las instalaciones de la Estación Experimental Agraria de Carcaixent

(Conselleria de Agricultura, Pesca y Alimentación), donde los niveles de ozono durante las estaciones de primavera-verano sobrepasan los límites permitidos por la legislación, alcanzando picos de 180 mg/m<sup>3</sup> durante las horas centrales del día, estas elevadas concentraciones repercuten en las respuestas fisiológicas de los cultivos agrícolas. Con el fin de poder evaluar los efectos del ozono sobre los cultivos, la Estación Experimental Agraria de Carcaixent dispone de 9 cámaras descubiertas (OTC's) con tres calidades de aire, 3 cámaras con aire filtrado (libre de ozono), 3 cámaras con aire sin filtrar (aire ambiente) y 3 cámaras en las que se inyecta ozono a la corriente de aire ambiente. Estas instalaciones permiten evaluar el impacto del ozono en los cultivos de interés agrícola.

### 1.1. Daños por ozono en las plantas

Los efectos del ozono sobre la vegetación pueden ser observados

tanto en el funcionamiento de las células, alteraciones en tejidos, órganos, o manifestarse en un deterioro general de toda planta e incluso en un declive de las poblaciones, comunidades o ecosistemas (agrícolas, forestales, etc.).

Los episodios agudos de exposición a ozono, concentraciones elevadas (superiores a 65 mg/m<sup>3</sup>) durante pocas horas, pueden producir daños visibles en las hojas. Estos síntomas se manifiestan en clorosis, moteado (manchas plateadas) y necrosis (Krupa & Manning, 1988) (Fotos A y B). Por otra parte, los efectos crónicos conducen a disminuciones en el crecimiento, productividad y calidad del material vegetal.

El ozono es absorbido principalmente por los estomas, una vez en el interior de la célula reacciona inmediatamente con los componentes celulares y su concentración disminuye. No obstante, los productos en los que se descompone el O<sub>3</sub>, principalmente radicales libres, son tan tóxicos como la propia molécula de ozono.

Las concentraciones ambien-



Foto A. Hoja de sandía sin síntomas visibles.

les de ozono, afectan de manera particular al aparato fotosintético, incluso antes de que se manifiesten los síntomas visibles. Las evidencias fisiológicas del daño por O<sub>3</sub> se traducen en una reducción en la absorción del CO<sub>2</sub> asociado a una disminución de la conductividad estomática y de la capacidad de fijar CO<sub>2</sub> por las células del mesófilo foliar (Ciompi *et al.*, 1997).

Los lugares en que se producen las acciones del ozono sobre las células son múltiples. Así, se han detectado cambios en la permeabilidad celular debido a procesos de peroxidación de lípidos y ozonólisis, ambos como consecuencia de reacciones del ozono con los lípidos de membrana que generan especies de oxígeno altamente reactivas que destruyen la estructura de las membranas (Robinson & Wellburn, 1983).

El ozono también induce senescencia foliar prematura en especies anuales y perennes (Stow *et al.*, 1992; Temple *et al.*, 1993) y una disminución del contenido de nitrógeno foliar que es desviado desde las hojas viejas hasta las jóvenes asociado a una pérdida de actividad y/o concentración del enzima RuBisCO (Pell *et al.* 1992, 1994), así como modificaciones en el cociente tallo/raíz, que tiende a aumentar tras las fumigaciones con ozono, debido a una traslocación de elementos minerales, sobre todo carbono y nitrógeno desde la raíz hasta las partes aéreas de la planta, ahí donde son más necesarios (Pell *et al.*, 1994).

La exposición al ozono afecta a la actividad de los sistemas antioxidantes tanto enzimáticos (ascorbato peroxidasa, glutatión reductasa, superóxido dismutasa, etc.) como no enzimáticos (ascorbato,



Foto B. Hoja de Sandía con manchas plateadas.

glutacion, a-tocoferol, etc.). Todas las alteraciones fisiológicas repercuten, en última instancia, en una menor productividad y, por lo tanto, en pérdidas ecológicas y económicas.

## 2. INSTALACIONES

En la Estación Experimental Agraria de Carcaixent existen dos tipos de instalaciones:

2.1. Las cámaras abiertas, que nos permiten controlar la calidad del aire que reciben los cultivos.

2.2 Un sistema de adquisición y almacenamiento de datos de los contaminantes atmosféricos y variables climáticas (Foto C).

### 2.1. Cámaras abiertas

La instalación consta de un total de 12 cámaras (2.5m de altura y 3m de diámetro) distribuidas en un recinto de 18x27 m. que permite analizar la evolución de diferentes especies vegetales cultivadas en macetas. Estas cámaras están dis-

tribuidas según el diseño experimental de bloques al azar, para evitar la influencia de factores correspondientes a la instalación (efecto de muros, sombras, etc.).

En el campo experimental existen 4 tipos diferentes de cámaras abiertas:

a) Aire Ambiente (AA). Son las parcelas control que no tienen ni plástico ni estructura metálica.

b) Aire no filtrado (NF). Cámaras con plástico en las que se inyecta aire ambiente.

c) Aire filtrado (CF). Al aire ambiental se elimina el ozono mediante su paso por filtros de carbón activo antes de ser inyectado en el interior de las cámaras.

d) Aire fumigado (O<sub>3</sub>). Son cámaras en las que se inyecta una concentración conocida de ozono al aire ambiente. Las concentraciones se modifican según la época del año y el tipo de experimento a realizar.

Estas cámaras están diseñadas siguiendo las directrices de la National Crop Loss Assessment Network (NCLAN, USA), de manera que los resultados obtenidos pue-



Foto C. Estación medidora de Carcaixent.

den compararse con otros estudios que utilicen esta técnica.

Las cámaras cuentan con elementos estructurales comunes (estructura, base y plásticos) excepto las cámaras ambientales que solo cuentan con la base. La estructura que soporta el plástico es de hierro galvanizado, con una puerta que permite el acceso al interior de la cámara.

El plástico que envuelve la estructura esta formada por dos pie-

zas con diseño diferente. La parte inferior dispone de una doble capa de plástico. La capa externa está conectada con el ventilador que inyecta el aire en el interior de las cámaras. (Foto D).

Estos ventiladores están protegidos por una carcasa metálica en cuyo interior se colocan unos filtros para la eliminación de partículas. Además permite la colocación de filtros de carbón para eliminar el ozono ambiental en las cámaras CF.

Existen otras cámaras con una entrada especial para la fumigación con ozono u otros gases situada antes del difusor del aire. La fumigación con ozono es complicada ya que el ozono se genera mediante descargas eléctricas en aire enriquecido con oxígeno.

## 2.2. Sistema de adquisición de datos

El sistema de adquisición de muestras del aire funciona en continuo las 24 horas del día y de manera totalmente automatizada. Se realizan tomas de muestras en el interior de las cámaras y en las cámaras ambientales (AA) de manera secuencial, determinándose las concentraciones de óxidos de nitrógeno (NO<sub>x</sub>), dióxido de azufre (SO<sub>2</sub>) y ozono (O<sub>3</sub>). Las muestras se toman en el centro de la cámara a una distancia del suelo de 1 metro, considerada la distancia óptima a causa del tamaño de las macetas. El muestreo es continuo pero se realizan promedios horarios debido al ciclo de medida de las concentraciones de contaminantes en el interior de las cámaras. El aire se canaliza a través de conductos de teflón subterráneos hasta los analizadores mediante la succión de una bomba.

Los analizadores automáticos miden:

–las concentraciones de ozono por absorción ultravioleta.

---

*El aire se canaliza a través de conductos de teflón subterráneos*

---

–las concentraciones de NOx por quimioluminiscencia.

–las concentraciones de SO<sub>2</sub> por fluorescencia ultravioleta.

Estos analizadores son sometidos a controles semanales y calibraciones trimestrales por una empresa especializada (BSG Ingenieros) para su correcto funcionamiento. De forma paralela, un sistema autónomo registra en continuo dentro de las cámaras abiertas las siguientes variables climatológicas: temperatura y humedad relativa del aire y la radiación fotosintética activa.

El tercer sistema de adquisición de datos corresponde a los datos climatológicos. Existe una torre climatológica que mide los parámetros de las siguientes variables: presión barométrica, humedad relativa del aire y temperatura, radiación solar, velocidad y dirección del viento y un pluviómetro. Los datos obtenidos por este sistema son quinceminutales.

Un sistema autónomo de gestión y almacenamiento de datos nos permite disponer de todas las variables necesarias para el estudio de la dinámica del ozono y su posible relación con las variables climatológicas.

### 3. PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN

#### PROYECTO: ESTUDIO DE LOS EFECTOS FISIOLÓGICOS DE LOS CONTAMINANTES ATMOSFÉRICOS SOBRE LOS CULTIVOS AGRÍCOLAS.

La Conselleria de Agricultura, Pesca y Alimentación ha concedido a la Universitat de Valencia dos proyectos de investigación, el primero desde 1997-1999 y el se-



Foto D. Cámara abierta completada su instalación.

gundo, vigente actualmente desde el 2000-2003 para estudiar los efectos del O<sub>3</sub> sobre los cultivos agrícolas. La dirección de ambos proyectos corresponde a la Dra. Eva Barreno Rodríguez, Catedrática de Biología Vegetal de la Universitat de Valencia y como investigadora la Dra. Angeles Calatayud. Las directrices fundamentales de estos proyectos están encaminadas a la investigación de ciertos mecanismos fisiológicos que se ven alterados en los cultivos tras la exposición al ozono; y si existen tratamientos que permitan paliar dichos efectos. Desde 1997 se han venido testando diferentes especies y variedades de plantas en sus reacciones frente al O<sub>3</sub>, para ello nos hemos valido de diferentes técnicas como son: 1. fluorescencia modulada de la clorofila *a*, que permite de un modo no intrusivo testar el estado del fotosistema II; 2. medida de la fotosíntesis neta, conductancia estomática, transpiración y concentración de carbono interno, como parámetros imprescindibles para conocer la capacidad para realizar la fotosíntesis; 3.

medidas de las actividades enzimáticas antioxidantes y concentraciones de ascorbato y glutatión, como indicadores de la respuesta al estrés oxidativo; 4. medida de la peroxidación de lípidos, relacionada con los daños que el O<sub>3</sub> produce en los lípidos de las membranas celulares; 5. efecto sobre el peso de los frutos y daños visibles en las hojas, entre otras técnicas.

Estas investigaciones se han llevado a cabo mediante los siguientes experimentos:

1) Estudio de los efectos de las altas intensidades luminosas y el ozono en las variedades de sandía: Toro y Reina de Corazones.

2) Efecto de la adición del antioxidante ZINEB en los cultivos de tomate var. Claudia y Maresme.

3) Estudio del efecto del O<sub>3</sub> en la patata var. Obelix.

4) Efecto de la adición de BENO-MILO sobre el cultivo de tomate var. Tiny Tim.

5) Efecto del ozono sobre lechuga var. Candele R7.

6) Efecto del ozono sobre dos variedades de espinacas Avanti y Clermont.

---

**Muchos de estos trabajos han sido publicados en revistas (*Biologia Plantarum, Photosynthetica, Environmental Pollution, Environmental Science & Thecnology, Phytoma, Analytical Biochemistry, etc.*) y se han presentado comunicaciones a diversos congresos. Actualmente se encuentra en realización una Tesis Doctoral presentada por Jaime W. Ramírez.**

---

7) Efecto de la interacción entre el ozono y el abonado con nitrógeno en sandía de la var. Reina de Corazones.

8) Efecto del ozono sobre plántulas de lechuga, en las variedades Valladolid, Del Prat, Ordra y Maravilla verde.

9) Efecto del ozono sobre plántulas de coles, en las variedades Sentinel, Othelo y Caramba.

Muchos de estos trabajos han sido publicados en revistas (*Biologia Plantarum, Photosynthetica, Environmental Pollution, Environmental Science & Thecnology,*

*Phytoma, Analytical Biochemistry, etc.*) y se han presentado comunicaciones a diversos congresos. Actualmente se encuentra en realización una Tesis Doctoral presentada por Jaime W. Ramírez.

Las perspectivas futuras de este equipo de investigación son seguir profundizando en el estudio ya iniciado, ampliando técnicas que permitan una comprensión más interrelacionada con los medios y tratamientos de los cultivos “in situ” frente a los efectos del ozono, testar la sensibilidad al ozono de otras variedades de interés y ante todo poder prestar un servicio de información para la toma de decisiones de la Conselleria d'Agricultura, Peixca i Alimentació.

#### **PROYECTO: IMPACTO DEL OZONO AMBIENTAL EN LOS CULTIVOS AGRÍCOLAS EN LA ZONA DE CARCAIXENT**

Este Proyecto de Investigación está financiado por Conselleria de Agricultura, Pesca y Alimentación de la Generalitat Valenciana y está dirigido por el Catedrático del Departamento de Biología Vegetal de la Universitat de València, Dr. Secundino del Valle Tascón, y como investigador el Dr. Jose Luis Carrasco Rodríguez.

Los objetivos que se han planteado en este Proyecto de Investigación están relacionados con el estudio de la relación entre el ozono ( $O_3$ ) y la disminución del rendimiento agrícola en diferentes especies de interés económico en la Comunitat Valenciana. Estos objetivos se han dividido en 3 secciones: contaminación ambiental, fotosíntesis y rendimiento agrícola.

El primer apartado de la contaminación ambiental incluye el aná-

lisis y estudio de inmisiones de los diferentes contaminantes, evolución de las variables climáticas, predicción (a largo plazo de los índices de exposición y otros estadísticos) y la elaboración de posibles modelos teóricos (dependencia de la concentración de  $O_3$  de los valores de los otros contaminantes y variables climáticas). El desarrollo de estos objetivos permitirá un mejor conocimiento de las inmisiones de  $O_3$ , los factores ambientales que determinan su concentración en la estación de Carcaixent y por ello de gran utilidad para el desarrollo de estrategias de predicción de los niveles de contaminación del  $O_3$  antes de seleccionar los cultivos.

El segundo apartado de la fotosíntesis incluye el estudio de los procesos biofísicos (fotoinhibición, respuesta de los diferentes parámetros fotosintéticos a las condiciones ambientales) y bioquímicos (clorofilas, metabolitos y actividades enzimáticas). La consecución de estos objetivos permitirá mejorar el conocimiento del mecanismo de acción del  $O_3$  en la pérdida de actividad fotosintética y la posibilidad de aplicar esta información a la selección de variedades más resistentes a este contaminante.

Finalmente, el tercer apartado está centrado en el estudio de los síntomas visibles atribuidos al  $O_3$  durante las diferentes fases del desarrollo biológico de los cultivos y a la disminución del rendimiento agrícola, realizado en cámaras abiertas o en condiciones ambientales. La consecución de estos objetivos permitirá establecer el alcance de la reducción del rendimiento agrícola que sufren estas especies en la Comunidad Valenciana producidos por este contaminante atmosférico.