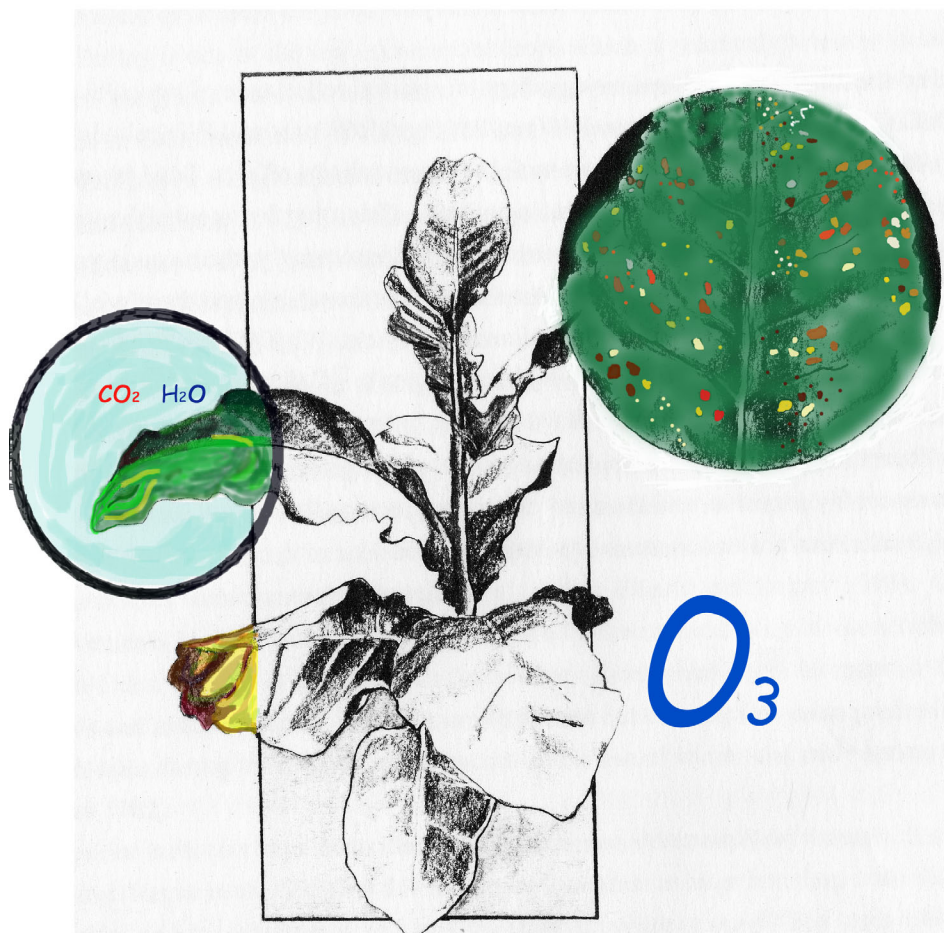
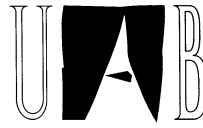


La Fitotoxicitat de l'O₃ a Catalunya. Bioindicació i Ecofisiologia

Àngela Ribas Artola



Gener 2004



Universitat Autònoma de Barcelona

**Departament de Biologia Animal,
de Biologia Vegetal i d'Ecologia**
Unitat d'Ecologia

La Fitotoxicitat de l'ozó a Catalunya: Bioindicació i Ecofisiologia

Memòria presentada per:

Àngela Ribas Artola
Per optar al grau de Doctor/a

Amb el vist i plau dels directors de tesi:

Prof. Josep Peñuelas i Reixach
Professor d'investigació del CSIC
Unitat d'Ecofisiologia CSIC-CEAB-CREAF
CREAF, Universitat Autònoma de Barcelona

Dr. Iolanda Filella Cubells
Científic titular del CSIC
Unitat d'Ecofisiologia CSIC-CEAB-CREAF
CREAF, Universitat Autònoma de Barcelona

Bellaterra Gener, 2004

A la meva família:

Mon Pare i ma mare,
ma germana i ma neboda
i la Tomana

PLOU I FA SOL

Plou i fa sol, les bruixes es pentinen,
al cel triomfa l'arc de Sant Martí,
el món fa la rialla entre boirines
i el verd és més lluent i el groc més fi.
Plou i fa sol!, una alegria nova
xiscla i s'ensenyoreix del pensament,
i el poble vell, estès tal com la roba
comença a retrobar-se lentament.
Plou i fa sol, cor meu, pla ho endevines,
plou i fa sol, i riu clar l'horitzó,
plou i fa sol, les bruixes es pentinen...
I el vent manyac s'emporta la cançó.

SOLSTICI

Reconduïm-la a poc a poc,
la vida,
a poc a poc i amb molta confiança,
no pas pels vells topants
ni per dreteres grandiloqüents,
sinó pel discretíssim
camí del fer i desfer de cada dia.

Reconduïm-la amb dubtes i projectes,
i amb turpituds, anhels i defallences;
humanament,
entre brogit i angoixes
pel gorg dels anys que ens correspon de viure.

En solitud, però no solitaris,
reconduïm la vida, amb la certesa
que cap esforç no cau en terra eixorca.

Dia vindrà que algú beurà a mans plenes
l'aigua de llum que brolli de les pedres
d'aquest temps nou que ara esculpim nosaltres.

Miquel Martí i Pol,
en record.

Índex

INTRODUCCIÓ GENERAL.....	1
CHAPTER 1. Ozone in Catalonia: Temporal patterns of surface ozone levels in different habitats	23
CHAPTER 2. Ozone phytotoxicity in Catalonia: Bioindication studies	
2.1. Preliminary studies on bioindication in the study area: different methodological approaches	
2.1.1. Evaluation of tobacco cultivars as bioindicators and biomonitors of ozone phytotoxic levels	41
2.1.2. Dependence of ozone biomonitoring on meteorological conditions of different sites	65
2.1.3. Effects of Ethylene diurea as a protective antiozonant on beans (<i>Phaseolus vulgaris</i> cv Lit) exposed to different tropospheric ozone doses	73
2.2. Biomonitoring of tropospheric ozone phytotoxicity in rural Catalonia	87
2.3. Using biomonitors and modelling to develop O ₃ dose-response curves	107
Appendix A. Urban air quality in Europe – results of three years of standardised biomonitoring studies	121

CHAPTER 3. The ecophysiological basis of ozone phytotoxicity

3.1. Ozone exposure induces the activation of senescence-related processes and morphological changes in Mediterranean tree species.....	137
3.2. Contrasting interactive effects of ozone and water supply in two Mediterranean tree species.....	167
RESULTATS I CONCLUSIONS.....	187
Agraïments	199

Introducció general.

L'O₃ a la troposfera

A nivell troposfèric, la formació d'ozó té lloc com a producte de reaccions fotoquímiques en les que participen compostos orgànics volàtils i òxids de nitrogen, cada cop més abundants a l'atmosfera com a conseqüència de l'activitat humana. En els darrers cent anys les concentracions d'O₃ troposfèric a l'hemisferi nord s'han doblat. La taxa d'increment es calcula que ha estat entre 1 i 2 % per any en les darreres dos dècades (Stockwell et al., 1997) (Fig. 1).

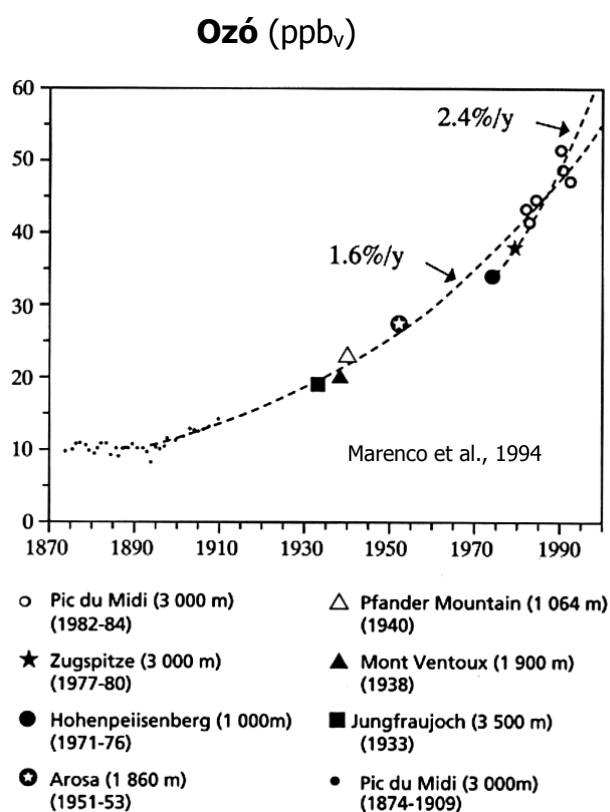
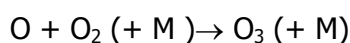
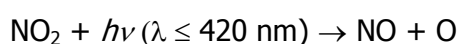


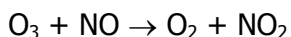
Figura 1. Evolució de l'O₃ troposfèric a l'oest d'Europa. Mesures realitzades al Pic du Midi (sud de França) i altres estacions europees a elevada altitud.

Extreta de Stockell et al., 1997.

S'han de donar tres condicions bàsiques per la formació i acumulació d'ozó a la troposfera : (1) radiació solar a longitud d'ona $\lambda \leq 410$ nm, (2) presència de compostos orgànics volàtils, i (3) presència d'òxids de nitrogen (NO_x). D'una manera simplificada, podríem descriure el mecanisme de formació de l'ozó com (Chameides i Logde, 1992):



on M representa una molècula estabilitzadora del procés, com N₂ o O₂. NO + O pot reaccionar fàcilment en sentit contrari per formar NO₂, però la probabilitat de formació de l'O₃ és alguns ordres de magnitud major ja que el NO és un gas traça (present en concentracions de nl l⁻¹ o ppb_v), mentre que l'O₂ representa el 21 % de l'atmosfera. Així, l'O₃ pot també reaccionar amb el NO per formar O₂ i NO₂:



Aquesta reacció comporta la destrucció d'ozó i per tant disminueix la seva presència a la troposfera.

Segons les relacions descrites, els NO, NO₂ i O₃ es trobarien en equilibri fotoestacionari. Però intervenen a més altres factors que desestabilitzen aquest cicle i que promouen l'acumulació del contaminant. L'oxidació de hidrocarburs (RH) produeix el radical alquilperòxid (RO₂), que oxida el NO, produint NO₂ sense consum d'O₃. Existeix una gran quantitat de compostos orgànics volàtils a les atmosferes contaminades cadascun dels quals presenta diferents taxes de reactivitat, pel que resulta extremadament complex caracteritzar aquests processos.

Els nivells enregistrats en una localitat són el resultat d'un equilibri entre els processos de formació, transport i destrucció, que venen determinats per una combinació de factors meteorològics i fotoquímics. Existeix doncs una gran variació espacial (altitud, latitud, entre d'altres) i temporal (any, estació, hora del dia) en els nivells d'O₃. Per exemple, les concentracions d'O₃ a la troposfera descriuen un cicle diari característic amb altes concentracions al migdia, quan la radiació i la temperatura afavoreixen la seva formació, i baixes concentracions durant la nit fins la matinada, quan només té lloc la seva destrucció. En zones on es donen altes emissions de NO_x, p.e. grans ciutats, tant la taxa de formació com la de destrucció és elevada, donant-se així grans diferències entre les concentracions diürnes i nocturnes (Fig. 2). En cas contrari, per exemple a les zones rurals sense fonts d'emissions de NO_x, trobaríem perfils diaris atenuats de concentracions d'O₃ més o menys constants (Fig. 2).

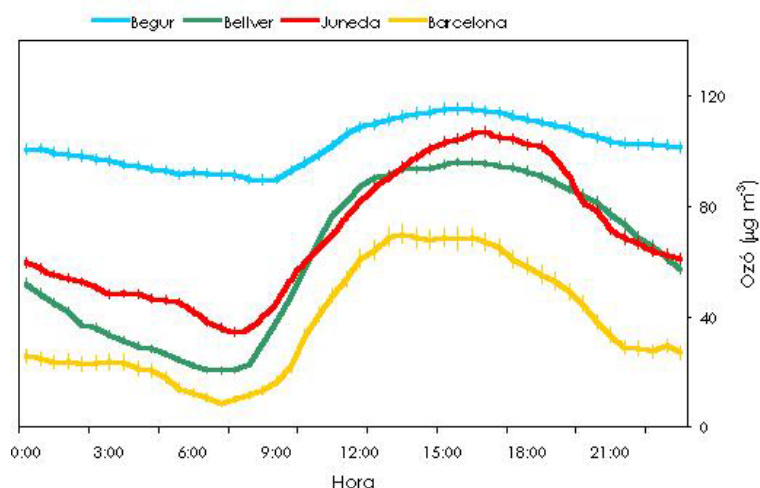


Figura 2. Cicles diaris típics de les concentracions d'O₃ en condicions urbanes (Barcelona) i rurals (Begur, Bellver, Juneda).

L'Ozó, toxicitat i detecció

L'augment de la industrialització ha comportat l'augment en la producció i acumulació de precursors de l'O₃. Aquesta problemàtica té tant un abast local, com es el cas d'algunes grans ciutats, com regional, per exemple a la costa mediterrània. Aquest increment en els nivells d' O₃ a l'atmosfera preocupa per la seva toxicitat. Tant vegetals com animals es veuen afectats per altes concentracions del contaminant, de manera que s'ha convertit en un problema ambiental notable.

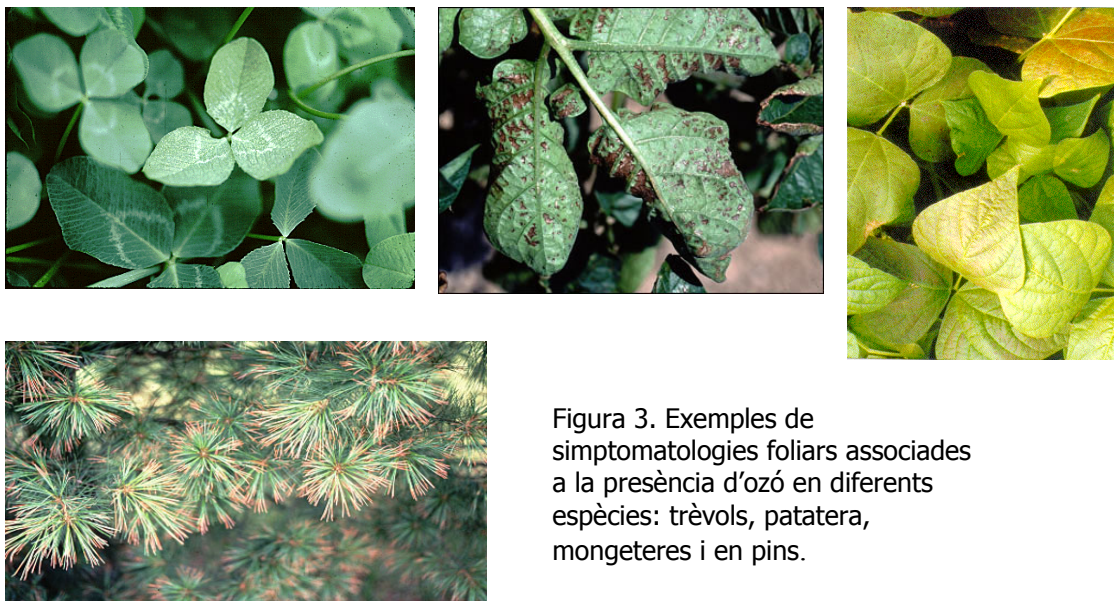


Figura 3. Exemples de simptomatologies foliars associades a la presència d'ozó en diferents espècies: trèvols, patatera, mongeteres i en pins.

En el cas dels animals, els efectes directes de la presència d'ozó estan relacionats amb alteracions del sistema respiratori superior i irritació de les mucoses. En el cas dels vegetals, i com a conseqüència de l'exposició a altes concentracions, es pot produir una reducció del creixement i pèrdues en producció tant en cultius (Krupa et al., 1995; Khan i Soja, 2003) com en espècies forestals (Oksanen, 2003; Bortier, De Temmerman i Ceulemans, 2000).

L'ozó penetra en les fulles a través dels estomes. El dany evoluciona afectant primer les cèl·lules parenquimàtiques i, posteriorment, si l'agressió continua, les del mesòfil. A conseqüència de la mort de les cèl·lules apareixen petits punts o àrees necròtiques, la forma, el color i la intensitat de les quals varien segons l'espècie, la varietat, el temps i la magnitud de l'exposició. Acostumen a ser més intenses a l'anvers, però es poden presentar a ambdues cares. Aquestes taques solen ser de colors metàl·lics marrons o granats que, amb el temps poden arribar a adquirir tonalitats blanquinoses. Les taques s'uneixen i l'evolució del dany arriba a clorosis foliars tot accelerant la caiguda de la fulla. Les fulles més sensibles són aquelles que acaben de completar el seu desenvolupament (Manning i Feder, 1980).

Hi ha una gran quantitat de plantes sensibles a l'ozó (Fig. 3-4). Entre elles, el tabac, la mongeta, el cogombre, la vinya, la patata, l'espinaç, la síndria i el pi blanc. Especialment en el cas del tabac (*Nicotiana tabacum*) s'han estudiat els símptomes associats a l'exposició i els llindars d'afectació al contaminant. Es coneixen tres varietats, Bel-B, Bel-C i Bel-W3, cadascuna de les quals es caracteritza per tenir un llindar d'afectació diferent (Heggestad, 1991). La planta de tabac ha estat amplament utilitzada com a sistema bioindicador d'ozó.



Figura 4. Esquerra: Simptomatologia en plantes de tabac Bel-W3 associada a l'exposició a la presència d'O₃. Superior: sistema d'exposició utilitzat en estacions rurals

Les plantes com a bioindicadors

Als estudis de la contaminació atmosfèrica és tant important mesurar les concentracions dels contaminants com avaluar-ne els efectes. Les metodologies d'anàlisi de l'aire només donen informació sobre les concentracions instantànies, mentre que la mesura en que un episodi específic de contaminació atmosfèrica pot ser nociu no depèn solament de l'exposició i la concentració del contaminant, sinó de les condicions ambientals i de la resistència específica de les plantes exposades. Així, l'ús de sensors físico-químics de contaminació és insuficient per a predir el risc o els efectes de la contaminació. Els organismes són especialment apropiats per a la detecció i avaluació de contaminants aeris perquè poden mostrar els efectes d'aquests contaminants. Per aquesta raó està augmentant l'ús d'organismes indicadors per al seguiment ambiental.

Els bioindicadors de contaminants aeris solen ser plantes que mostren símptomes característics quan s'exposen a diferents concentracions fitotòxiques d'aquests contaminants. Els bioindicadors presenten els següents avantatges:

- són barats i fàcilment reproduïbles
- proporcionen un mètode directe d'estudi dels efectes dels contaminants
- integren els efectes de tots els factors ambientals incloent contaminants i condicions meteorològiques
- es pot relacionar concentració amb efecte
- proporcionen la possibilitat de determinar tendències espacials i temporals en la intensitat dels efectes d'alguns contaminants aeris en plantes conreades i naturals
- en alguns casos, amb plantes acumuladores, permeten l'anàlisi dels compostos contaminants
- constitueixen un sistema sensible d'alarma.

Les plantes indicadores, d'altra banda, no són capaces de donar sempre informació sobre la identitat i concentració de tots els contaminants aeris. Un altre problema (i avantatge a l'hora) en l'ús de bioindicadors és que poden donar-se casos de combinació de diferents contaminants, amb efectes que poden ser additius, sinèrgics o antagònics. D'altra banda, les plantes bioindicadores no són representatives de l'efecte del contaminant per a la totalitat de la vegetació i l'efecte del contaminant en el bioindicador no és comparable a altres espècies de plantes. Per tot això és

aconsellable realitzar els dos tipus de mesures, de concentracions amb monitors físico-químics i d'efectes biològics amb plantes (Posthumus 1984; Guderian 1985). La taula 1 mostra els avantatges i inconvenients de les dues aproximacions.

Taula 1. Comparació de mètodes físico-químics i biològics (Guderian, 1985)

Mètodes físico-químics	Mètodes biològics
Mesura quantitativa dels diferents components atmosfèrics	Avaluació indirecta de l'exposició
Determinació de valors d'emissió i immissió	Determinació de llindars de dany, importants per a la legislació
No avaluen efecte ni risc	Determinació del dany en planta. Indicació del dany produït en un ecosistema
Pronòstic del risc només és possible per als components individuals de la contaminació	Avaluació de l'exposició total, amb possibilitat de determinar l'efecte de la interacció.
Caracterització del perfil de concentracions en el temps.	Expressió dels efectes durant el període de temps. Integració

Bioindicador, biomonitor i bioacumulador

Una planta indicadora és la que mostra símptomes de dany quan és exposada a concentracions fitotòxiques d'un contaminant. En aquest context un bioindicador és, doncs, un sensor que detecta un determinat contaminant a l'aire. Quan, a més, podem tenir una idea quantitativa de l'exposició al contaminant, es tracta d'un biomonitor. Això significa que en un biomonitor ha d'existir una relació entre la resposta de la planta i la concentració del contaminant. De totes maneres, hi ha una gran confusió entre aquests termes a la literatura científica, de manera que aquí només emprarem el terme bioindicador tant en l'accepció qualitativa com per la quantitativa.

Les plantes també poden actuar com un monitor acumulant en els seus teixits el contaminant o algun producte metabòlic de la seva interacció amb la planta. És el que es coneix com bioacumulador. L'anàlisi químic dels seus teixits permet identificar i quantificar aquests contaminants. Un bioindicador ha de complir les següents condicions:

- Els efectes s'han de traduir en respostes clares de les plantes al contaminant.
- Els efectes han de ser reproduïbles, utilitzant plantes de poblacions uniformes genèticament, per a garantir la uniformitat dels resultats.

- Els símptomes han de ser específics per als diferents contaminants.
- Les plantes han de ser fàcils de conrear en condicions estandaritzades, sense problemes de malalties ni plagues.

Abans de dur a terme una campanya de bioindicació és essencial que s'hagin definit i entès les respostes de la planta a un determinat contaminant o barreja de contaminants, tant si es segueix el dany foliar, com la bioacumulació o els canvis en el creixement i la producció. En qualsevol cas ha d'existir una relació dosi-resposta. Aquest es el cas, per exemple, del tabac Bel-W3, un dels bioindicadors de l'ozó més utilitzats (Heggestad, 1991).

Cal distingir els efectes d'exposicions agudes, amb altes concentracions en curts períodes de temps, dels efectes d'exposicions cròniques, amb concentracions baixes durant llargs períodes de temps. Per aquesta raó, és difícil decidir els llindars de toxicitat. Entre els efectes d'episodis aguts s'hi poden trobar clorosis visibles o necrosis del teixit foliar, caiguda de les fulles, flors o fruits, etc. Entre els efectes d'exposicions cròniques s'hi poden trobar retards o alteracions dels cicles de creixement (amb reduccions del creixement, producció i qualitat de les plantes o la collita), clorosis lentes, necrosis foliars i finalment, fins i tot, la mort de la planta.

Bioindicació passiva i bioindicació activa

La bioindicació passiva és la que està basada en els efectes sobre la vegetació nativa o els cultius, exposats al seu hàbitat natural. En canvi, quan s'utilitzen mètodes estandaritzats amb plantes exposades en condicions normalitzades es tracta de bioindicació activa. Al primer cas, i exceptuant l'ús de sistemes d'exposició amb i sense filtració d'aire, tots els paràmetres relacionats amb el bioindicador, com són els factors de creixement interns i externs que influeixen en la resposta, han de ser acceptats, mentre que al segon cas estan parcialment regulats. La bioindicació passiva és útil principalment per a descobrir que s'està produint dany per contaminants, i establir la seva distribució espacial. Malgrat tot, és menys indicada per a la quantificació de l'impacte i el seguiment dels efectes. En condicions naturals el material vegetal és tan heterogeni i les condicions climàtiques i ambientals tan variables que no és gens fàcil fer comparacions. En la bioindicació activa, aquestes dificultats és superen amb el cultiu estandaritzat de plantes, complementat amb sistemes d'exposició també estandaritzats. Per a minimitzar la variabilitat causada per factors externs i interns, s'estandaritzen les

llavors i les condicions de cultiu (principalment sòl, aigua, i disponibilitat de nutrients). Un exemple clàssic d'un procediment amb sistemes de cultiu estandaritzat és el protocol per al tabac Bel-W3 sensible a l'ozó desenvolupat per Heck et al. (1969).

Antecedents de fitotoxicitat i bioindicació de l'O₃ a Catalunya

S'han descrit danys visibles per ozó en alguns conreus al llarg de la zona litoral mediterrània espanyola (Gimeno et al., 1993ab; Peñuelas et al., 1995a; Reinert et al., 1992; Salleras et al., 1989). També s'han dut a terme alguns estudis en cambres de cel obert al Delta de l'Ebre en els que es va trobar que l'ozó afectava negativament la fisiologia i al producció de conreus de síndria i mongeta (Bermejo et al., 1994; Elvira et al., 1992; Gimeno et al., 1993ab, 1995a).

Pel que es refereix a espècies forestals, el pi blanc, espècie mediterrània molt comuna, sembla presentar sensibilitat a l'ozó (Elvira et al., 1995; Velissariou et al., 1992). A tot l'est d'Espanya es van descriure en aquesta espècie la presència de taques cloròtiques característiques atribuïbles a la presència del contaminant (Gimeno et al., 1995b; Peñuelas et al., 1994).

Per a avaluar la fitotoxicitat per ozó a Catalunya es va utilitzar una metodologia estandaritzada: es va establir una xarxa de bioindicadors amb les tres varietats de tabac, Bel-W3, Bel-C i Bel-B, amplament utilitzades en altres països (Heggestad, 1991). L'estudi es va realitzar durant l'estació de creixement del 1994 a diferents localitats catalanes (Peñuelas et al., 1995b).

Els resultats mostraren que les concentracions d'ozó estan per damunt dels nivells de fitotoxicitat, ja que en tots els punts estudiats la varietat Bel-W3 de tabac es va veure afectada. La fitotoxicitat per ozó va ser però superior a les zones costeres on es van observar danys a la varietat més resistent, amb una gradació de fitotoxicitat de l'ozó des de la costa a l'interior. Aquesta tendència podria explicar-se si tenim en compte les variacions en humitat relativa ambiental. Aquests resultats suggereixen la necessitat de redefinir els valors crítics d'ozó depenent de les condicions ambientals.

La bioindicació com a eina. Valors crítics per la vegetació

Nivell I: La concentració d'O₃

En les darreres dècades s'han dut a terme molts experiments per descriure i quantificar els efectes nocius de l'ozó sobre la vegetació. Les primeres observacions a gran escala

van ser realitzades a USA i daten dels anys 1950s amb l'aparició de l'anomenat "declivi forestal". Durant els 1970s i 1980s aquest fenomen va ser observat també a l'Europa Central. Aquestes observacions van donar peu a l'inici de programes de recerca amb l'objectiu d'establir causalitats entre la presència del contaminant i els danys. Es dugueren a terme estudis econòmics sobre la pèrdua de producció anual en conreus amb resultats com l'obtingut per Adams et al. (1989), on s'estimà en 3000 milions de dòlars les pèrdues produïdes per l'ozó. En un intent de generar protocols de control i reducció de les emissions, la UN/ECE LRTAP Convention (United Nations Economic Commission for Europe Long-Range Transboundary Air Pollution) va destinar els seus recursos i els seus esforços a la recerca dels efectes de l'O₃ sobre la vegetació. I es va definir el concepte de nivell crític al UN/ECE workshop a Bad Harzburg, Alemanya el 1988 com *"la concentració d'un contaminant a l'atmosfera per sobre de la qual es poden produir efectes directes negatius segons els coneixements actuals sobre els receptors ja siguin individus, ecosistemes o materials"*. Des del 1988, s'han dut a terme molts estudis per establir els nivells crítics d'O₃ per la vegetació Europea. Entre ells destaquen els que han pretès la identificació d'índexs d'exposició adequats (per exemple la mitjana de 8 hores, la mitjana de 8 hores només en el període de creixement, o les concentracions acumulades en el període de creixement per sobre d'un dintell, entre d'altres) i mesures de la resposta (per exemple, reduccions de la producció o en l'increment de biomassa) per grups i espècies diferents (Fig. 5).

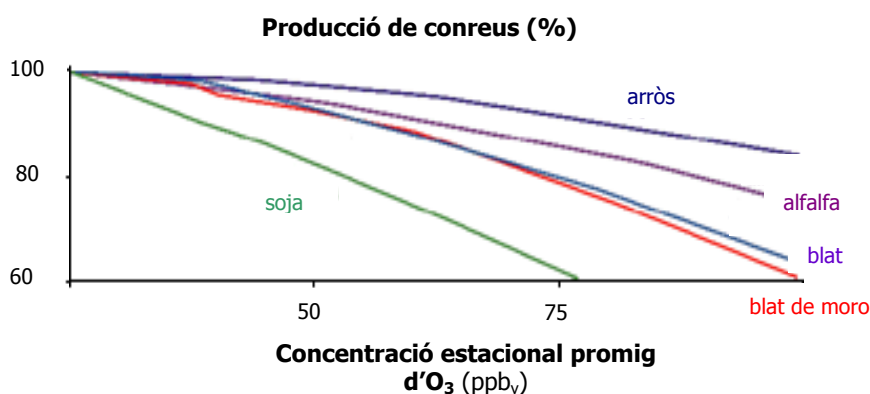


Figura 5. Alguns cultius presenten sensibilitats més acusades a elevades concentracions d'O₃. Aquest gràfic està extret d'un estudi del Environmental Protection Agency i mostra la reducció en la producció d'alguns cultius exposats a O₃. A una concentració d'O₃ de 60 ppbv, la soja presenta pèrdues en la producció de aprox. 25 %, mentre que el blat, el blat de moro i l'alfalfa presenten pèrdues del 10%. (Gràfic de Adams et al., 1989, basat en dades del the National Crop Loss Assessment Network).

Les dades resultants de diferents programes de recerca Europeus varen ser compilades i analitzades al UN/ECE workshop celebrat a Kuopio, Finlàndia el 1999. Com a resultat es van establir el nivell crític de tipus I que es descriuen en la Taula 2. Aquests valors de "Nivell I" utilitzen el paràmetre AOT40 (Accumulated Ozone dose over 40 ppb_v) per caracteritzar la relació entre exposició i dany en la planta. Aquests valors de Nivell I estan destinats a protegir les espècies més sensibles sota les condicions ambientals que es sensibilitzin. Per tant, l'assoliment d'aquests nivells crítics només actua lcom una indicació de risc de dany en la vegetació. El grau de assoliment no es pot utilitzar per quantificar el risc de dany relatiu d'aquesta vegetació en diferents àrees i condicions ambientals d'Europa (Fuhrer et al., 1997).

Table 2. Nivells crítics de tipus I per vegetació Europea (Kärenlampi i Skärby, 1996).

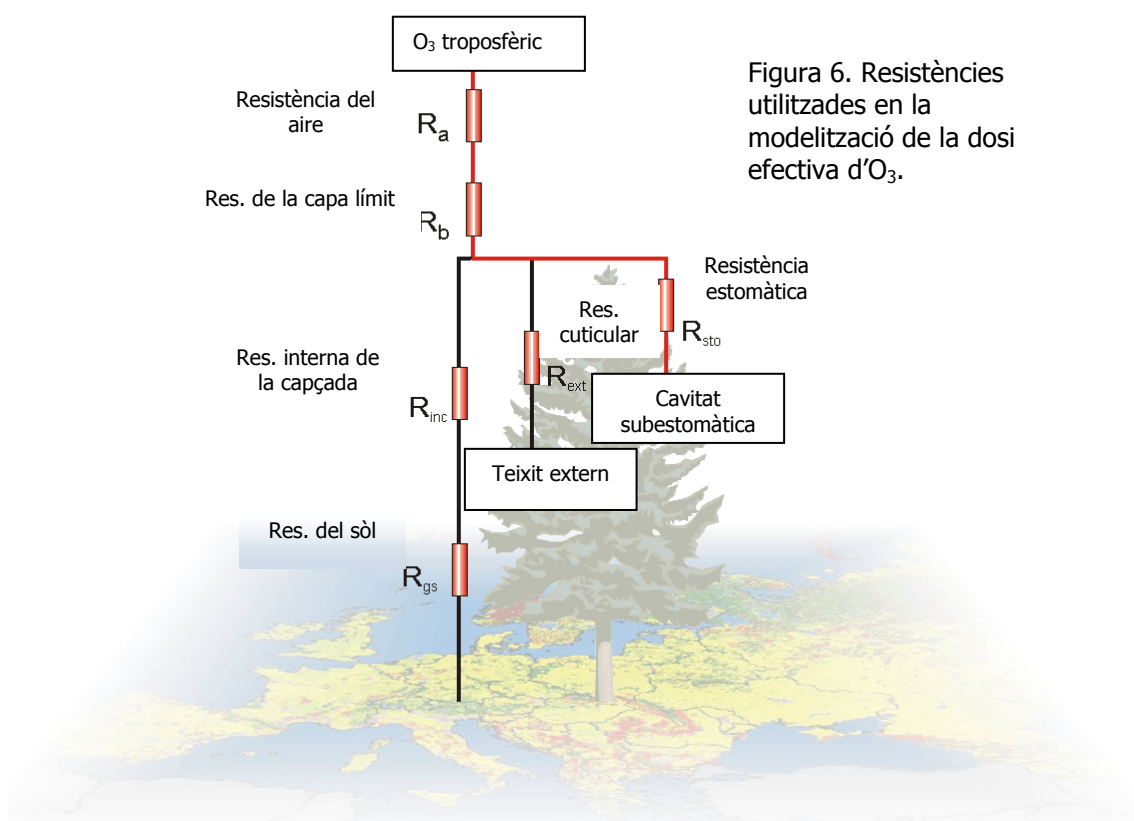
Vegetació	Nivell crític
Espècies conreades	AOT40 de 3000 ppb _v ·h acumulades en hores diürnes en un període de 3 mesos consecutius
Espècies forestals	AOT40 de 10,000 ppb _v ·h acumulades en hores diürnes en un període de 6 mesos consecutius

Nivell II: La dosi d'O₃

Un dels efectes de l'ozó està associat al desgast de les cutícules. Però l'acció més important té lloc després que el contaminant entra per l'estoma. Així, l'entrada del contaminant (i per tant la sensibilitat d'un determinat individu o espècie) està molt relacionada amb les seves característiques estomàtiques. Així, la concentració d'ozó *per se* no és tant important per descriure l'impacte sobre la vegetació o la fitotoxicitat de l'ozó, com la taxa de captació o dosi. Així, en els últims anys la recerca sobre els efectes de l'ozó s'han centrat en desenvolupar mètodes per definir els nivells crítics de tipus II. En aquest Nivell II s'intenta definir el concepte de dosi efectiva d'O₃ per la planta, factor depenent de factors tant genètics com ambientals. S'han desenvolupat alguns models per descriure aquesta dosi efectiva per algunes espècies europees tant arbòries com de conreu. D'una manera generalitzada aquests models intenten calcular

la conductància estomàtica com a funció del tipus d'espècie, la fenologia, i variables ambientals com la radiació, la temperatura, el contingut hídric del sol i de l'atmosfera. Des del primer model descrit per Jarvis (1976) fins als utilitzats actualment com EMEP (Simpson, 1995) PLANTIN/WINDEP (Grünhage i Haenel, 1997) tots es basen en la parametrització de multiplicitat de conductàncies (o resistències) que troba el contaminant en el seu camí des de l'atmosfera fins a l'interior de la fulla. La figura 6 descriu algunes de les vies per les que l'O₃ és retirat de l'atmosfera i entra a la fulla. Per les extrapolacions a tota la capçada s'utilitza el LAI (Índex d'Àrea Foliar). Altres aproximacions en la recerca actual es basen en la incorporació del concepte de deposició d'O₃ en parts externes de les plantes, com cutícules o escorça, etc., o al sol.

Estudis recents (Baumgarten et al., 2000; Pleijel et al., 2000) mostren cada vegada més la millora en la descripció del risc relatiu del dany en plantes utilitzant mètodes de Nivell II en front les limitacions dels índexs de Nivell I, com l'AOT40.



Efectes ecofisiològics de l'O₃

El dany produït per l'O₃ no sempre té senyals visibles. Un cop han passat per l'estoma, les molècules d'ozó poden reaccionar amb compostos de la paret cel·lular i de l'apoplast de les cèl·lules que embolcallen la cavitat estomàtica. La major part de l'ozó reacciona aquí i dona lloc a una sèrie de radicals lliures que poden danyar el plasmalema. Un dels factors determinants de la sensibilitat d'una espècie és la seva capacitat per produir substàncies antioxidants, com per exemple l'àcid ascòrbic o l' α -tocoferol capaces de defensar-la davant d'aquests radicals lliures.

En canvi no es coneixen bé les vies específiques d'actuació de l'ozó en les cèl·lules vegetals. Malgrat això alguns indicis apunten la possibilitat que l'ozó inestabilitzi els components de la membrana cel·lular, tant lípids com proteïnes. S'han descrit efectes fisiològics com el descens en la taxa fotosintètica, canvis en la conductància estomàtica, canvis en l'eficiència en l'ús de l'aigua, canvis en el metabolisme secundari com ara la formació de compostos derivats de les quinones (Howell i Kremer, 1973), activació de proteïnes de defensa (Schraudner et al., 1992), inducció a la biosíntesis d'estilben (Rosemann et al., 1991) o l'activació de les vies de formació d'etilè (Langebartels et al., 1990), canvis fenològics, reduccions en el nombre de flors i fruits, o l'acceleració de la senescència. Com a resultat integrat de tot això s'han descrit discriminacions del creixement i la producció. Tota l'energia destinada als mecanismes de reparació cel·lular i els efectes sobre la longevitat de les fulles influeixen negativament en els balanços de carboni de la planta.

També han estat estudiats efectes d'interacció amb altres estressos. Les altes dosis d'O₃ sembla que augmenten la sensibilitat a altres estressos com plagues, malalties i sequera. Aquest últim, la sequera, és actualment especialment vigent dins la redefinició de nivell crític car forma part de les característiques de climes com el mediterrani, on conviuen ambdues problemàtiques, ozó i sequera. La diversitat de resultats obtinguts en estudis d'interacció d'ambdós estressos porta a un discurs controvertit i poc clar de quins són els efectes de la seva interacció. S'han descrit tant efectes antagònics com sinèrgics.

Tot i que s'han mostrat els efectes negatius sobre diferents espècies i en diferents condicions ambientals, encara queden molts dubtes per resoldre sobretot quan volem extrapolar al camp els resultats obtinguts en condicions controlades. Així és encara difícil respondre preguntes concretes sobre quin és l'impacte real de l'O₃ sobre l'ecosistema. Els ecosistemes naturals són complexos i variables, i aquesta variabilitat

s'exten en escales temporals i espacials a més d'escales de complexitat estructural (individu, varietat, subespècie, i espècies...).

Breu descripció de les cambres a cel obert (OTC, "Open Top Chambers") utilitzades

Per poder descriure els efectes i simptomatologies associades a l'exposició d'O₃ i altres contaminants s'empren cambres de creixement sotmeses a condicions controlades. En els estudis d'O₃ han estat amplament emprades les OTC (cambres de cel obert). En el cas dels nostres experiments les cambres utilitzades estan formades per tres rotllanes metàl·liques de 3 m de diàmetre, reforçades per una sèrie de barres obliqües. Sobre la rotllana superior es disposa un con truncat (*frustum*) que restringeix l'entrada d'aire per l'obertura superior. La meitat inferior està formada per una doble capa de plàstic. La làmina interna presenta uns 300 orificis de 2.5 cm de diàmetre que permeten l'entrada i millor difusió de l'aire cap a l'interior de la cambra. La làmina externa es prolonga exteriorment per un tub d'uns 45 cm de diàmetre que connecta amb un ventilador (marca S&P, potencia 0.5 CV i 2500 rpm) per impulsar l'aire cap l'interior de les cambres (Figura 7). Les dimensions de la cambra són de 3 m d'alçada per 3 m de diàmetre en el cilindre central que es converteixen en 2.1 m a la part superior.

L'aire difon a través dels forats de la part inferior i surt pel *frustum* aprofitant "l'efecte xemeneia". D'aquesta manera es genera un flux vertical que permet per una banda la distribució homogènia de l'aire a la cambra i per l'altra impedeix l'entrada d'aire per la part superior. L'estructura de la cambra i la potència dels motors, permeten la renovació de l'aire de la cambra tres vegades per minut (cabdal: 71 m³min⁻¹).

El ventilador està protegit per un filtre de partícules (FAR mod. 30/30). En el cas dels tractaments d'aire filtrat (AF) es col·loquen a més una bateria de 16 filtres de carbó actiu (tipus NORITENE marca R.B.), amb una eficiència teòrica de filtració d'ozó del 90 % (Pujadas i Terés, 1991).

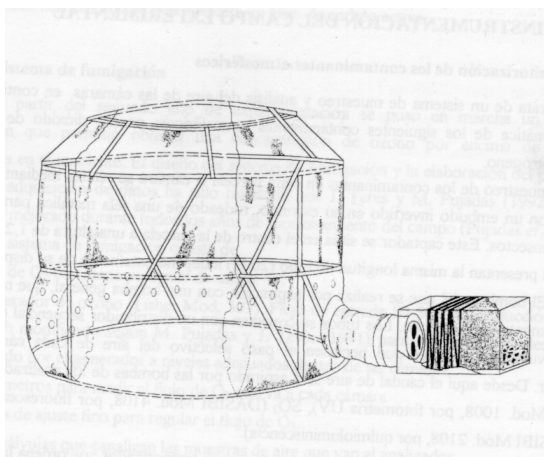


Figura 7. Esquema d'una cambra de cel obert (OTC).

Objectius generals

En aquesta tesis s'han establert uns objectius generals tractats en cadascun dels següents tres capítols:

1. Descripció de les concentracions d' O₃ a Catalunya: tipus de patrons temporals segons tipologies d'estacions o hàbitats.
2. Descripció de la fitotoxicitat de l'O₃ a Catalunya. Estudis de bioindicació.
 - a) Desenvolupament d'una metodologia d'estudi.
 - b) Descripció de les variacions temporals i espacials de la fitotoxicitat a Catalunya.
 - c) Efectes de modulació de les variables ambientals sobre aquesta fitotoxicitat.
3. L'ecofisiologia de la fitotoxicitat.
 - a) Descripció dels efectes ecofisiològics de l'O₃ que expliquen les diferents fitotoxicitats sobre algunes espècies Mediterrànies
 - b) Descripció dels efectes d'interacció entre l'O₃ i la disponibilitat d'aigua, habitualment restringida als ecosistemes mediterranis.

Treballs duts a terme durant el període de formació

Dins del marc d'aquesta tesis s'han desenvolupat els següents treballs:

Articles a revistes científiques

- PEÑUELAS J., IDSO S., RIBAS A., KIMBALL B. 1997. Effects of long-term atmospheric CO₂ enrichment on mineral concentration of *Citrus aurantium* leaves. *New Phytologist* 135, 439-444.
- RIBAS A., FILELLA I., GIMENO B., PEÑUELAS J., 1998. Evaluation of tobacco cultivars as bioindicators and biomonitors of ozone phytotoxic levels in Catalonia. *Water, Air, and Soil Pollution* 107, 1-4.
- INCLAN R., RIBAS A., PEÑUELAS J., SANCHEZ-GIMENO B., 1999. On the relative sensitivity of different mediterranean plant species to ozone exposure. *Water, Air and Soil Pollution* 116, 273-277.
- PEÑUELAS J., RIBAS A., GIMENO B.S., FILELLA I., 1999. Dependence of ozone biomonitoring on meteorological conditions of different sites in Catalonia (NE Spain). *Environmental Monitoring and Assessment* 56, 221-224.

- MILLS G., BALL G., HAYES F., FUHRER J., SKÄRBY L., GIMENO B., De TEMMERMAN L., HEAGLE A., MEMBERS OF THE ICP VEGETATION PROGRAMME, 2000. Development of a multi-factor model for predicting the effects of ambient ozone on the biomass of white clover. *Environmental Pollution* 109, 533-542.
- RIBAS A., PEÑUELAS J., 2000. Antioxidants as protectors of ozone damage in *Phaseolus vulgaris*. *Water, Air and Soil Pollution* 117, 263-271.
- KLUMPP A, ANSEL W., KLUMPP G., BELLUZZO N., CALATAYUD V., CHAPLIN N., GARREC J.P., GUTSCHE H.-J., HAYES M., HENTZE H.-W., KAMBEZIDIS H., LAURENT O., PEÑUELAS J., RASMUSSEN S., RIBAS A., RO-POULSEN H., ROSSI S., SANZ M.J., SHANG H., SIFAKIS N., VERGNE P., 2002. EuroBionet: A pan-european biomonitoring network for urban air quality assessment. *Environmental Science and Pollution Research* 9, 199-203.
- RIBAS A., PEÑUELAS J., 2003. Biomonitoring of tropospheric Ozone phytotoxicity in rural Catalonia. *Atmospheric Environment* 37(1), 63-71.
- PEÑUELAS J., FILELLA I., ESTIARTE M., LLUSIÀ J., OGAYA R., RIBAS A., LLORENS L., MANGIRON M., MUNNÉ-BOSCH S., BRUNA P., PRIETO P., ASENSIO D., SARDANS J., SERRANO L., OLIVEIRA G., CASTELLS E., RODÀ F., LLORET F., TERRADAS J. Passeig ecofisiològic per l'espai i pel temps: l'estudi de les alteracions produïdes pels canvis climàtics i atmosfèrics en l'estructura i el funcionament de les plantes i dels ecosistemes terrestres. Treballs Societat Catalana de Biologia *in press*.
- RIBAS A., PEÑUELAS J., 2004. Temporal patterns of surface ozone levels in different habitats of the North Western Mediterranean basin. *Atmospheric Environment*, *in press*.
- FILELLA I., PEÑUELAS J., RIBAS A., 2004. Using biomonitors and modelling to develop O₃ dose-response curves in Catalonia. *Environmental Pollution*, submitted.
- RIBAS A., PEÑUELAS J., ELVIRA S., GIMENO B.S., 2004. Ozone exposure induces the activation of senescence-related processes and morphological changes in Mediterranean tree species. *Environmental Pollution*, submitted.
- RIBAS A., PEÑUELAS J., ELVIRA S., GIMENO B.S., 2004. Species specific interactive effects of ozone and reduced water supply on ecophysiology and biomass in two Mediterranean tree species. *Environmental Pollution*, submitted.
- Proceedings, Informes i Monografies*
- RIBAS A., FILELLA I., LLUSIA J., PENUELAS J., 1995. Informe sobre la fitotoxicitat de l'ozo a Catalunya. Departament de Medi Ambient, Generalitat de Catalunya. 77p.
- PEÑUELAS J., RIBAS A., BLASCO J., PORCUNA J.L., GIMENO B.S. 1997. Evaluation by bioindicators of ozone phytotoxicity in Catalonia and Valencia regions. I Technical Workshop on Tropospheric ozone pollution in Southern Europe. València.
- PEÑUELAS J., RIBAS A., FILELLA I., GIMENO B.S., 1997. Ozone damage dependence on meteorology. "Advance data analysis for modelling and assessment of biogeochemical

- effects of air pollution in temperate ecosystems". CIEMAT, Madrid.
- INCLAN R., RIBAS A., PEÑUELAS J., GIMENO B.S., 1998. Screening of ozone-sensitivity in several mediterranean species. *Water, air and soil pollution in forests*. IUFRO. Pp. 203-211.
- RIBAS A., PEÑUELAS J., GIMENO B.S., FILELLA I. 1998. Climate change and plant ozone damage in the Mediterranean region. *The Earth Changing Land*. GCTE-LUCC Open Science Conference on Global Change, Barcelona, March 1998. pp. 187.
- ELVIRA S., BERMEJO V., ALONSO R., RIBAS A., PEÑUELAS J., GIMENO B.S., 2000. Effects of long-term ozone exposure on net photosynthesis of several mediterranean *Quercus* species. *Air Pollution, Global Change and Forest in the New Millenium*. The 19th International Meeting for Specialists in Air Pollution Effects and Forest Ecosystems. Michigan Technological University, Houghton, Michigan, USA, May 28-31, 20000.
- RIBAS A., ELVIRA S., GIMENO B.S., DIAZ-DELGADO R., PEÑUELAS J. 2000. Ozone effects on Mediterranean natural vegetation of Catalonia (NE Spain). In: "Mediterranean-type Ecosystems: Past, Present and Future", Proceedings of MEDECOS, Stellenbosch, South Africa, September 2000.
- RIBAS A., PEÑUELAS J. 2002. Ozone bioindication in Barcelona and surrounding area of Catalonia. In: Klumpp A., Fomin A., Klumpp G., Ansel W., (Eds.), *Bioindication and Air Quality in European Cities*. Third Hohenheim Workshop on Bioindication, 2001. Verlag Günter Heimbach Stuttgart, pp. 221-226.
- PEÑUELAS J. FILELLA I., ESTIARTE M., LLUSIA J., OGAYA R., RIBAS A., LLORENS L., MANGIRON M., MUNNE S., BRUNA P., SARDANS J., PRIETO P., ASENSIO D., 2002. Plant Ecophysiological studies in the frame of global changes: upscaling from molecule to environment, or walking across space and time. In: Roubelakis K.A. (Ed.), 13th Congress of the Federation of European Societies of Plant Physiology, Crete, Greece.
- PEÑUELAS J., AVILA A., ESTIARTE M., FILELLA I., GRACIA C., LLORENS L., LLORET F., LLUSIÀ J., MANGIRÓN M., MARTÍNEZ-VILALTA J., MUNNÉ S., OGAYA R., PEÑUELAS J., PIÑOL J., PLA E., RIBAS A., SABATÉ S., SÁNCHEZ A., RODRIGO A., SERRANO L., 2003. Ecologia funcional i efectes ecològics dels canvis ambientals globals. In CREAF 1998-2003. Centre de Recerca Ecològica i Aplicacions Forestals (Ed.) ISBN: 84-932860-4-4. pp 30-50.
- RIBAS A., PEÑUELAS J. 2004. Ozone biomonitoring in rural stations of Catalonia (NE Spain). In: Klumpp A., Fomin A., Klumpp G., Ansel W. (Eds.), *Conference on Urban Air Pollution, Bioindication and Environmental Awareness*, 2002. Verlag Günter Heimbach Stuttgart, *in press*.

References

- Adams R.M., Glycer J.D., Johnson S.L., Mccarl B.A., 1989. A reassessment of the economic-effects of ozone on united-states agriculture. *The Journal of the Air & Waste Management Association* 39 (7), 960-968.
- Baumgarten M., Werner H., Häberle K.-M., Emberson L.D., Fabian P., Matyssek R., 2000. Seasonal ozone response of mature beech trees (*Fagus sylvatica*) at high altitude in the Bavarian forest (Germany) in comparison with young beech grown in the field and in phytotrons. *Environmental Pollution* 109, 431-442.
- Bortier K., De Temmerman L., Ceulemans R., 2000. Effects of ozone exposure in open-top chambers on poplar (*Populus nigra*) and beech (*Fagus sylvatica*): a comparison. *Environmental Pollution* 109 (3), 509-516.
- Bermejo V., Barnes J.D, Elvira S., Alonso R., Gimeno B.S., Davison A., 1994. Ozone-induced physiological effects on some crops in eastern Spain. In Jäger H.J., Unsworth M., De Temmerman L., Mathy P. (Eds.), *Effects of air pollution on agricultural crops in Europe*. CEC Air Pollution Research Report 46. Pp 483-486.
- Chameides W.L., Lodge J.P., 1992. Tropospheric ozone: formation and fate, in Lefohn A.S., (Ed.), *Surface Level Ozone Exposures and Their Effects on Vegetation*. Lewis Publisers, Chelsea, MI. Pp. 5-30.
- Elvira S., Alonso R., Quejido A., Gimeno B.S., Bermejo V., 1992. Efectos del ozono sobre *Phaseolus vulgaris* L. var Lit en el Delta del Ebro (Tarragona), in *Contaminación: Efectos fisiológicos y mecanismos de actuación de contaminantes*. IV Simposio Nacional sobre nutrición mineral de las plantas. Universidad de Alicante. Alicante. Pp. 343-356.
- Elvira S., Alonso R., Inclán R., Bermejo V., Castillo F.J., Gimeno B.S., 1995. Ozone effects on Aleppo pine seedlings (*Pinus halepensis* Mill.) seedlings grown in open-top chambers. *Water, Air and Soil Pollution* 85, 1387-1392.
- Fuhrer J., Skärby L., Ashmore M.R., 1997. Critical levels for ozone effects on vegetation in Europe. *Environmental Pollution* 97, 91-106.
- Gimeno B.S., Bermejo V., Salleras J. M., Tarruel A., Reinert R., 1993a. Ozone effects the yield of watermelon and two bean cultivars grown at the Ebro Delta. In Jäger H.J., Unsworth M., De Temmerman L., Mathy P. (Eds.), *Effects of air*

- pollution in agricultural crops in Europe. CEC Air Pollution Research Report 46. Pp 515-518.
- Gimeno B.S., Salleras J.M^a., Porcuna J.L., Reinert R., Velissariou D., Davison A. 1993b. Assessment of ozone-induced visible injury on different commercial crops along the Spanish eastern Mediterranean coast. A survey. In Jäger H.J., Unsworth M., De Temmerman L., Mathy P. (Eds.), Effects of air pollution on agricultural crops in Europe. CEC Air Pollution Research Report 46. Pp. 511-514.
- Gimeno B.S., Salleras J.M^a., Porcuna J.L., Reinert R., Velissariou D., Davison A. 1995a. The use of watermelon as an ozone bioindicator. In Bioindicators of environmental health. Munawar M., Hänninen O., Roy S., Munawar N., Karenlampi L., Brown D. (Eds.) SPB Academic Publishing, Amsterdam, The Netherlands.
- Gimeno B.S., Peñuelas J., Porcuna J.L., Reinert R. 1995b. Biomonitoring ozone phytotoxicity in eastern Spain. *Water, Air and Soil Pollution* 85, 1521-1526.
- Guderian R., 1985. Air pollution by photochemical oxidants. In Guderian, R. (Ed.), Air pollution by photochemical oxidants. Formation, transport, control and effects on plants. Ecological Studies, Springer-Verlag.
- Grünhage L., Haenel H.-D., 1997. PLATIN (PLant-ATmosphere INteraction) I: a model of plant-atmosphere interaction for estimating absorbed doses of gaseous air pollutants. *Environmental Pollution* 98, 37-50.
- Heck W.W., Fox F.L., Brandt C.S., Dunning J.A., 1969. Tobacco, a sensitive monitor for photochemical air pollution. National Air Pollution Control Administration. Publ.# AP-55, 23pp.
- Heggestad H. E., 1991. Origin of Bel-W3, Bel-C and Bel-B tobacco varieties and their use as indicators of ozone. *Environmental Pollution* 74, 264-291.
- Howell R.K., Kremer D.F., 1973. The chemistry and physiology of pigmentation on leaves injured by air pollution. *Journal of Environmental Quality* 2, 434-438.
- Jarvis P.G., 1976. The interpretation of the variations in leaf water potential and stomatal conductance found in canopies in the field. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* 273, 593-610.
- Kärenlampi L., Skärby L. (Eds.), 1996. Critical Levels for Ozone in Europe: Testing and Finalising the Concepts. UN/ECE Workshop Report. University of Kuopio, Department of Ecology and Environmental Science, Kuopio, Finland.

- Krupa S.V., Grünhage L., Jager H.J., Nosal M., Manning W.J., Legge A.H., Hanewald K., 1995. Ambient ozone (O₃) and adverse crop response - A unified view of cause and effect. *Environmental Pollution* 87 (1), 119-126.
- Khan S., Soja G., 2003. Yield responses of wheat to ozone exposure as modified by drought-induced differences in ozone uptake. *Water, Air and Soil Pollution* 147 (1-4), 299-315.
- Langebartels C., Kremer K., Leonardi S., Schrauder M., Trost M., Heller W., Sandermann H., 1991. Differential induction of polyamine and ethylene biosynthesis in Tobacco. In *Biochemical plant responses to ozone*. *Plant Physiology*, 95, 882-889.
- Manning W.J., Feder W.A., 1980. *Biomonitoring air pollutants with plants*. Applied Science Publishers LTD. 142 pp.
- Oksanen E., 2003. Responses of selected birch (*Betula pendula* Roth) clones to ozone change over time. *Plant, Cell and Environment* 26 (6), 875-886.
- Peñuelas J., Ribas M., Gonzalez-Meler M., Azcón-Bieto J., 1994. Water status, photosynthetic pigments, C/N ratios and respiration rates of Stika spruce seedlings exposed to 70 ppb_v ozone for a summer. *Environmental and Experimental Botany* 34(2), 443-449.
- Peñuelas J., Filella I., Elvira S., Inclán R., 1995a. Reflectance assessment of summer ozone fumigated Mediterranean white pine seedling. *Environmental and Experimental Botany* 35(3), 299-307.
- Peñuelas J., Filella I., Gimeno B.S., 1995b. La fitotoxicitat de l'ozó troposfèric a Catalunya avaluada amb plantes de tabac biosensores. *Butlletí de la Institució Catalana d'Història Natural* 63, 133-140.
- Pleijel H., Danielsson H., Karlsson G.P., Gelang J., Karlsson P.E., Selldén G., 2000. An ozone flux-response relationship for wheat. *Environmental Pollution* 109, 453-462.
- Posthumus A.C., 1984. Monitoring level and effects of air pollutants. In *Air pollution and plant life*. M Treshow Ed. John Wiley & Sons.
- Pujadas M., Terés J., 1991. *Diseño y Montaje de Sistemas de Fumigación*. CIEMAT, Madrid.

- Reinert R., Gimeno B.S., Bermejo V., Ochoa M.J., Tarruel S.A., 1992. Ozone effects on watermelon plants at the Ebro delta (Spain) Symptomatology. *Agr. Ecosys. Environ.* 38 (1-2), 41-49.
- Rosemann D., Heller W., Sandermann H.Jr., 1991. Induction of stilbene biosynthesis in scots pine (*Pinus sylvestris L.*) seedlings. In *Biochemical plant responses to ozone*. *Plant Physiology* 97, 1280-1286.
- Salleras J. M., Gimeno B. S., Bermejo V., Ochoa M. J., Tarruel S.A., 1989. Evolución del ozono y de la sintomatología de sus efectos sobre sandias y otros cultivos en el delta del Ebro durante 1988 y 1989. *Fruticultura Profesional* 26, 127-136.
- Schraudner M., Ernts D., Langebartels C., Sandermann H.Jr., 1992. Activation of the defense-related proteins β -1,3-glucanase and chitinase in tobacco leaves. In *Biochemical plant responses to ozone*. *Plant Physiology* 99, 1321-1328.
- Simpson D., 1995. Biogenic emissions in Europe, 2. Implications for ozone control strategies. *Journal of Geophysical Research* 100, 22891–22906.
- Stockwell W.R., Kramm G., Scheel H.E., Mohnen V.A., Seiler W., 1997. Ozone formation, destruction and exposure in Europe and the United States, in: Sandermann H., Wellburn A.L., Heath R.L. (Eds.), *Forest Decline and Ozone, ecological Studies*, vol. 127, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 1997, pp.1-38.
- Velissariou D., Davison A.W., Barnes J.D., Pfirman T., Holevas C.D., 1992. Effects of air pollution on *Pinus halepensis* Mill. Pollution levels in Attica, Greece. *Atmospheric Environment* 26, 373-380.

Chapter 1.

Ozone in Catalonia: Temporal patterns of surface ozone levels in different habitats

Àngela Ribas and Josep Peñuelas

Summary

A systematic temporal analysis of surface ozone observations in four sites representative of the main types of habitats: coast, mountain, inland and urban in the North Western Mediterranean basin is presented here for the period between 1994 and 2001. Concentrations were relatively high, especially in the coastal site where the European human and plant protection thresholds were surpassed an average of 54 days per year and 297 days per year respectively. We observed a 22% decrease in the ozone concentrations along the past decade in the coastal site, a 14 % increase in the mountain site, and no significant change in the inland and urban sites. The annual cycle of ozone in the coastal site (maximum concentrations in spring) was typical of areas with higher influences of background ozone, whereas in the other sites, the broad spring-summer maximum indicated dominance of local photochemical production. The site differences were also evident in their diurnal cycles, which were very evident in all sites except in the coastal one. There was thus significant variability among the monitoring sites, due to both the influence of local and background sources and the complex orographic and meteorological conditions of this region.

Keywords: Annual pattern, daily pattern, Mediterranean region, regional photochemical pollution, tropospheric ozone.

Introduction

In Europe, increasing ozone concentrations are observed from Scandinavia and Britain to south-central Europe (Beck and Grennfeld, 1993; Lelieveld et al., 2002). The high levels of solar irradiation observed in the Mediterranean, in combination with the anthropogenic and biogenic ozone precursors, favour photochemical ozone production. There are many rural air pollution monitoring stations in central and northern Europe providing a satisfactory picture of the spatial distribution of surface ozone concentrations but there are fewer systematic measurements for the Mediterranean basin (Glavas, 1999; de Leeuw, 2000). Previous measurements have shown high ozone concentrations in this Mediterranean region (Gimeno et al., 1995; Ziomas et al., 1998; Ribas and Peñuelas, 2000; Sanz et al., 2000), but they are still scarce and need detailed temporal and spatial analysis, especially in Spain, where the experimental evidence of oxidants and precursors is limited (Dueñas et al., 2002).

Chemistry transport model simulations (Lelieveld and Dentener, 2000) suggest that in the free troposphere, on average, 20 to 40 % of the O₃ originates from the stratosphere. The rest is photochemically produced within the troposphere, and about half of this latter ozone is anthropogenic. In the boundary layer in the Mediterranean region during summer, about 90 % of the O₃ is formed *in situ*, with an anthropogenic fraction of about 75% (Lelieveld et al., 2002). On Northern mid-latitudes, and until last decade an increase of about 10% per decade in ground-level ozone concentration has been reported (London and Liu, 1992). This increase was attributed primarily to the increase of anthropogenic ozone precursors (Volz and Kley, 1988; Staehelin et al., 1994).

The photochemical origin and the reactive nature of ozone produce large temporal and spatial variations in its ambient concentrations (PORC, 1997). Ozone is a reactive atmospheric chemical that is influenced in many ways by its sources, sinks, and chemical reactions. As a result of those complex series of reactions enhanced by temperature and sunlight, ozone exhibits significant variations in space and time (hourly, daily, seasonally, and annually). Chemical reactions involving ozone formation and removal occur within a time scale of a few hours, over corresponding spatial scales of tens of kilometres. Ozone lifetime is typically a few weeks in summer and a few months in winter, during which ozone can be transported hundreds to thousands of kilometres. Measurements of surface ozone clearly show an annual cycle with a distinct maximum usually in spring-summer. Annual variation in ozone concentration apparently depends on a multitude of factors, such as proximity to large source areas of ozone precursors (mainly NO_x and volatile

organic compounds (VOC_s), geographical location and meteorological factors (Logan, 1985). The annual cycle of ozone over mid-latitudes shows two main kinds of seasonal behaviour, with either a broad summer maximum typical of populated and industrialized areas, or with a spring maximum typical of remote regions and associated to background conditions (Monks, 2000). The broad summer maximum is generally attributed to local photochemical productions (Lefohn, 1992; Logan, 1985) whereas the spring maximum origin is more controversial, although it is increasingly attributed to enhanced photochemical activity resulting from increased solar radiation acting upon a pool of NO_x and VOC_s accumulated during the winter period (Simpson, 1995). The magnitude of the annual maximum seems to have increased in certain locations of Europe over the last couple of decades (Monks, 2000).

A good way of unravelling the dynamics of ozone is by examining its diurnal pattern. The diurnal cycle of chemical formation and destruction is driven by the pattern of NO_x and HC emissions (Peleg et al., 1997), as well as by solar radiation. In rural areas, photooxidant (NO₂+O₃) levels depend on NO_x emissions (Sillman et al., 1990), even linearly in some cases (Wang et al., 2001). By contrast, the photochemistry over a large city mostly exhibits a negative response to NO_x emissions, although there are also meteorological conditions, those in which the dispersion plays a key role, under which the photochemistry becomes positively related to NO_x emissions (Honoré et al., 2000).

Controlling air quality has turned out to be of primary importance as many sites violate air quality standards, especially with respect to photo-oxidant (NO₂ and O₃) levels. Atmospheric ozone guidelines or standards are proposed or are already in effect in several countries. In Europe, the critical levels are calculated on the basis of the World Health Organisation instructions. Currently critical level for protection of human health is 110 µg m⁻³ for 8-hour mean concentration (European Parliament Council Directive 2002/3 EC, Official Journal of the European Communities L67/14 09.03.2002). For plant protection, the accepted threshold value is 65 µg m⁻³ for 24-hour mean concentration. However, accumulated exposure thresholds such as AOT40 (accumulated over threshold 40 ppb_v) of 3000 ppb_v h (for O₃ 1 ppb_v = 1.96 µg m⁻³ at 20°C and 101.325 kPa) during daily hours for 3 consecutive months in growing season are more commonly used for agricultural and semi-natural vegetation (Kärenlampi and Skärby, 1996).

We aimed to study in detail the surface O₃ concentrations in Catalonia as representative of the Mediterranean North Western Mediterranean basin region. We focused on the temporal patterns (diurnal, annual, and decadal) and the description of typical habitats (coast, mountain, inland and urban) patterns. An additional aim was to

investigate the number of days exceeding the European thresholds for human and plant protection in the studied sites of this region.

Material and methods

We analysed 8-yr half-hourly ozone data recorded in Catalonia (NE Iberian Peninsula) between 1994 and 2001. We selected four monitoring stations: Begur, Bellver, Juneda and Barcelona, as representative of the main types of stations: coastal, mountain, inland and urban (Fig. 1). They cover a variety of environmental conditions ranging from sea level (Barcelona, 41° 25'N 2° 11'E) to 1040 meters of altitude (Bellver 42° 22'N 1° 46'E) and from sea-shore (Begur 41° 57'N 3° 12'E) to 200 km inland (Juneda 41°N 33' 0° 49'E) (Fig. 1).

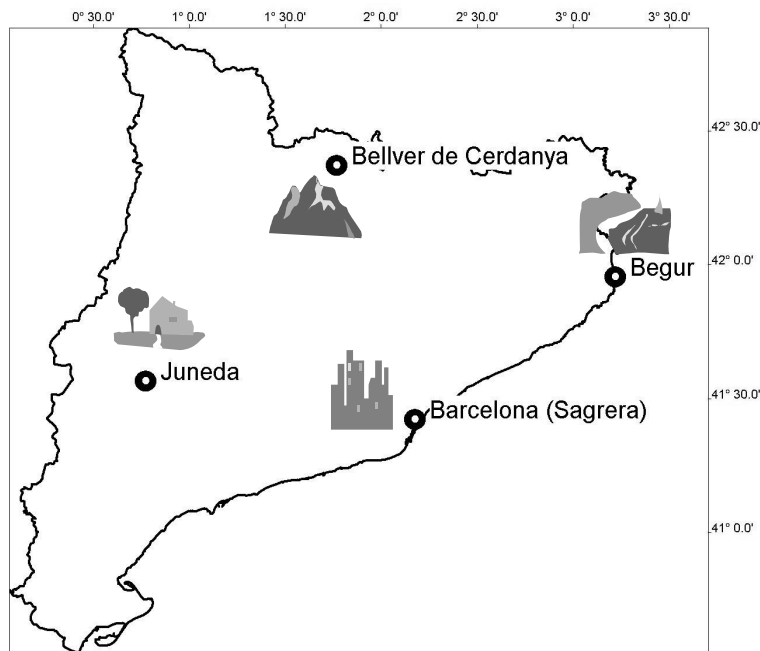


Figure 1. Map of the studied monitoring sites (coastal, mountain, inland and urban) in Catalonia.

These stations are operated by the Department of the Generalitat (Catalan Government) as part of a network to monitor background air pollution. The ozone measurements are conducted with MCV 48 AUV analysers which use absorption of 253.7 nm radiation. The detection limit of the instruments is $2 \mu\text{g m}^{-3}$ and the precision is +2 % with a signal to noise level of $2 \mu\text{g m}^{-3}$.

All data analyses in this paper are based upon the hourly averaged data. Site mean and maximum daily ozone values were averaged for each year, and month. For the daily profile study, we calculated the seasonal average for each hour of the day through 1996. The number of days with an average 8-h value higher than $110 \mu\text{g m}^{-3}$ ozone concentrations (days with risk of human incidence) and average 24-h value higher than $65 \mu\text{g m}^{-3}$ (days with risk of plant incidence) were also calculated.

For statistical analyses (linear regression analyses, ANOVAs and Tukey HSB post-hoc test), we used the statistical package Statistica 6.0 (StatSoft Inc., Tulsa, USA).

Results

Temporal and habitat patterns

The averaged values ranged between ca. $30 \mu\text{g m}^{-3}$ in the urban site and ca. $90 \mu\text{g m}^{-3}$ in the coastal site (Fig. 2A). The mean maximum daily values ranged between ca. 60 in the urban site and ca. $115 \mu\text{g m}^{-3}$ in the coastal site (Fig. 2B). The annual average and the mean of maximum daily ozone concentrations increased throughout the decade in the mountain site (approximately 14% in the 8 year period). On the contrary, mean O_3 concentrations decreased ca. 22 %, and maximum daily concentrations decreased 17 % in the coastal site (Fig. 2). Ozone concentrations in the inland and urban sites remained constant throughout the years.

Summer-spring values were almost twice greater than autumn and winter concentrations. There was a spring (April) maximum which was followed by another peak in July (except for the coastal site, Begur, where ozone concentrations slightly decreased in summer). The minimum mean values were observed in December (Fig. 3A). Similar trends were observed for the maximum monthly values, although in this case the peak concentrations occurred most clearly in July except for the coastal site. It was also in July when the differences within sites were minim (Fig. 3B).

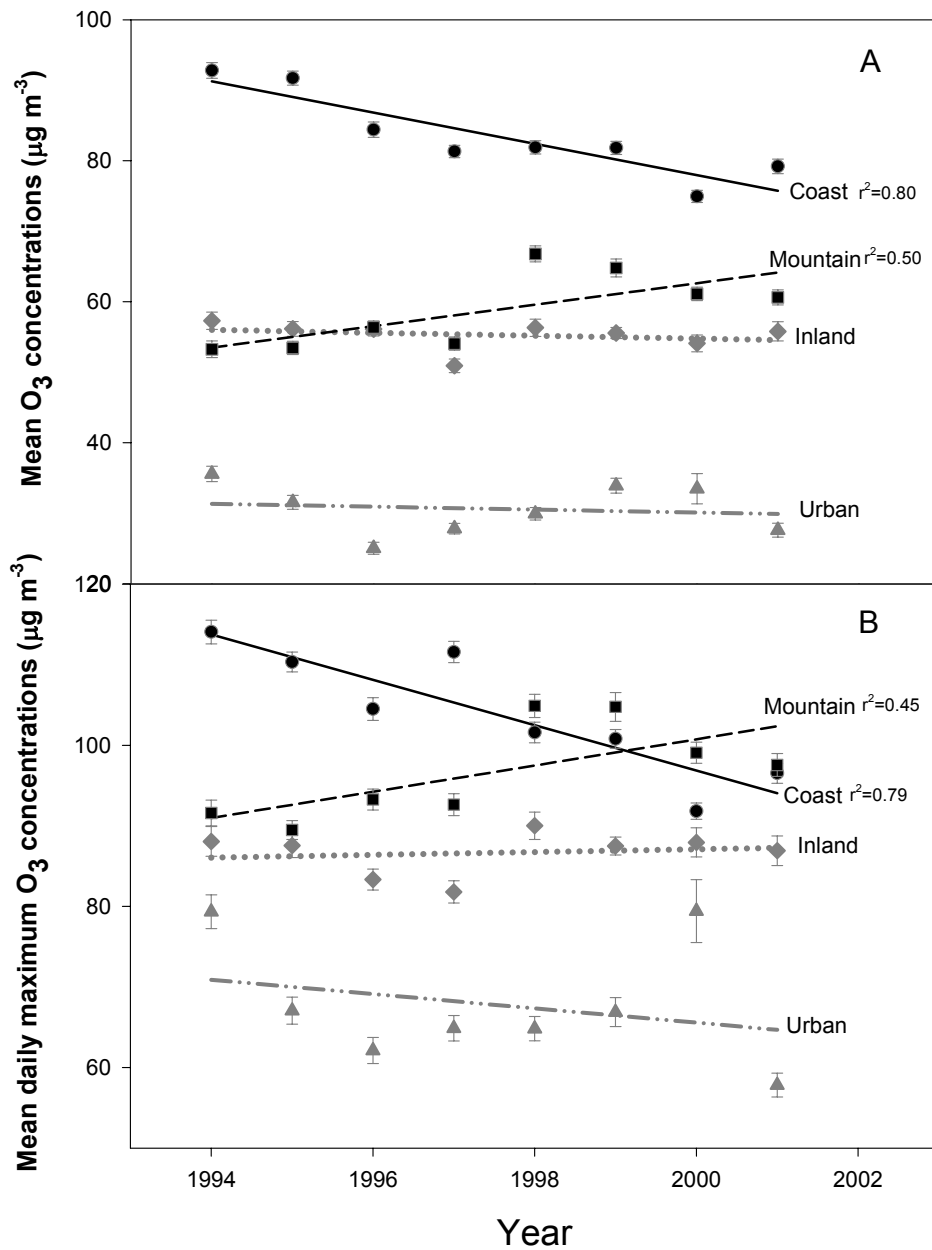


Figure 2. Series of annual mean 24-h (A) and annual mean of daily maximum (B) ozone concentrations throughout the eight years-study period for each site. The depicted coefficients of determination are the statistically significant ($p \leq 0.05$) ones.

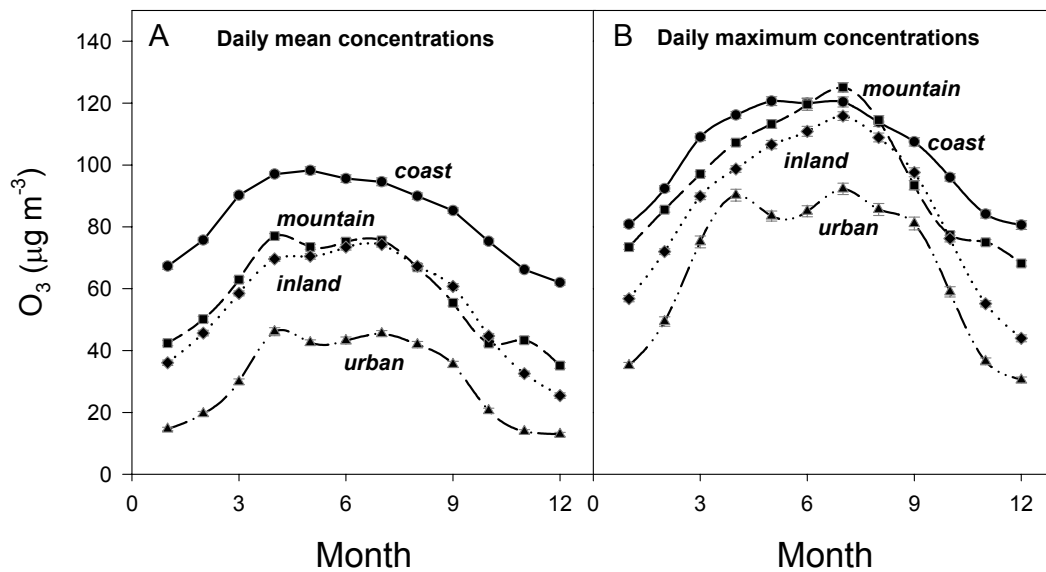


Figure 3. Monthly means of daily mean (A) and maximum (B) ozone concentrations at the four studied sites. Values are averaged concentrations throughout all period (1994-2001). $n = 240$.

The lowest concentrations occurred at night, with a minimum at 8:00 (Fig. 4). After that, a sharp rise started in the morning, a maximum was reached in the afternoon, and a drop followed until sunset. For all seasons there was a strong diurnal variation, which became more distinct in spring-summer, when the afternoon values were almost 2.7 times higher than the nocturnal ones (1:7 for urban; 1:4.2 for mountain; 1:2.3 for inland and 1:1.2 for coastal sites). The nocturnal values did not vary strongly from one season to the other. This was not the case for the afternoon values, which had a spring-summer/autumn-winter ratio of the order of 2, with the summer concentrations varying between 80 and 110 $\mu\text{g m}^{-3}$ for about 7 h (8-15 h, solar time). Begur station presented the smallest diurnal variation in all seasons. This lack of great day-night contrast in this coastal site was more pronounced in spring and summer when the ozone concentration remained at almost constant 100 $\mu\text{g m}^{-3}$ throughout the whole day. Daily values (night included) measured at this coastal site were, moreover, systematically the highest values in the studied sites.

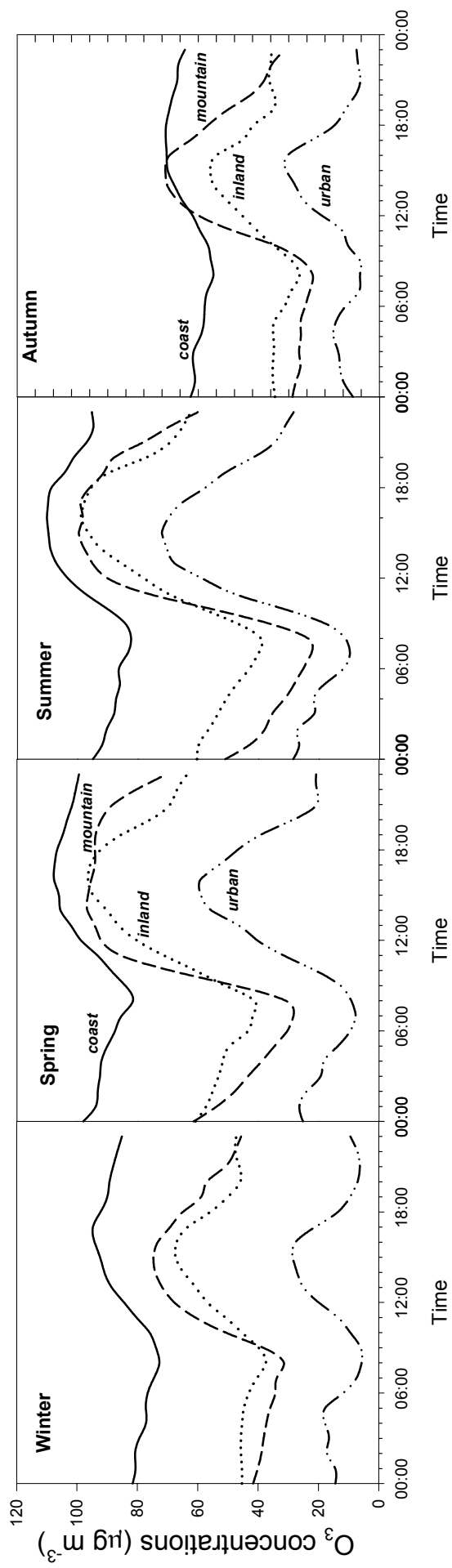


Figure 4 . Diurnal pattern of ozone concentrations in the four studied sites. Values are averaged from concentrations for each season of 1996 chosen as a representative year. N=90.

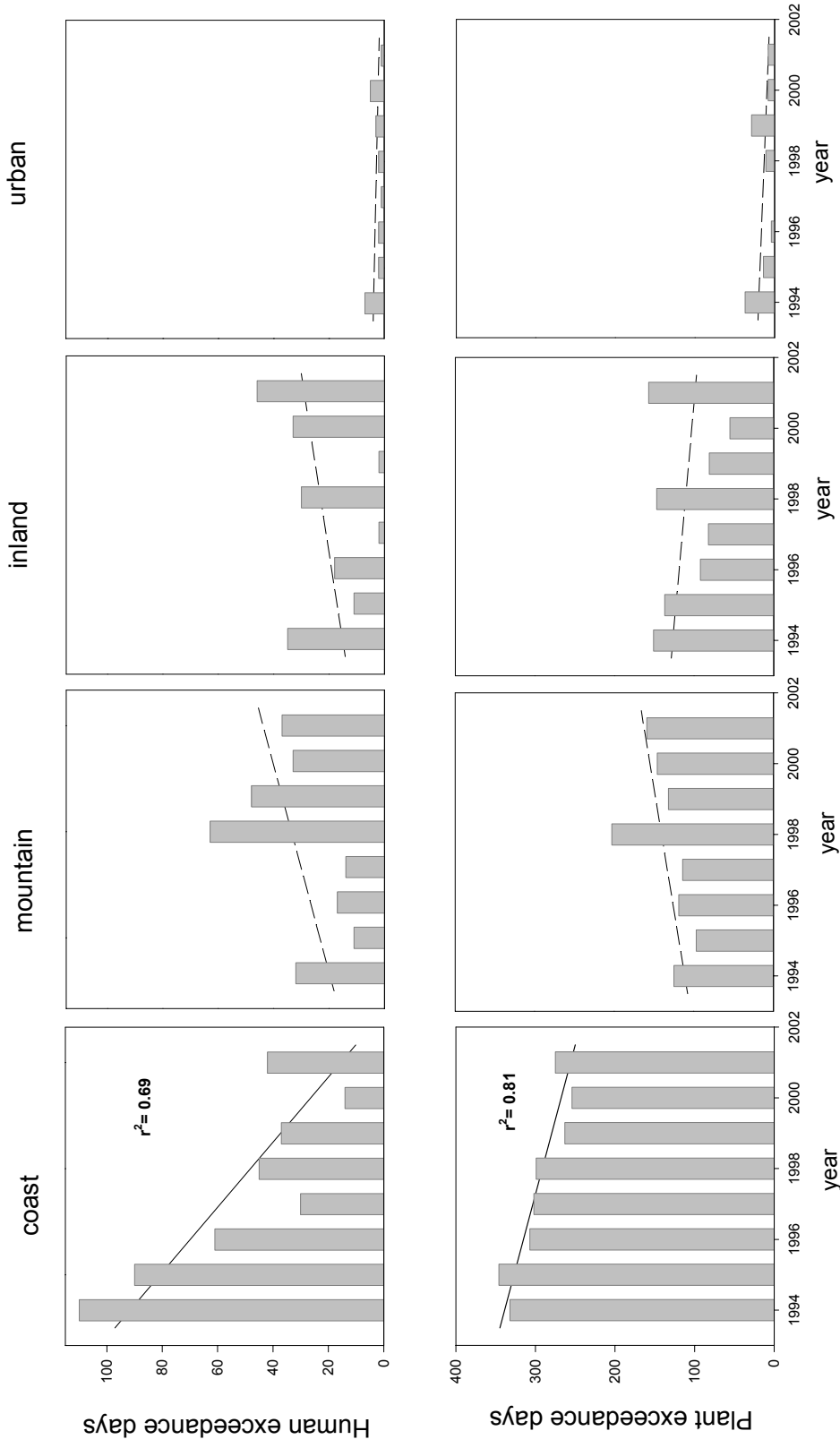


Figure 5 . Annual number of incidences throughout the studied 8-years period in each studied site. Human health exceedance days are defined following the current ozone Directive (92/72/EEC) as days with an 8-hour average ozone concentration greater than $110 \mu\text{g m}^{-3}$ (the threshold value for protection of human health). Plant exceedance days are defined as days with a 24-hour mean ozone concentration greater than $65 \mu\text{g m}^{-3}$ (the threshold value for protection of plants). Significant trends ($p < 0.05$) are highlighted with a continuous line.

Thresholds exceedances

The number of human health protection exceedance days, i.e. days with an 8-hour average ozone concentration of more than $110 \mu\text{g m}^{-3}$, the threshold value for protection of human health under the current European ozone Directive (92/72/EEC), was exceeded mainly in the spring-summer season and in the rural areas (an average of 54 days per year in the coastal site). The plant protection threshold ($65 \mu\text{g m}^{-3}$ as mean of 24-h) was exceeded up to an average of 297 days per year also in the coastal site (Figure 5). In the urban site, however, on average, this plant protection threshold was exceeded 14 days per year and the human protection threshold was exceeded an average of 3 days per year (Figure 5). Figure 5 shows the time-course evolution of the number of exceedances along past decade for the studied four sites. A significantly decreasing trend has been observed in coastal site ($r^2 = 0.69$ and 0.81 for human and plant exceedances). For the rest of sites no significant patterns have been found. However in the mountain site, the trend tended to be opposite to the coastal site; it tended to increase along the decade as it significantly happened with the average concentrations (Fig. 2).

Discussion

Scheel et al. (1997) described average O_3 concentrations over Europe as a gradient from the north-west to the south-east ranging from 19 to 27 ppb (38 to $54 \mu\text{g m}^{-3}$) over the continent in wintertime, and from 39 and 56 ppb (78 to $108 \mu\text{g m}^{-3}$) in summer time. Similar ranges were observed in this North Western Mediterranean region. Mean monthly ozone concentrations at the studied sites (excluding the urban site) for the months April-September ranged from 50 to $100 \mu\text{g m}^{-3}$, which is also comparable to the higher average ozone levels at rural stations in south-central Europe (Emberson et al., 1996; Kalabokas et al., 2000) and to values reported in other Mediterranean regions (Kalabokas et al., 2000; Gangoiti et al., 2001; Lelieveld et al., 2002; Nali et al., 2002).

The ozone concentrations increased throughout the years only in the mountain site which may have received increasing pollutant charge linked to increasing tertiary activity in the area (Departament de Treball, Industria, Comerç i Turisme of Generalitat de Catalunya, <http://www.gencat.es/tict/>). Instead, there was a significant decrease trend of ca. 20% for the maximum diurnal and seasonal values in the coastal site. These decreases have been detected in different countries since the late 1980s (PORG, 1997; de Leeuw, 2000). Emissions of ozone precursors have decreased since the mid 1980s in

Western and Northern Europe due to control strategies and in Eastern European regions due to modernisation or shutdown of air-polluting industrial branches, whereas in the Mediterranean region the decrease is somewhat smaller or have started later than in Central Western Europe (de Leeuw, 2000; Brönnimann et al., 2003). No decadal trend was found in the other two sites: the inland and the urban ones. Thus, it is difficult to conclude which is the general pattern at regional scale, much less at global scale. One reason is the non-linearity of chemical ozone production with respect to precursor emissions. This non-linearity suggests that to achieve a considerable reduction of ozone levels, precursor emissions could have to be cut down by a disproportionately large amount. In the rural sites O_3 levels are often found to linearly depend on NO_x emissions (Wang et al., 2001). By contrast in the large cities there is often a negative relationship with NO_x emissions that can also occasionally switch to positive under particular meteorological conditions (Honoré et al., 2000).

The spring maximum is formed partly from enhanced photochemistry after a wintertime accumulation of air pollutants (Penkett and Brice, 1986) and partly from a stratospheric flux of ozone (Viezee et al., 1983). The summer maximum is produced in areas with large pollutant sources (Logan, 1985). The shift of the ozone maximum from spring to summer is a signal that the photochemical production of ozone due to the emissions of the manmade ozone precursors is the determining factor in the tropospheric ozone budget (Gimeno et al., 1999). All our sites except the coastal site, had a maximum concentration summer peak, which coincides with south and central Europe trends described by Esser (1993) and Monks (2000) and which suggests high concentrations of anthropogenic ozone precursors (Logan, 1985). The spring maximum and the subsequent decrease of ozone concentrations in the coastal site are indicative of a higher influence of background ozone. This is also the site with an interannual decreasing trend (Fig. 3) as in many other European sites (PORG 1997; de Leeuw, 2000).

The chemical emission-dependent production (concentrations above $100 \mu\text{m g}^{-3}$) varies from year to year, but the repetitive annual pattern of all sites emphasizes that meso-meteorological processes dominate the O_3 cycles. These data document the existence of persistent medium-to-high O_3 levels, as compared with peak-type episodes in central and northern Europe (Sanz and Millán, 2000).

The variation of ozone within a day may be helpful in delineating the processes responsible for ozone formation or loss at a particular location. Significant differences were found between the diurnal cycles in the different sites. The coastal site showed very small differences between day and night. This is a site with very strong north-westerly

winds (tramontana and mistral) that strongly determine the air flow of this region (Gangoiti et al., 2001). These winds disturbance of the vertical stability (Kalabokas et al., 2000) likely greatly account for the O₃ uniform diurnal profile of this site in all seasons (Fig. 3). Besides, over the sea surface, deposition of ozone is slow while little quantities of NO_x are injected into the atmosphere. The combination of these factors results in much less ozone being destroyed during night over the sea than over the continent, and as a consequence high ozone levels are observed at night (PORG, 1997). This is also observed in short-term measurements in Eastern Mediterranean coasts (Peleg et al., 1997; Kalabokas et al., 2000).

Also in the coast, but in a strongly urban environment, Barcelona site presents a typical profile of large urban locations with substantial car traffic (Chameides and Lodge, 1992). The lowest values occurred about 08:00 h. That was probably caused by a reaction of ozone with nitric oxide produced by the early morning traffic (Blum et al., 1997). Such low concentrations are a feature typical of urban sites and sites close to major roads. However, even though local sources of nitric oxide lead to local ozone depletion, the daily maximum still achieved large concentrations during episode conditions, with values as large as 240 µg m⁻³ recorded during 1994. Toll and Baldasano (2000) explain that the city of Barcelona can reach high levels of ozone in spring and summer time because Barcelona has a complex situation in which the mesoscale wind flows and the local emissions (basically from road traffic) are crucial in the production and transport of O₃ in the area.

Juneda and Bellver, the two inland sites, although not influenced by the sea breeze, also presented a marked diurnal variation. However, their maximum O₃ concentrations were reached at different times. While in the plain inland Juneda site, maximum values occurred in the afternoon, in the mountain Bellver site, the maximum values occurred earlier, at midday. Differences in VOC_s summer concentrations between these two sites (Peñuelas et al., 1999) and their role into O₃ formation (Ryerson et al., 2001; Peñuelas and Llusà, 2003) might account at least partially for their differences.

These different O₃ cycles are typical of the western Mediterranean basin, where O₃ cycles strongly depend on the topographic location and its relationship to the reservoir layers, the atmospheric circulations involved, and the chemical processes along each path (Sanz and Millán, 2000; Gangoiti et al., 2001). Thus, no single station can be considered representative of region processes, and much less of the whole situation (Sanz and Millán, 2000).

Final remarks

These results suggest the existence of different trends for different locations (immission types) and different weather conditions, similarly to what has been found in other European countries (de Leeuw, 2000). There were no clear increases in background ozone levels throughout the last decade. In fact, the most significant trend was a decrease in the concentrations of the coastal site probably due to the decrease of precursor substances in Europe, again similarly to what has been described in other European countries (Pleijel, 2000; Brönnimann et al., 2003). In any case, the human health protection threshold has been exceeded an average of 54 days per year in the coastal site and 3 days in the urban site, and the plant protection threshold was exceeded an average of 297 days per year in the coastal site and 14 days in the urban site. Therefore, and according to recent literature on critical levels (Pleijel, 2000), the observed values in Catalonia could have thus negative effects on human and plant life.

References

- Beck J., Grennfeld P., 1993. Distribution of ozone over Europe. In Borell P.M., et al., (Eds.), *The Proceedings of the EUROTRAC Symposium 92*, SPB Academic Publishing bv, The Hague, The Netherlands, pp. 43-58.
- Blum O., Bytnerowicz A., Manning W., Popovicheva L., 1997. Ambient tropospheric ozone in the Ukrainian Carpathian Mountains and Kiev region: detection with passive samplers and bioindicators plants. *Environmental Pollution* 98, 299-304.
- Brönnimann S., Buchmann B., Wanner H., 2003. Trends in near-surface ozone concentrations in Switzerland: the 1990s. *Atmospheric Environment* 36, 2841-2852.
- Chameides W.L., Lodge J.P., 1992. Tropospheric ozone: formation and fate. In Lefohn, A.S. (Eds.), *Surface Level Ozone Exposures and their effects on Vegetation*. Lewis publishers, USA, pp. 1-30.
- De Leeuw F., 2000. Trends in ground level ozone concentrations in the European Union. *Environmental Science and Policy* 3, 189-199.
- Dueñas C., Fernández M.C., Cañete S., Carretero J., Liger E., 2002. Assessment of ozone variations and meteorological effects in an urban area in the Mediterranean Coast. *The Science of the Total Environment* 299, 97-113.

- Emberson L.D., Kuyelenstria J.C.I., Cambridge H.M., Cinderby S., Ashmore M.R., 1996. Mapping relative potential sensitivity of vegetation to ozone across Europe: a preliminary analysis. In Karenlampi L., Skarby L., (Eds.). Critical levels for ozone in Europe: testing and finalizing the concepts. UN-ECE Workshop Report; University of Kuopio, Department of Ecology and Environmental Science, 223-227.
- Esser, P.J., 1993. The effect of local and regional influences on ground level ozone concentrations under north European conditions. IMW-TNO Report R93/098. Delft, The Netherlands.
- Gangoiti, G., Millán, M.M., Salvador, R., Mantilla, E., 2001. Long-range transport and re-circulation of pollutants in the western Mediterranean during the project Regional Cycles of Air Pollution in the West-Central Mediterranean Area. *Atmospheric Environment* 35, 6267-6276.
- Gimeno, B.S., Salleras, J.M., Porcuna, J.L., Reinert, R., 1995. Biomonitoring ozone phytotoxicity in eastern Spain. *Water, Air and Soil Pollution* 85, 1521-1526.
- Gimeno L., Hernández E., Rúa A., García R., Martín I., 1999. Surface Ozone in Spain. *Chemosphere* 38, 3061-3074.
- Glavas S., 1999. Surface ozone and NO_x concentrations at high altitude Mediterranean site, Greece. *Atmospheric Environment* 33, 3813-3820.
- Honoré C., Vautard R., Beekmann M., 2000. Photochemical regimes in urban atmospheres: the influence of dispersion. *Geophysical Research Letters* 27, 1895-1898.
- Kalabokas P.D., Viras L.G., Bartzis J.G., Repapis C.C., 2000. Mediterranean rural ozone characteristics around the urban area of Athens. *Atmospheric Environment* 34, 5199-5208.
- Kärenlampi L., Skärby L. (Eds.), 1996. Critical Levels for Ozone in Europe: Testing and Finalising the Concepts. UN/ECE Workshop Report. University of Kuopio, Department of Ecology and Environmental Science, Kuopio, Finland.
- Lefohn A.S. (Eds), 1992. Surface Ozone Exposures and their Effects on Vegetation. Lewis publishers. Chelsea.
- Lelieveld J., Berresheim H., Borrmann S., Crutzen P.J., Dentener F.J., Fisher H., Feichter J., Flatau P.J., Heland J., Holzinger R., Korrmann R., Lawrence M., Levin Z., Markowicz K.M., Mihalopoulos N., Minikin A., Ramanathan V., de Reus M., Roelofs G.J., Scheeren H.A., Sciare J., Schlager H., Schultz M., Siegmund P., Steil B.,

- Stephnou E.G., Stier P., Traub M., Warneke C., Williams J., Ziereis H., 2002. Global Air Pollution Crossroads over the Mediterranean. *Science* 298, 794-799.
- Lelieveld J., Dentener F.J., 2000. What controls tropospheric ozone?. *Journal of Geophysical Research* 105, 3531-3551.
- Logan J.A., 1985. Tropospheric ozone: seasonal behaviour, trends, and anthropogenic influence. *Journal of Geophysical Research* 90 (D6), 10463-10482.
- London J., Liu S., 1992. Long-term tropospheric and lower stratospheric ozone variations from ozone sondes observations. *Journal of Atmospheric and Terrestrial Physics* 5, 599-625.
- Monks P.S., 2000. A review of the observations and origins of the spring ozone maximum. *Atmospheric Environment* 34, 3545-3561.
- Nali C., Pucciariello C., Lorenzini G., 2002. Mapping Ozone critical levels for vegetation in Central Italy. *Water, Air and Soil Pollution* 141, 337-347.
- Peleg M., Luria M., Sharf G., Vanger A., Kallos G., Kotroni V., Lagouvardos K., Varinou M., 1997. Observational evidence of an ozone episode over Greater Athens Area. *Atmospheric Environment* 31, 3969-3983.
- Penkett S., Brice K.A., 1986. The spring maximum in photo-oxidants in the Northern Hemisphere troposphere. *Nature* 319, 655-657.
- Peñuelas J., Llusà J., 2003. BVOCs: Plant defense against climate warming?. *Trends in Plant Science* 8, 105-109.
- Peñuelas J., Llusà J., Gimeno B.S., 1999. Effects of ozone concentrations on biogenic volatile organic compounds emission in the Mediterranean region. *Environmental Pollution* 105, 17-23.
- Pleijel H., 2000. Ground-level ozone. A problem largely ignored in southern Europe, *Air Pollution and Climate Series No. 12*, Swedish Secretariat on Acid Rain, Göteborg, Sweden, 26 pp.
- PORG (Photochemical Oxidants Review Group), 1997. Ozone in the United Kingdom. Fourth report, prepared at the request of the Department of the Environment, Transport and the Regions, London, 234 pp.
- Ribas A., Peñuelas J., 2000. Effects of ethylene diurea as a protective antiozonant on beans (*Phaseolus vulgaris* cv Lit) exposed to different tropospheric ozone doses in Catalonia (NE Spain). *Water, Air and Soil Pollution* 117, 263-271.

- Ryerson T.B., Trainer M., Holloway J.S., Parrish D.D., Huey L.G., Sueper D.T., Frost G.J., Donnelly S.G., Schauffer S., Atlas E.L., Kuster W.C., Goldan P.D., Hübler G., Meagher J.F., Fehsenfeld F.C., 2001. Observations of ozone formation in power plant plumes and implications for ozone control strategies. *Science* 292, 719-723.
- Sanz M.J., Calatayud V., Calvo E., 2000. Spatial pattern of ozone injury in Aleppo pine related to air pollution dynamics in a coastal-mountain region of eastern Spain. *Environmental Pollution* 108, 239-247.
- Sanz M.J., Millán M.M., 2000. Ozone in the Mediterranean region: Evidence of injury to vegetation. In: Innes J.L., Oleksyn J. (Eds.). *Forest dynamics in heavily polluted regions*, CAB International 2000, pp. 165-192.
- Scheel H.E., Areskoug H., Geiß H., Gomiscek B., Grandy K., Haszpra L., Klasinc L., Kley D., Laurila T., Lindskog A., Roemer M., Shmitt R., Simmonds P., Solberg S., Toupance G., 1997. On the spatial distribution and seasonal variation of lower-troposphere ozone over Europe. *Journal of Atmospheric Chemistry* 28, 11-28.
- Sillman S., Logan J.A., Wofsy S.C., 1990. The sensitivity of ozone to nitrogen oxides and hydrocarbons in regional ozone episodes. *Journal of Geophysical Research* 95, 1837-1851.
- Simpson D., 1995. Biogenic emissions in Europe, 2. Implications for ozone control strategies. *Journal of Geophysical Research* 100, 891-906.
- Toll I., Baldasano J.M., 2000. Modeling of photochemical air pollution in the Barcelona area with highly disaggregated anthropogenic and biogenic emissions. *Atmospheric Environment* 34, 3069-3084.
- Staehelin J., Thudium J., Buehler R., Volz-Thomas A., Graber W., 1994. Trends in surface ozone concentrations at Arosa (Switzerland). *Atmospheric Environment* 28, 75-87.
- Viezee W., Johnson W.B., Singh H.B., 1983. Stratospheric Ozone in the Lower Troposphere: Part II-Assessment of downward Flux and Ground Level Impact. *Atmospheric Environment* 17, 1979-1993.
- Volz A., Kley D., 1988. Evaluation of the Montsouris series of ozone measurements made in the nineteenth century. *Nature* 332, 240-242.
- Wang T., Cheung V.T.F., Anson M., Li Y.S., 2001. Ozone and related gaseous pollutants in the boundary layer of eastern China: overview of the recent measurements at a rural site. *Geophysical Research Letters* 28, 2373-2376.

Ziomas I.C., Gryning S.E., Borsteing R.D. 1998. The Mediterranean campaign of photochemical tracers – transport and chemical evolution (MEDCAPHOT-TRACE), Athens, Greece 1994-1995. *Atmospheric Environment* 32, 2043-2326.