

Efectos sobre la fotosíntesis por exposición a ozono en especies leñosas

Aranzazu Gómez Garay¹. Carlos Calderón Guerrero².
José Antonio Saiz de Omeñaca². José Antonio Manzanera de la Vega².

1. Facultad de CC Biológicas. Dto. De Biología Vegetal I: Fisiología Vegetal.
C/ José Antonio Novais nº2. 28040 Madrid.
2. ETSI Montes, Universidad Politécnica de Madrid, Ciudad Universitaria, 28040 Madrid.
magom02@bio.ucm.es

Resumen: el ozono es uno de los contaminantes atmosféricos más perjudiciales para las plantas y su concentración se ha ido incrementando de forma alarmante en las últimas décadas fundamentalmente debido a la actividad industrial. Especialmente importantes son sus efectos en especies leñosas ya que sobre las mismas se pueden considerar crónicos, derivados de exposiciones continuadas en el tiempo. Entre los efectos que la exposición al ozono produce sobre las plantas adquieren especial importancia los daños derivados de las alteraciones en el proceso fotosintético y en la actividad estomática (su vía principal de entrada en la planta), los cambios en la distribución de carbohidratos y la capacidad de detoxificación de las plantas.

Palabras clave: Ozono troposférico. Leñosas. Fotosíntesis.

INTRODUCCIÓN

El ozono es un gas con efecto invernadero que no se emite directamente a la atmósfera sino que deriva de una cadena de reacciones fotoquímicas a partir de los gases precursores: óxidos de nitrógeno (NO_x), monóxido de carbono (CO) y compuestos orgánicos volátiles (VOC). El ozono tiene efectos nocivos tanto sobre la salud humana como sobre las plantas. En este sentido las daña afectando tanto a herbáceas como a leñosas, a cultivos y a especies forestales. Los estudios experimentales indican que existe una relación directa entre los daños presentes en los árboles y su exposición temporal al ozono. Sólo se producirá daño si la cantidad de ozono es suficiente como para que la planta no pueda detoxificar o metabolizar el O₃ o sus metabolitos o si la planta es incapaz de reparar o compensar el impacto que el ozono pueda causarle.

El ozono puede alterar la estructura de los ecosistemas, reducir la biodiversidad y la asimilación de CO₂ por las plantas. Los daños incluyen los directos sobre las hojas, incidencias sobre la reproducción y el crecimiento y la reducción en el rendimiento de los cultivos, pero sobre todo destaca la reducción en la fotosíntesis.

EFFECTOS DEL OZONO SOBRE LA FOTOSÍNTESIS

El ozono tiene un efecto claro en los procesos fotosintéticos con una limitación de la fotosíntesis neta que queda reflejada en una reducción media de la cantidad de clorofila del 11% (Wittig *et al*, 2007). Sin embargo, las alteraciones fundamentales se producen a nivel de la cadena de electrones y de la fijación de carbono por la acción de la Rubisco (Ribulosa 1-5 bifosfato carboxilasa/oxigenasa) y, de forma indirecta, por su acción sobre las células guarda de los estomas con una reducción en la conductancia estomática (próxima al 13%) y el cierre incompleto de los estomas en oscuridad. Además, esta incidencia sobre la actividad fotosintética incluye la reducción en los mecanismos de defensa de las plantas (i.e. Massman, 2004) afectando a su capacidad de detoxificación y, por consiguiente, incrementando los efectos nocivos.

Alteraciones en la cantidad de clorofila

La cantidad de clorofila se ve reducida cuando los árboles se ven sometidos a estrés por ozono como ocurre en *Quercus pyrenaica* y *Quercus robur* (Calatayud *et al*, 2011), *Pinus halepensis* (Alonso *et al*, 2001) y las tropicales *Haematoxylum campechianum* (palo de Campeche), *Tabebuia rosea* (apamate) o *Swietenia macrophylla* (caoba; Cerón-Bretón *et al*, 2010). Sin embargo, la interacción con otros factores como son la concentración de CO₂, el estado de desarrollo o la disponibilidad de nitrógeno pueden incidir sobre esta reducción. Cuando la concentración de CO₂ es elevada se produce el cierre estomático y el efecto del ozono sobre la cantidad de clorofila se ve moderado. Esta moderación se ha comprobado en especies como *Quercus petraea*, *Fraxinus excelsior* (Broadmeadow y Jackson, 2000) y *Populus tremuloides* (Noormets *et al*, 2010). Cuando el factor es el estado de desarrollo, los árboles más jóvenes se ven menos afectados debido al efecto acumulativo del O₃ en las hojas y también se muestra una reducción en la cantidad de clorofila al finalizar el periodo de crecimiento más activo (Broadmeadow y Jackson, 2000), probablemente debido a una compensación atribuible a la presencia de hojas más jóvenes durante este periodo. Cano *et al* (2007) observaron una disminución del contenido foliar en clorofila en *Sambucus ebulus*, asociada a una disminución de nitrógeno disponible para la planta.

En otras especies no se ha constatado ninguna relación directa entre la cantidad de clorofila y la exposición a niveles elevados de ozono como ocurre en las especies mediterráneas *Quercus faginea* y *Quercus ilex* (Calatayud *et al*, 2011) y *Pinus sylvestris* (Broadmeadow y Jackson, 2000).

Alteraciones en la cadena de electrones

El efecto del ozono sobre la cadena de electrones se refleja tanto en el ciclo de las xantofilas (se reduce la violaxantina mientras que la zeaxantina se incrementa por efecto de la de-epoxidación), especialmente en hojas jóvenes ya que en las maduras existe una menor actividad antioxidante (Alonso *et al*, 2001), como en su acción sobre la

funcionalidad del PSII (fotosistema II). La dependencia de la luz de ambos procesos sugiere que la señal se localiza en los cloroplastos. La energía absorbida por el PSII depende del estado redox de PQ (plastoquinona, el aceptor de electrones primario del PSII). La alteración en la reducción de los centros de reacción del PSII se ha mostrado como el principal indicador del estrés por ozono en el género *Malus* (Soja *et al*, 1998) y en *Pinus halepensis* (Manes *et al*, 2001), comprobándose la lenta reducción de PQ en presencia de ozono en *Fraxinus excelsior* (Gravano *et al*, 2004), en diversas especies del género *Acer* (Calatayud *et al*, 2007) y en clones de *Populus* (Soldadini *et al*, 1998; Lorenzini *et al*, 1999; Bussotti *et al*, 2003).

Sin embargo, Bussotti *et al* (2011) concluyen que el principal papel del ozono sobre el aparato fotosintético se encuentra más allá del PSI, fotosistema I, (por ejemplo en: *Viburnum lantana*, *Prunus avium*, *Fraxinus excelsior*, *Fagus sylvatica* y el clon 'Oxford', especialmente sensible al ozono, de *Populus*), incidiendo desde una menor densidad del mismo PSI hasta la reducida habilidad de los receptores finales de electrones: ferredoxina y NADP+.

Alteraciones en la actividad de Rubisco

Los cambios causados por el ozono que se observan tanto en la cantidad de clorofila como en el transporte de electrones pueden atribuirse a la reducción en la actividad del enzima Rubisco (Noormets *et al*, 2010). Del mismo modo, una menor capacidad de asimilación del carbono en las plantas sometidas a elevadas concentraciones de ozono también se relaciona con la pérdida de actividad de este enzima que en *Fagus sylvatica* (Kermer *et al*, 2011) se justifica con una menor expresión, en presencia de altas concentraciones de ozono, de dos proteínas implicadas en su regulación (rubisco activasa y anhidrasa carbónica).

ALTERACIONES EN LA APERTURA/CIERRE ESTOMÁTICO

La acción del ozono sobre los estomas es directa: cuando el ozono penetra en la cavidad subestomática entra en contacto con el apoplasto se generan (Fig. 1) peróxido de hidrógeno (H_2O_2), radicales superóxido (O_2^-) e hidroxilo (OH^\cdot) que afectan a los canales de calcio de la membrana plasmática de las células guarda lo que incrementa su flujo hacia el citoplasma e induce el cierre estomático, además el H_2O_2 bloquea la activación del polipéptido (ABI2) que inhibe el cierre estomático. Otras moléculas orgánicas con grupos sulfhidrilo (-SH) o dobles enlaces, y que se encuentran presentes en el apoplasto y la pared celular, son también susceptibles de oxidación después de interactuar con el ozono. De este modo los estomas actúan limitando la entrada del ozono en la planta. Esta respuesta de cierre tiene un efecto negativo, pues supone una menor fijación de carbono, pero se justifica con la mayor tolerancia de los árboles al ozono al reducirse su flujo estomático (i.e. Broadmeadow y Jackson, 2000).

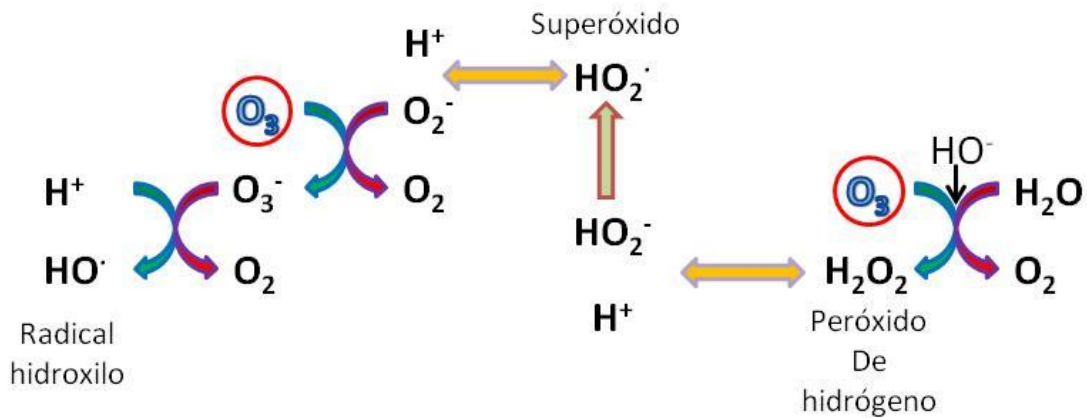


Figura 1. Reacciones del ozono con agua: reacciona con los dobles enlaces para generar peróxido de hidrógeno y radicales superóxido e hidroxilo.

Las condiciones ambientales que favorecen la apertura estomática (elevada transpiración) favorecen la entrada del ozono en la planta (Fig. 2), mientras que entre los factores que limitan esta entrada se encontrarían la resistencia de la capa límite y el menor tamaño de la apertura del poro estomático. Sin embargo, parece que los efectos acumulativos a largo plazo en especies sensibles de *Populus* y *Betula* son más importantes que esta respuesta primaria de cierre; la explicación podría derivarse de la vía de deposición de ozono no estomática que podría alcanzar valores entre el 30 y más del 50% del flujo total (Paoletti, 2005; Uddling *et al*, 2009).

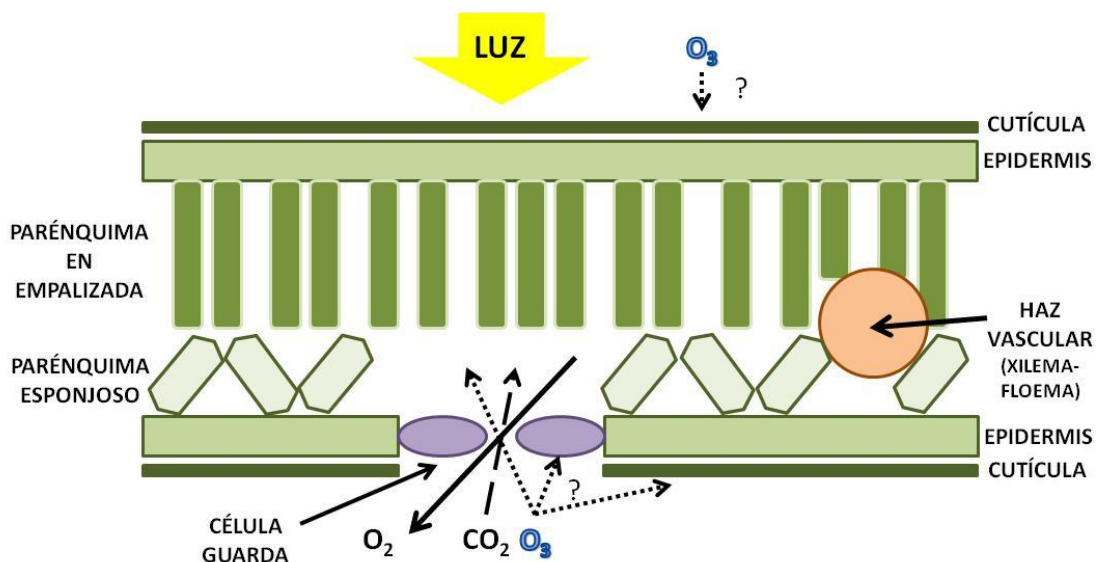


Figura 2. Hoja de dicotiledónea. La luz incide en el haz mientras por el envés, y a través del estoma, el dióxido de carbono (CO_2) y el ozono (O_3) penetran y el vapor de agua sale durante la transpiración. El "?" indica la posible vía de deposición de ozono no estomática.

ALTERACIONES EN LA CAPACIDAD DE DETOXIFICACIÓN

El estrés oxidativo en forma de especies reactivas de oxígeno (ROS), es una consecuencia de la toxicidad del ozono en las plantas. Los radicales libres dañan la célula y el daño se traduce fundamentalmente en una reducción de la eficiencia fotosintética limitando la asimilación de carbono por cierre estomático y reflejándose en la mayor sensibilidad a la fotoinhibición del PSII. La inactivación de la reparación del PSII se observa cuando se reduce la actividad de la Rubisco y se suprime el ciclo de Calvin. Esta supresión del ciclo de Calvin es consecuencia de la alteración en el PSI, en las dos rutas de transporte de electrones: la dependiente de NADPH deshidrogenasa y la de la ferredoxina. Los electrones libres del PSI que no alcanzan los aceptores finales pueden activar el oxígeno con la consiguiente producción de ROS, induciendo entonces los procesos de foto-oxidación del contenido celular (Bussotti *et al*, 2011).

Las reacciones de detoxificación llevadas a cabo por metabolitos antioxidantes y enzimas (como por ejemplo: ascorbato, glutatión y superoxidodismutasa) comienzan en el apoplasto y son fundamentales para reducir la concentración del estrés oxidativo generado por el ozono. Calatayud *et al* (2010) observaron mediante cámaras de techo abierto (open top chambers, OTC. Fig. 3) que el ozono induce incrementos de actividad de la superoxidodismutasa (SOD), de la peroxidasa o de ambas a la vez en *Pistacia terebinthus*, *P. lentiscus*, *Viburnun lantana* y *V. tinus*, pero en ambas parejas de especies del mismo género las de hoja perenne toleraban mejor el estrés debido al ozono.

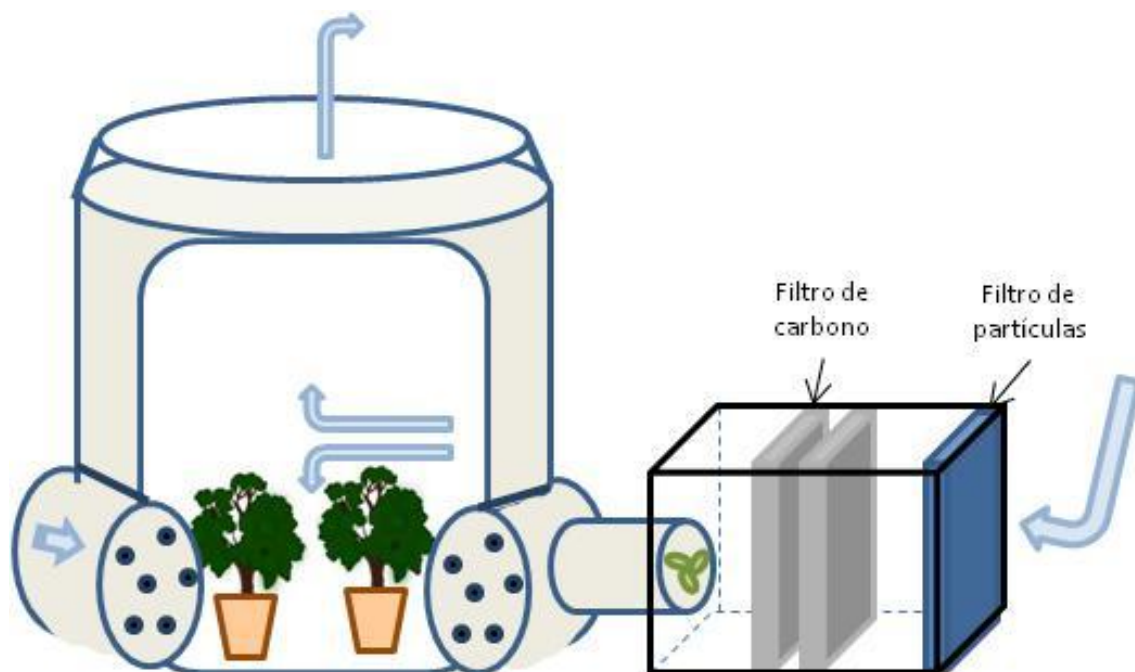


Figura 3. Esquema de cámara de techo abierto (OTC) y sistema de ventilación forzada con filtros.

EFFECTOS DEL OZONO SOBRE LA DISTRIBUCIÓN DE CARBOHIDRATOS

El ozono puede inducir cambios en la partición de la biomasa (i.e. *Quercus petraea*; Broadmeadow y Jackson, 2000) reduciéndose el transporte hacia las raíces. Existen tres vías fundamentales de alteración que produce el ozono sobre el transporte: la carga defectuosa del floema, las necesidades derivadas de la reparación de las hojas dañadas y el balance alterado ente fuentes y sumideros a consecuencia de una menor fijación de carbono en las hojas. Esta reducción de transporte de carbohidratos hacia las raíces incide de forma negativa en la nodulación de *rhizobia* y el desarrollo de micorrizas, por ejemplo en *Pinus ponderosa* (Andersen y Rygiewicz, 1995) y en *Fagus sylvatica* (Haberer *et al*, 2007). Greitner y Winner (1989) demostraron que el ozono reduce la fotosíntesis en *Alnus frangula* y observaron que en los nódulos radicales aparecían afectadas las células del vegetal pero no las del actinomiceto simbiote *Frankia*.

SENSIBILIDAD Y TOLERANCIA AL ESTRÉS POR OZONO

Las alteraciones en la fotosíntesis en los aspectos señalados varían dependiendo de las especies, los clones o ecotipos y el estado de desarrollo. Así, son más tolerantes las especies perennes que las caducas de hoja ancha (Calatayud *et al*, 2010) y, en general, aquellas especies que presentan mayor tolerancia a otros tipos de estrés, por ejemplo el hídrico, como ocurre con las esclerófilas mediterráneas entre las que se encuentra *Quercus ilex* (Bussotti y Gerosa, 2002; Calatayud *et al*, 2010) y *Pinus halepensis* (Alonso *et al*, 2001). Entre los clones destacan los estudios realizados en el género *Populus*, donde existe una marcada reducción en la actividad fotosintética en aquellos más sensibles a elevadas concentraciones de ozono (i.e. Noormets *et al*, 2010 en *Populus deltoides*). En otros casos, se estudió la diferente sensibilidad intraespecífica, como en el estudio de la respuesta a la absorción de ozono en OTC a largo plazo de dos ecotipos diferentes de *Quercus coccifera* (Elvira *et al*, 2004), con diferente reducción en la tasa neta de fotosíntesis y la conductividad estomática. En lo referente el estado de desarrollo, las hojas más jóvenes presentan menos alteraciones que las maduras con una menor reducción en la cantidad de clorofila y una mayor capacidad de detoxificación.

BIBLIOGRAFÍA

- Alonso, R.; Elvira, S.; Castillo, F.J. y Gimeno, B.S. 2001. Interactive effects of ozone and drought stress on pigments and activities of antioxidative enzymes in *Pinus halepensis*. *Plant Cell and Environment* 24(9): 905-916.
- Andersen, C.P. y Rygiewicz, P.T. 1995. Allocation of carbon in mycorrhizal *Pinus ponderosa* seedlings exposed to ozone. *The New Phytologist* 131:471-480.

- Broadmeadow, M.S.J. y Jackson, S.B. 2000. Growth responses of *Quercus petraea*, *Fraxinus excelsior* and *Pinus sylvestris* to elevated carbon dioxide, ozone and water supply. *New Phytologist* 146: 437–451.
- Bussotti, F. y Gerosa, G. 2002. Are the Mediterranean forests in Southern Europe threatened from ozone? *Journal of Mediterranean Ecology* 3 (2-3), 23-34 (C).
- Bussotti, F.; Schaub, M.; Cozzi, A.; Krauchi, N.; Ferretti, M.; Novak, K. y Skelly, J.M. 2003. Assessment of ozone visible symptoms in the field: perspectives of quality control. *Environmental Pollution* 125: 81-89.
- Bussotti, F.; Desotgiu, R.; Cascio, C.; Pollastrini, M.; Gravano, E.; Gerosa, G.; Marzuoli, R.; Nali, C.; Lorenzini, G.; Salvatori, E.; Manes, F.; Schaub, M. y Strasser, R.J. 2011. Ozone stress in woody plants assessed with chlorophyll a fluorescence. A critical reassessment of existing data. *Environmental and Experimental Botany* 73: 19–30.
- Calatayud, V.; Cerveró, J. y Sanz, M.J. 2007. Foliar, physiological and growth responses of four maple species exposed to ozone. *Water, Air and Soil Pollution* 185: 239–254.
- Calatayud, V.; Marco, F.; Cerveró, J.; Sánchez-Peña, G. y Sanz, M.J. 2010. Contrasting ozone sensitivity of related evergreen and deciduous shrubs. *Environmental Pollution* 158: 3580–3587.
- Calatayud, V.; Cerveró, J.; Calvo, E.; García-Breijo, F.J.; Reig-Armiñana, J. y Sanz, M.J. 2011. Responses of evergreen and deciduous *Quercus* species to enhanced ozone levels. *Environmental Pollution* 159 (1): 55-63. doi:10.1016/j.envpol.2010.09.024
- Cano, I.; Calatayud, V.; Cerveró, J. y Sanz, M.J. 2007. Ozone effects on three *Sambucus* species. *Environmental Monitoring and Assessment* 128 (1-3): 83-91.
- Cerón-Bretón, J.G.; Cerón-Bretón, R.M.; Guerra-Santos, J.J.; Córdova-Quiroz, A.V.; Vargas-Caliz, C.; Aguilar-Bencomo, L.; Rodríguez-Heredia, K.; Bedolla-Zavala, E. y Pérez-Alonso, J. 2010. Effects of simulated tropospheric ozone on soluble proteins and photosynthetic pigments levels of four woody species typical from the Mexican Humid tropic. *WSEAS Transactions on environment and development* 5(6): 335-344.
- Elvira, S.; Bermejo, V.; Manrique, E. y Gimeno, B.S. 2004. On the response of two populations of *Quercus coccifera* to ozone and its relationship with ozone uptake. *Atmospheric Environment* 38: 2305-2311.
- Gravano, E.; Bussotti, F.; Strasser, J.R.; Schaub, M.; Novak, K.; Skelly, J. y Tani, C. 2004. Ozone symptoms in leaves of woody plants in open top chambers: ultrastructural and physiological characteristics. *Physiologia Plantarum* 121, 620–633.

- Greitner, C.S. y Winner, W.E. 1989. Effects of O₃ on alder photosynthesis and symbiosis with *Frankia*. *New Phytologist* 111: 647-656.
- Haberer, K.; Grebenc, T.; Alexou, M.; Geßler, A.; Kraigher, H. y Rennenberg, H. 2007. Effects of long-term free-air ozone fumigation on δ¹⁵N and total N in *Fagus sylvatica* and associated mycorrhizal fungi. *Plant Biol.* 9:242–252.
- Kerner, R.; Winkler, J.B.; Dupuy, J.W.; Jürgensen, M.; Lindermayr, C.; Ernst, D. y Müller-Starck, G. 2011. Changes in the proteome of juvenile European beech following three years exposure to free-air elevated ozone. *iForest* 4: 69-76.
- Lorenzini, G.; Guidi, L.; Nali, C. y Soldatini, G.F. 1999. Quenching analysis in poplar clones exposed to ozone. *Tree Physiology* 19, 607–612.
- Manes, F.; Donato, E. y Vitale, M. 2001. Physiological response of *Pinus halepensis* needles under ozone and water stress conditions. *Physiologia Plantarum* 113, 249–257.
- Massman, W.J. 2004. Towards an ozone standard to protect vegetation based on effective dose: a review of deposition resistances and a possible metric. *Atmospheric Environment* 38: 2323-2337.
- Noormets, A.; Kull, O.; Sôber, A.; Kubiske, M.E. y Karnosky, D.F. 2010. Elevated CO₂ response of photosynthesis depends on ozone concentration in aspen. *Environmental Pollution* 158: 992-999.
- Paoletti, E. 2005. Ozone slows stomatal response to light and leaf wounding in a Mediterranean evergreen broadleaf, *Arbutus unedo*. *Environmental Pollution* 134:439–445.
- Soja, G.; Pfeifer, U. y Soja, A.M. 1998. Photosynthetic parameters as early indicators of ozone injury in apple leaves. *Physiologia Plantarum* 104, 639–645.
- Soldatini, G.F.; Lorenzini, G.; Filippi, F.; Nali, C. y Guidi, L. 1998. Photosynthesis of two poplar clones under long-term exposure to ozone. *Physiologia Plantarum* 104, 707–712.
- Uddling, J.; Teclaw, R. M.; Pregitzer, K. S. y Ellsworth, D. S. 2009. Leaf and canopy conductance in aspen and aspen-birch forests under free-air enrichment of carbon dioxide and ozone. *Tree Physiol*, 29: 1367-1380.
- Wittig, V.E.; Ainsworth, E.A. y Long, S.P. 2007. To what extent do current and projected increases in surface ozone affect photosynthesis and stomatal conductance of trees? A meta-analytic review of the last 3 decades of experiments. *Plant, Cell & Environment*, 30: 1150-1162.

RECURSOS ELECTRÓNICOS

EPA. United States Environmental Protection Agency

http://hero.epa.gov/index.cfm?action=reference.details&reference_id=88089

European Environment Agency

<http://www.eea.europa.eu/maps/ozone/welcome>

<http://www.eea.europa.eu/publications/air-quality-in-europe-2011>

Recibido: 29 febrero 2012.

Aceptado: 15 de octubre 2012.