

EL EFECTO COMBINADO DEL OZONO TROPOSFÉRICO Y LA SEQUÍA EN LA FISIOLOGÍA DE *Pinus halepensis* Mill.

R.INCLÁN, R. ALONSO, M.PUJADAS, J.TERÉS Y B.S. GIMENO*

* CIEMAT, AVDA. COMPLUTENSE 22, 28040 MADRID

RESUMEN

Plantones de pino carrasco de 2 años de edad, se expusieron durante 20 meses a concentraciones de ozono (O_3) por encima del ambiente o aire filtrado en cámaras descubiertas. Posteriormente, las plantas del tratamiento bien regado (BR) se regaron según sus requerimientos y en el tratamiento estresado (ES) se suprimió el riego durante 11 días, regándose acto seguido ambos tratamientos a capacidad de campo. Se estudió la variación diaria de las tasas de intercambio gaseoso de los plantones de pino de Alepo de los distintos tratamientos durante y después del estrés hídrico. La exposición a ozono y a un estrés hídrico moderado inducen una reducción similar de las tasas de intercambio gaseoso. Se observa una respuesta antagonista modulada por la intensidad del estrés hídrico. Dos días después de restablecer el riego se aprecia una recuperación parcial del estrés hídrico, los pinos que no se habían expuesto a ozono parece que tienen una mejor recuperación.

P.C.: Ozono, *Pinus halepensis*, Sequía, Intercambio gaseoso, Cámaras descubiertas.

SUMMARY

Two-year old Aleppo pine seedlings were exposed over twenty months in open-top chambers to either above-ambient ozone (O_3) concentrations or charcoal-filtered air. Subsequently, water was applied following plant requirements in the well watered treatment (WW), while it was withheld for 11 days in the water-stressed seedlings (WS). Then, the seedlings of both water treatments were irrigated to field capacity. The daily variation in gas exchange rates of Aleppo pines seedlings from the different treatments were studied during and after water stress. Ozone exposure and a moderate water shortage induced similar reductions in the gas exchange rates. An antagonistic response modulated by the severity of water stress followed the combined exposure to both O_3 and water stress; a partial recovery from water stress was observed two days after rewatering to field capacity, while the seedlings that were not exposed to O_3 showed a faster recovery.

K.W.: Ozone, *Pinus halepensis*, drought, gas exchange, Open Top Chambers

INTRODUCCIÓN

El ozono troposférico (O_3) es un oxidante fotoquímico que puede inducir daños en un amplio número de especies vegetales. Se han medido niveles elevados de O_3 en el este de la península ibérica (Gimeno *et al.*, 1996). En masas forestales de pino de Alepo del levante español se ha observado el típico moteado clorótico inducido por O_3 (Velissariou *et al.*, 1996). El O_3 provoca una disminución de la conductancia estomática (g_s), la tasa de asimilación al CO_2 (A) además de los niveles de clorofilas, fósforo y nitrógeno en las acículas (Elvira *et al.*, 1995).

La sequía puede influir en el grado de toxicidad del ozono. El pino carrasco del levante peninsular puede estar sometido a ambos estreses -ozono y sequía- que pueden alterar la fisiología de esta especie lo cual puede tener importantes consecuencias ecológicas..

Este artículo, presenta los resultados de un experimento realizado en un campo de cámaras descubiertas (CD), para medir el efecto del ozono y el estrés hídrico, de modo individual y en combinación en el comportamiento del pino carrasco.

MATERIAL Y MÉTODOS

El experimento se realizó en un campo experimental de CD (Cámaras descubiertas) situado al NE de la Península Ibérica (40° 41.5' N; 0° 48' E). Se utilizaron 6 CD similares a las descritas por Heagle *et al.* (1979). Se definieron 2 tratamientos de ozono: aire filtrado por carbón activo (AF) y aire fumigado (FU). A los niveles ambientales de ozono se le sumaron 40 ppb desde las 08:00 hasta las 18:00 horas, durante 5 días a la semana en el último tratamiento.

Durante 20 meses, se expusieron plantones de pino carrasco de 2 años, a los diferentes tratamientos de O₃, utilizando 3 replicas de CD por tratamiento. En Mayo de 1995, se establecieron 2 tratamientos de agua diferentes, regándose las plantas según necesidades en el tratamiento bien regado (BR), mientras que en el tratamiento estresado (ES) se suministraba la mitad de agua que en el BR.

Cuando los pinos ES ya habían pasado un periodo de preadaptación al estrés hídrico de 10 semanas se les suprimió el riego durante 11 días (desde el 14 al 25 de julio de 1995), regándose las plantas BR a capacidad de campo diariamente durante el mismo periodo. El día 25 de julio por la tarde se regaron los pinos de ambos tratamientos de agua a capacidad de campo.

Los niveles ambientales de O₃, SO₂ y NO_x se midieron utilizando monitores automáticos según se describe en Pujadas *et al.*, 1997. Se midió la variación diaria de la conductancia estomática al vapor de agua (g_s) y tasa de asimilación al CO₂ (A) en acículas previas durante y después del tratamiento de estrés. A y g_s se determinaron utilizando un LI-COR 6200 (LI-COR Inc, USA). Las diferencias debidas al tratamiento de agua y ozono se analizaron utilizando un ANOVA de dos vías, seguido de un test LSD.

RESULTADOS

Cuatro días después de suprimir el riego (Figura 1), no se observa ninguna diferencia significativa inducida por el tratamiento de agua en los valores de A y g_s. Los valores más altos de A se alcanzan durante la mañana en ambos tratamientos de agua, disminuyendo durante el mediodía. Se observa una recuperación significativa de los valores de A (p<0.001) durante la tarde en los plantones AF si se compara con los FU. Un patrón diario similar al observado para A se repite en los valores de g_s, independiente del tratamiento de O₃ o agua; la exposición a O₃ no indujo ninguna respuesta en g_s.

Tres días después (Figura 1), se observa una variación diaria en los niveles de A y g_s en ambos tratamientos de agua. La exposición a O₃ determina una reducción del 23% en el valor máximo diario de A (A_{md}), mientras el estrés hídrico induce una reducción de un 50% de este valor. Los plantones AFBR muestran el valor máximo de A_{md} seguido por los valores de A_{md} de las plantas FUBR, los FUES y los AFES. De forma similar, la exposición a O₃ induce una reducción de 22% en los valores máximos diarios de g (g_{md}), mientras el estrés hídrico induce una reducción del 16% de este valor.

Once días después de suprimido el riego (Figura 1), los pinos BR muestran variaciones diarias en los niveles de A similares a las que se habían observado 4 días antes. Se observan niveles muy bajos de A a lo largo del día en las plantas ES. La exposición a O_3 induce una reducción significativa (19%, $p < 0.05$) en A_{md} , mientras que el estrés hídrico determina una reducción del 76% de este valor ($p < 0.01$). El máximo valor de A_{md} se alcanzó en los plantones AFBR, seguido por FUBR y las plantas del tratamiento de estrés hídrico. De modo similar, se observaron variaciones diarias en los valores de g_s . El estrés hídrico, induce una reducción del 37% en g_{md} , no determinándose efectos significativos debidos al O_3 o a la interacción O_3 -estrés hídrico.

Once días después de suprimido el riego, se regaron tanto los pinos BR como los ES. Dos días después (Figura 1), se observó una recuperación parcial en los niveles de A y g_s en los pinos ES. Tanto el O_3 como el estrés hídrico inducen una reducción significativa ($p < 0.01$) de A_{md} de un 42% y un 72% respectivamente. Se detectó una interacción O_3 -estrés hídrico ($p < 0.05$); el valor más alto de A_{md} corresponde a los pinos del tratamiento AFBR seguido por el FUBR y AFES. El estrés hídrico también induce una reducción del 51% en g_{md} ($p < 0.01$), no observándose efectos significativos debidos al O_3 o a este en combinación con el estrés hídrico, en los valores de g_s .

DISCUSIÓN

En el clima mediterráneo, los meses de verano se caracterizan por la existencia de elevadas temperaturas y déficit de presión de vapor asociados con niveles de radiación solar elevados en las horas centrales del día, lo cual puede inducir el cierre del estoma y consecuentemente una reducción de las tasas de intercambio gaseoso. En este experimento se observa un patrón diario, mostrando valores máximos de A y g_s durante la mañana seguido de una reducción al mediodía. Resultados similares han sido descritos por numerosos autores (Epron *et al.*, 1992; Elvira *et al.*, 1995). Aunque este patrón de comportamiento se aprecia independientemente del tratamiento de agua, es mucho más aparente en los pinos BR.

Pinus halepensis se ha descrito como una especie tolerante al estrés (Montoya, 1995); en concordancia no se han detectado efectos del estrés hídrico en los valores de A y g_s hasta alcanzar valores de potencial hídrico de las acículas (Ψ) del orden de -3Mpa (no se muestran los datos). En este estado, la supresión del agua induce una reducción del 50% en los valores de A_{md} y cercana al 25% en g_{md} . Al final del ciclo de estrés, los plantones ES sufrieron un estrés hídrico muy severo que determinó la desaparición de la variación diaria de los valores de A , alcanzando la disminución de los valores de A_{md} y g_{md} valores de 76% y 37%, respectivamente. También se han observado reducciones en los valores de A y g_s en otras plantas sujetas a estrés hídrico (Beyers *et al.*, 1992; Wallin *et al.*, 1992; Damesin y Ramball, 1995).

En general los niveles de O_3 por encima de los ambientales inducen una reducción significativa de los niveles de A y g_s . Numerosos autores encontraron un efecto similar (Wallin *et al.*, 1992; Elvira *et al.*, 1995). La exposición a O_3 induce una reducción fija de A_{md} de alrededor del 20% en cualquiera de los días del ciclo de estrés. El estrés hídrico ejerce un impacto mayor en las tasas de intercambio gaseoso de *Pinus halepensis* que la exposición a O_3 . El efecto combinado O_3 -estrés hídrico parece modulado por la severidad del estrés hídrico; cuando el estrés no era demasiado severo, después de 7 días de supresión de agua, los FUES presentaban una reducción ligeramente menor de A_{md} que los AFES. Este antagonismo se

podría explicar por la inducción del cierre del estoma después de la exposición a O₃. Cuando el estrés hídrico era mucho más severo, los plantones responden de modo más acusado al estrés hídrico, siendo aparentes los efectos del O₃ sólo en el tratamiento BR. Una respuesta similar de modulación por el grado de estrés hídrico, se observó en masas forestales de *Pinus ponderosa* (Miller *et al.*, 1989).

Las tasas de intercambio gaseoso no se recuperan totalmente 2 días después de volver a regar. Resultados similares han sido descritos por Wallin *et al.* (1992) en *Picea abies*. Estos efectos posteriores en la apertura del estoma, se pueden considerar como una segunda línea de defensa según sugieren Mansfield y Davies (1985), debido a que no sólo previene de una pérdida rápida del nuevo agua suministrada sino que también mejora la eficiencia media de uso de agua. Se observó una mayor recuperación en los valores de A de los plantones AFES .

En resumen, la incidencia del O₃ en las tasas de intercambio gaseoso de los pinos carrasco parece estar modulada por la severidad del estrés hídrico. Cuando las plantas estaban expuestas a la combinación de ambos estreses, se obtuvo una respuesta antagónica. Sin embargo, los plantones que no habían sido expuestos a O₃ presentaban una recuperación más rápida después del estrés hídrico. Estos efectos pueden tener implicaciones ecológicas importantes, ya que el pino carrasco está sometido en el campo a concentraciones de ozono y estrés hídrico que están en el mismo rango que las que se han utilizado durante el desarrollo de nuestro experimento. De hecho, los niveles de O₃ tienden a ser más altos durante la primavera y comienzos del verano (Gimeno *et al.*, 1996) lo cual puede reducir las tasas de intercambio gaseoso de las masas de *Pinus halepensis*. Con posterioridad, los pinos están sometidos durante el verano a sequía lo que podría tener un impacto muy severo en los pinos ya expuestos a ozono. Finalmente, debido al O₃ se puede esperar un retraso en la recuperación después del estrés hídrico. Es necesaria una investigación posterior para documentar los mecanismos implicados en la respuesta de las tasas de intercambio gaseoso de las masas de pino carrasco expuestas a ozono y estrés hídrico simultáneamente.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a Victoria Bermejo, Susana Elvira, Modesto Mendoza, Sonia Sánchez y Jose Manuel Gil por su valiosa ayuda durante el desarrollo del experimento. Esta investigación ha sido subvencionada por el proyecto OCIDE PIE 131.103 y el contrato EU EV5V-CT93-0263.

BIBLIOGRAFIA

BEYERS J.L., RIECHERS G.H. (1992). Effects of long-term ozone exposure and drought on the photosynthetic capacity of ponderosa pine (*Pinus ponderosa* Laws.). *New Phytol.*; **122**:81-90.

DAMESIN C., RAMBAL S. (1995). Field study of leaf photosynthetic performance by a Mediterranean deciduous oak tree (*Quercus pubescens*) during a severe summer drought. *New Phytol.*, **131**:159-167.

ELVIRA S., ALONSO R., INCLÁN R., BERMEJO V., CASTILLO F.J., GIMENO B.S. (1995). Ozone effects on Aleppo pine seedlings (*Pinus halepensis* Mill.) grown in OTC. *Water, Air & Soil Pollut.* **85**:1387-92.

EPRON D., DREYER E., BRÉDA N. (1992). Photosynthesis of oak trees (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.) during drought under field conditions: diurnal courses of net CO₂

assimilation and photochemical efficiency of photosystem II. *Plant, Cell and Environment*, 15:809-820.

GIMENO B.S., CABAL H., BARQUERO C.G., ARTIÑANO B., GUARDANS R. (1996). Ozone exceedance maps in Catalunya. Problems and Criteria. In: *Critical levels for ozone in Europe: Testing and Finalising the concepts*. Karenlampi, L. and Skärby, L. (eds). University of Kuopio. pp: 228-234.

HEAGLE A.S., PHILBECK R.B., ROGERS H.H. AND LETCHWORTH, M.B. (1979). Dispensing and monitoring ozone in open-top chambers for plant-effect studies. *Phytopathology*, 69(1):15-20.

MANSFIELD T.A. AND DAVIES W.I. (1985). Mechanisms for leaf control of gas exchange. *Bioscience*, 35(3):158-64.

MILLER P.R., MCBRIDE J.R., SCHILLING S.L. AND GOMEZ A.P. (1985). Trends of ozone damage to conifer forests between 1974 and 1988 in the San Bernardino mountains of Southern California. In: *Effects of air pollution on western forests*. R.K. Olson and A.S Lefhon (eds). Air and Waste Management Association. Pittsburgh. Ser. 16:319-323.

MONTOYA R. (1995). Red de seguimiento de daños en los montes. Daños originados por la sequia en 1994. *Cuadernos de la S.E.C.F.*, 2:83-97.

PUJADAS M, GIMENO B.S., TERÉS J.1997. La experiencia española en el diseño de sistemas experimentales para el estudio de efectos producidos por contaminantes gaseosos sobre especies vegetales. *Boletín de sanidad vegetal-Plagas* 23-1.

VELISSARIOU, D., GIMENO, B.S., BADIANI, M., FUMAGALLI, I., DAVISON, A.W. (1996). Records of O₃ visible injury in the ECE mediterranean region. In: *Critical levels for ozone in Europe: Testing and Finalising the concepts*. Karenlampi, L. and Skärby, L. (eds). University of Kuopio. pp: 343-350.

WALLIN G., SKÄRBY L. (1992). The influence of ozone on the stomatal and non-stomatal limitation of photosynthesis in Norway spruce, *Picea abies* (L.) Karst, exposed to soil moisture deficit. *Trees*, 6: 128-

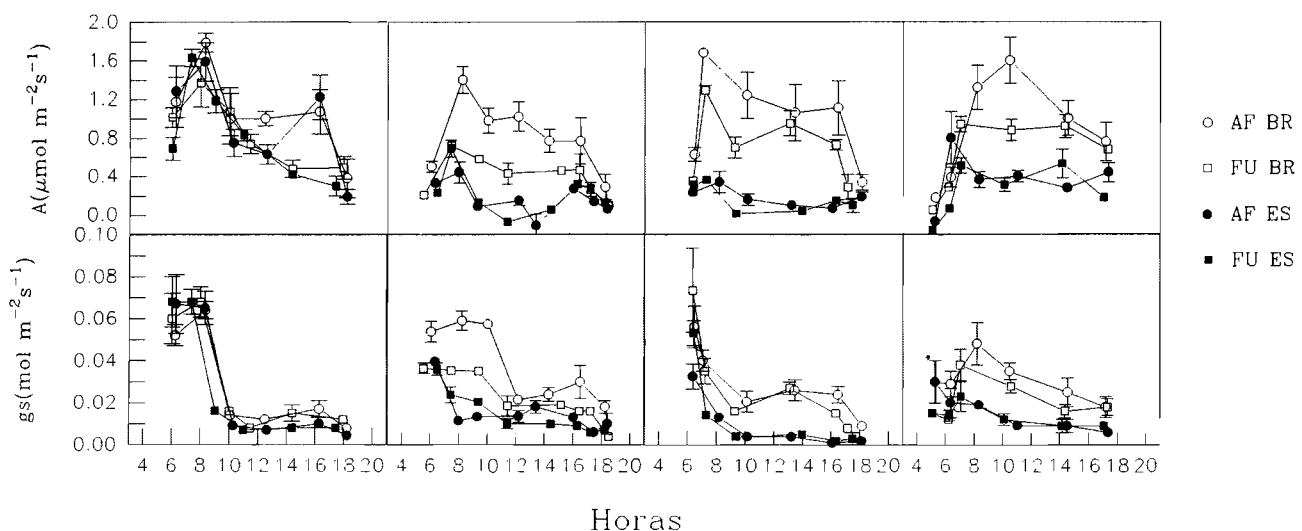


Figura 1 . Evolución de la tasa de asimilación de CO₂ (A) y conductancia estomática (g), durante el estrés hídrico y la recuperación, cuando las plantas estresadas se sometieron a cuatro (4d EH), siete (7d EH) y once (11d EH) días de supresión de riego y dos días después (2d R) de regar los plantones de pino carrasco.