

## 1. OBJETIVOS

- 1) Validar el empleo del ozono para el control de plagas y enfermedades en el ámbito agrario.
- 2) Estudiar el posible efecto producido sobre las características físico-químicas de los suelos, derivado del uso del ozono como desinfectante del mismo
- 3) Buscar alternativas que sustituyan o complementen la acción de los productos fitosanitarios utilizados en los principales cultivos de Castilla y León, aumentando la rentabilidad de las explotaciones agrarias, la sostenibilidad medioambiental de la agricultura y la seguridad alimentaria
- 4) Modernizar las explotaciones agrarias, y fomentar el uso del ozono como un producto limpio y con residuo cero.

De forma específica:

- a) Estudiar el efecto de la desinfección de suelos con ozono en las propiedades físicoquímicas del suelo, y su incidencia en los cultivos más representativos de nuestra región. Estudiar el efecto de la desinfección con ozono, sobre el pH, materia orgánica y dinámica de nutrientes del suelo.
- b) Evaluación y puesta en práctica de nuevos métodos y productos alternativos a los productos fitosanitarios.

## 2. CONTEXTO

El Real Decreto 1311/2012 de Uso Sostenible de Productos, establece como base la Gestión Integrada de Plagas, lo cual confirma la importancia y la necesidad de realizar trabajos para seguir desarrollando alternativas a los productos fitosanitarios.

Buscar alternativas para la producción de cosechas exentas de residuos fitosanitarios, productos cada vez más demandados por la sociedad. Potenciar la producción de productos de alto valor añadido. Dotar a los agricultores de herramientas que les permitan producir productos vegetales exentos de residuos fitosanitarios, lo cual puede fomentar la demanda de sus productos.

Potenciar la acción de los productos fitosanitarios, buscando un efecto complementario para eliminar de esta forma organismos que han desarrollado resistencias a las materias activas. Mantener las poblaciones de patógenos por debajo del umbral económico de daños.

No existen trabajos de investigación técnicos que ofrezcan datos sobre los resultados obtenidos ni efectos producidos, derivados del uso del ozono, tanto en los parámetros físico-químicos del suelo, como en los parámetros de calidad de los cultivos. Por lo tanto, consideramos interesante realizar este proyecto para certificar el efecto originado por el uso del ozono en diferentes cultivos. Hacer una investigación con pruebas de laboratorio y pruebas en campo para estudiar si es posible plantear la utilización de ozono como producto fitosanitario natural o como producto beneficioso para el desarrollo de los cultivos.

Los monocultivos practicados en campos abiertos, así como las hortícolas de invernadero suelen acompañarse del uso de abundantes agroquímicos y pesticidas. En estos ambientes la elevada producción anual de fitomasa contrasta llamativamente con una biodiversidad extremadamente baja.

Una buena salud del suelo tiene una marcada influencia en el crecimiento de las raíces y por lo tanto también en la parte aérea de la planta. Proporciona una mejor alimentación del cultivo y además es una barrera natural. Suelos bien manejados nos pueden ayudar a reducir el riesgo de que los productos fitosanitarios o fertilizantes puedan alcanzar las aguas superficiales o profundas debido a la erosión, a la escorrentía y en general el desplazamiento de sustancias solubles o dispersables.

En el suelo existen billones de microorganismos que descomponen el material vegetal, reciclan nutrientes y lo hacen disponibles para las plantas y hay muchos otros organismos que pueden afectar a las plantas como insectos, moluscos, nematodos que tienen actividad parásita sobre las mismas. El uso de fitosanitarios de residuo cero en el suelo promueve la biodiversidad y un mayor rango de organismos mantendrán un correcto equilibrio entre ellos.

Ante este escenario, este proyecto evaluó el efecto de la aplicación de ozono como producto fitosanitario natural o como producto beneficioso para un buen desarrollo de los distintos tipos de cultivos. Una alternativa para implementar en campo por su elevado potencial desinfectante y fitosanitario capaz de mitigar los riesgos de incidencia de las enfermedades y plagas.

### 3. RESULTADOS

Resultados los vamos a dividir en:

#### 3.1. Evolución de suelos

En la siguiente tabla, Tabla 1 se muestra el estado inicial del suelo sobre el que se han realizado los ensayos de hortícolas y la tabla 2 muestra cual ha sido la evolución de los nutrientes en el suelo en cada tratamiento y entre fechas.

*Tabla 1. Estado inicial de suelos, relación de nutrientes*

P (kg/ha)	K (kg/ha)	Ca (kg/ha)	Mg (kg/ha)	Na (kg/ha)
1022,72	2576	22672	3365,888	575,92

Tabla 2. Evolución del estado nutricional de suelos

Fn	P(kg/ha)	K(kg/ha)	Ca (kg/ha)	Mg (kg/ha)	Na (kg/ha)
T0	1079,76	1377,6	23712	3040,9728	325,68
T1	1140,96	984	20928	2533,1712	220,8
T2	1166,64	1473,6	22416	2807,5008	336,72
T3	1130,64	1629,6	23184	3376,5888	485,76
T4	1179,6	1485,6	23280	3113,9328	436,08
T0	1118,4	2541,6	25296	3942,7584	651,36
T1	1105,44	2541,6	27216	4564,3776	701,04
T2	1082,88	2133,6	26304	4342,5792	739,68
T3	957,12	2565,6	28704	6137,3952	1092,96
T4	1005,36	1701,6	26688	5200,5888	855,6
T0	953,76	3201,6	28848	5790,1056	949,44
T1	1037,76	2049,6	27024	5057,5872	645,84
T2	1137,6	2349,6	26880	4870,8096	855,6
T3	1050,72	2109,6	26784	5302,7328	756,24
T4	1018,32	1569,6	26496	4716,1344	717,6
T0	1103,28	1420,8	24432	2921,3184	303,6
T1	1241,04	1024,8	22176	2591,5392	231,84
T2	1303,44	883,2	22224	2690,7648	215,28
T3	1290,48	1113,6	22176	2369,7408	242,88
T4	1172,16	470,4	21360	2080,8192	182,16
T0	1096,56	2664	28368	4333,824	640,32
T1	1175,52	938,4	22368	2682,0096	253,92
T2	1106,4	907,2	23424	2857,1136	231,84
T3	1188,48	1108,8	24336	3218,9952	303,6
T4	1188,72	624	23040	2857,1136	237,36
T0	1056,72	1416	22800	3087,6672	419,52
T1	1131,6	1224	23184	3111,0144	386,4
T2	1121,76	1324,8	22272	3032,2176	414
T3	1125,12	1699,2	23712	3788,0832	579,6
T4	1121,76	782,4	21792	2498,1504	325,68
T0	967,92	1389,6	18288	2381,4144	303,6
T1	1061,28	1209,6	18816	2509,824	320,16
T2	1145,28	1101,6	18144	2483,5584	309,12
T3	1088,16	1137,6	18336	2667,4176	358,8
T4	1055,28	1236	19680	2854,1952	513,36
T0	1013,04	1288,8	18720	2664,4992	414
T1	1034,16	936	18336	2352,2304	298,08
T2	1118,4	772,8	16656	2028,288	215,28
T3	1133,28	993,6	17712	2328,8832	331,2
T4	1091,28	724,8	17808	2121,6768	264,96

En la Figura 1 se muestra que la evolución del fósforo disponible en función de ellos tratamiento, se muestra un mayor contenido en suelo, a partir de 1 ppm de concentración de ozono, mostrando una tendencia lineal posterior en los tratamientos 2, 3 y 4 ppm. En la Figura 2 se muestra cómo a partir de 1 ppm se reduce la disponibilidad de potasio en el suelo, que se va

acrecentando conforme se aumenta la concentración de ozono en el agua.

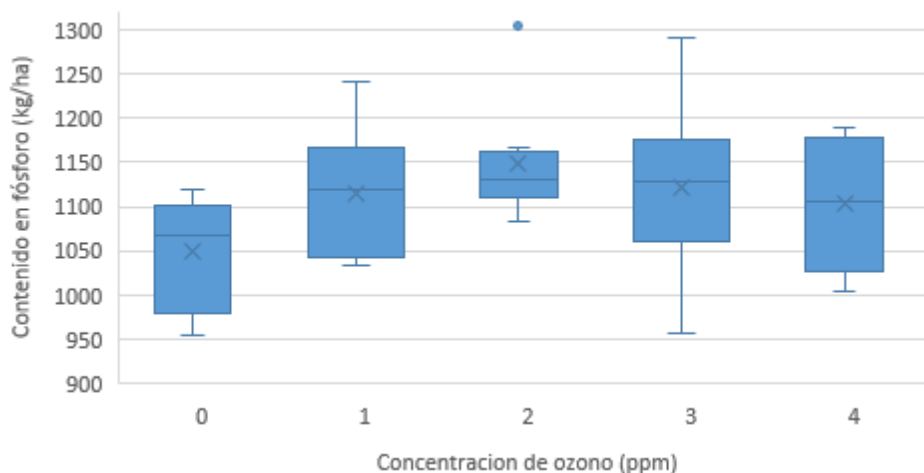


Figura 1. Análisis de medias entre tratamientos en cuanto a contenido en fósforo disponible

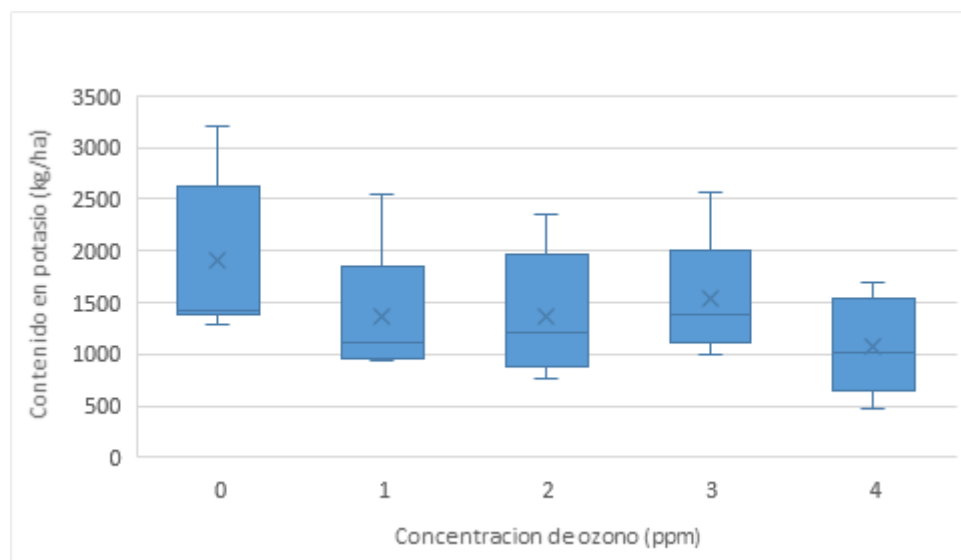


Figura 2. Análisis de medias entre tratamientos en cuanto a contenido en potasio cambiabile

El contenido de materia orgánica en el suelo ha sufrido una evolución diferente ante las distintas concentraciones de ozono aplicadas en el suelo. En la tabla 3 se muestran los resultados medios obtenidos en los suelos tratados con ozono

Tabla 3. Resultados medios de materia orgánica para cada tratamiento

Tratamiento	MO(%)		% incremento
0 ppm	5,39	ab	100
1 ppm	5,44	ab	101
2 ppm	5,76	b	107
3 ppm	5,40	ab	100
4 ppm	4,97	a	92

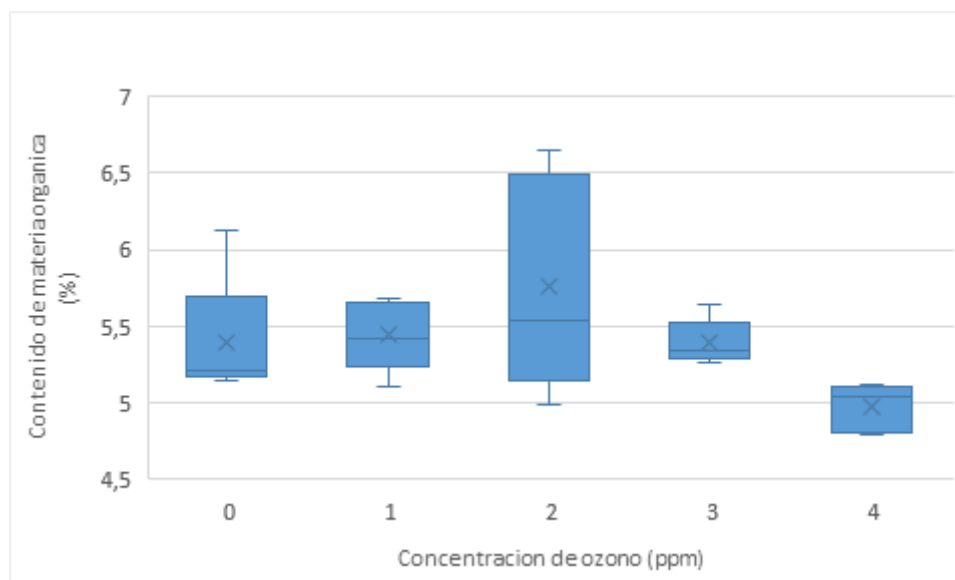


Figura 3. Análisis de medias entre tratamientos en cuanto a contenido de materia orgánica

Si observamos la evolución de los datos, se puede observar un incremento del contenido en materia orgánica en los suelos tratados con ozono, con hasta 2 ppm de concentración en agua de riego. Concretamente el incremento producido hasta esta concentración ha sido de un 6% sobre el control. Cuando la concentración de ozono en el agua ha aumentado hasta los 3 ppm, se ha producido un descenso drástico del contenido de materia orgánica en los suelos, hasta llegar a los niveles iniciales. Por último, en los suelos con 4 ppm de concentración aplicada, el contenido de materia orgánica se ha visto reducido en casi un 8% con respecto al control

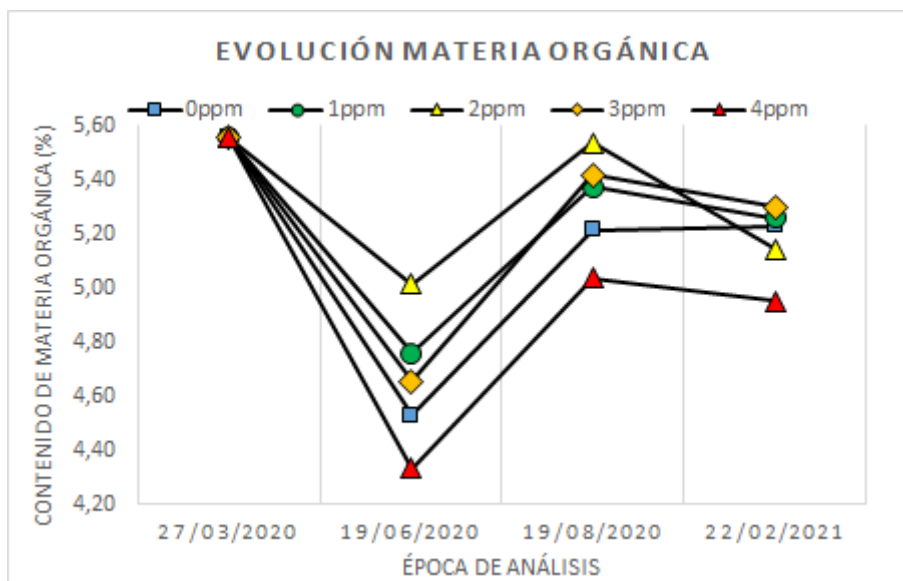


Figura 4. Evolución temporal del contenido de la materia orgánica

### 3.2. Sanidad vegetal

En este apartado se recogen los resultados del uso del ozono como protección para la salud de las plantas, con el fin de prevenir la propagación de las plagas y las enfermedades vegetales. En todas las unidades experimentales se ha aplicado agua ozonizada a la concentración de 5 ppm/l (dosis más alta que permite el equipo Todozono)

#### 3.2.1. EXPERIENCIA SOBRE REMOLACHA

En el ensayo de remolacha se aplicó la concentración más elevada alcanzada por el equipo Todozono de 5 ppm/l de agua ozonizada para la lucha contra la *Cercospora beticola* Sacc, microparásito fúngico que forma manchas de color grisáceo con un borde rojizo o púrpura sobre las hojas que causa decaimiento de la planta.

A los dos meses de la siembra de la remolacha se observaron los primeros síntomas de *Cercospora*. Se pulverizó con una mochila agua ozonizada a 5 ppm y se repitió el tratamiento de forma recurrente cada 15 días en 3 ocasiones más.

Aunque el tratamiento con agua ozonizada no erradica al microparásito fúngico, si es capaz de disminuir la carga microbiana y permitir un desarrollo casi óptimo de la planta, incluso en condiciones de invernadero con una humedad que favorece el desarrollo de los hongos.



Figura 5. Aplicación foliar por pulverización de agua ozonizada a 5ppm en remolacha. Ataque de *Cercospora beticola* Sacc en remolacha

### 3.2.2.EXPERIENCIA SOBRE FRUTALES

Se trataron distintos tipos de frutales con la concentración más elevada alcanzada por el equipo Todozono 5 ppm/l de agua ozonizada.

En peral se trató para la Psila (*Cacopsylla pyri* L.), insecto responsable de la sintomatología típica de la enfermedad; gotas de melaza segregados sobre los órganos atacados (hojas, frutos y brotes) provocando daños directos por las picadas nutricionales que realizan las ninfas y adultos para succionar la savia e indirectos causados por la melaza que excretan las ninfas, dando manchas y necrosis, ennegreciendo por la acción de hongos tipo “negrilla”, dificultando la fotosíntesis.

En cerezos se trató para el pulgón *Myzus cerasai*, se instala en los brotes tiernos y en el envés de las hojas adultas provocando su enrollado, debilitamiento del árbol por succión de savia y excreción de melaza provocando manchas y necrosis, así como ennegrecimiento por la acción del hongo tipo “negrilla”.

Aunque el tratamiento con agua ozonizada no erradica las enfermedades de la hoja de cultivos leñosos, si es capaz de ejercer un control sobre la carga de algunos insectos y hongos cuando se trata con mochila pulverizando agua ozonizada a 5 ppm/l de forma recurrente con tres repeticiones cada 15 días.



Figura 6. Aplicación foliar por pulverización de agua ozonizada a 5ppm para el control de la psila (*Cacopsylla pyri* L.) en perales



Figura 7. Aplicación foliar por pulverización de agua ozonizada a 5 ppm para el control del pulgón (*Myzus ceresae*) en cerezos

### 3.2.3. EXPERIENCIA SOBRE CEREALES

En este apartado se presentan los resultados de sanidad vegetal evaluados previos a la cosecha de las unidades experimentales donde se han aplicado 1, 2, 3 y 4 ppm de agua ozonizada frente a un tratamiento de control sin ozono. Los tratamientos se aplicaron con riego por aspersión durante 15 minutos y una vez/semana durante el ciclo biológico de los vegetales.

A los tres meses de la nascencia del trigo y la cebada se observaron los primeros síntomas de la roya amarilla, enfermedad fúngica producida por el hongo *Puccinia striiformis*.



Figura 8. Aplicación de agua ozonizada mediante riego por microaspersión en los tratamientos 0, 1, 2, 3 y 4 ppm. Ataque de *Puccinia striiformis*

No se han observado diferencias significativas en los parámetros de sanidad vegetal evaluados en los distintos tratamientos de aplicación de riego con agua ozonizada.

### 3.3. Producción de cultivos

En este apartado se presentan los resultados de aquellos parámetros evaluados previos a la cosecha de las unidades experimentales, los cuales nos permiten caracterizar las variedades y ver su adaptabilidad. En todas las unidades experimentales se han aplicado 1, 2, 3 y 4 ppm frente a un tratamiento de control sin ozono.

#### 3.3.1. JUDÍAS VERDES

En el ensayo de judías verdes se han aplicado diferentes concentraciones de ozono en bandas. A continuación, se muestran los resultados de cosecha obtenidos y la comparación entre éstos con un control en el que no se ha aplicado nada.

Tabla 4. Resumen productivo en judías

	Número de vainas	Peso total cosecha [g]
CONTROL	476	4338,61
TRAT 1 ppm	548	4827,4
TRAT 2 ppm	509	4708
TRAT 3 ppm	507	4721,96
TRAT 4 ppm	466	4223,09

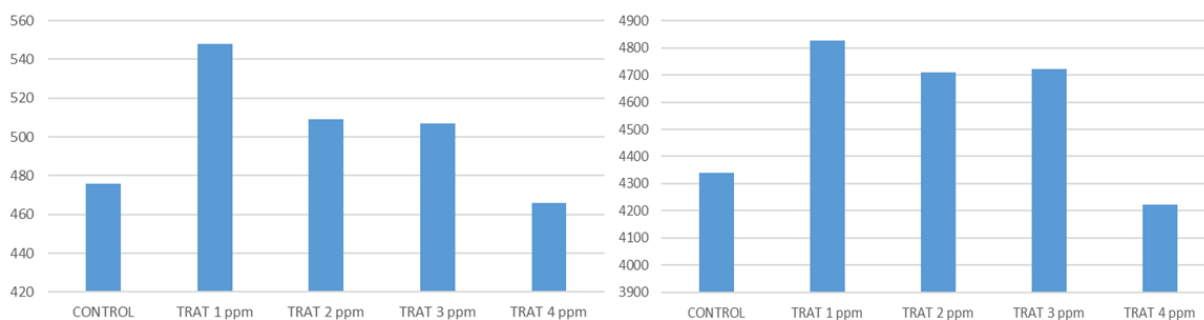


Figura 9. Izda; número de vainas totales recolectadas y Dcha; peso total cosechadas

Como se puede observar en los datos mostrados anteriormente, ha existido una respuesta muy positiva en los tratamientos en los que se han aplicado 1, 2 y 3 ppm de concentración de ozono en el agua con respecto al testigo 0. Sin embargo, el tratamiento con más concentración de ozono ha mostrado un efecto contraproducente en cuanto a la producción se refiere.

A continuación, también se muestra la evolución de vainas y peso recogidos en cada cosecha para valorar su evolución.

Tabla 5. Evolución de vainas y peso recogidas por cosecha

	Día 2/6/2020	Día 29/6/2020	día 6/7/2020	Día 13/7/2020
<b>CONTROL</b>	28	125	108	125
<b>TRAT 1 ppm</b>	41	174	212	121
<b>TRAT 2 ppm</b>	41	149	187	132
<b>TRAT 3 ppm</b>	40	149	153	165
<b>TRAT 4 ppm</b>	48	176	141	101

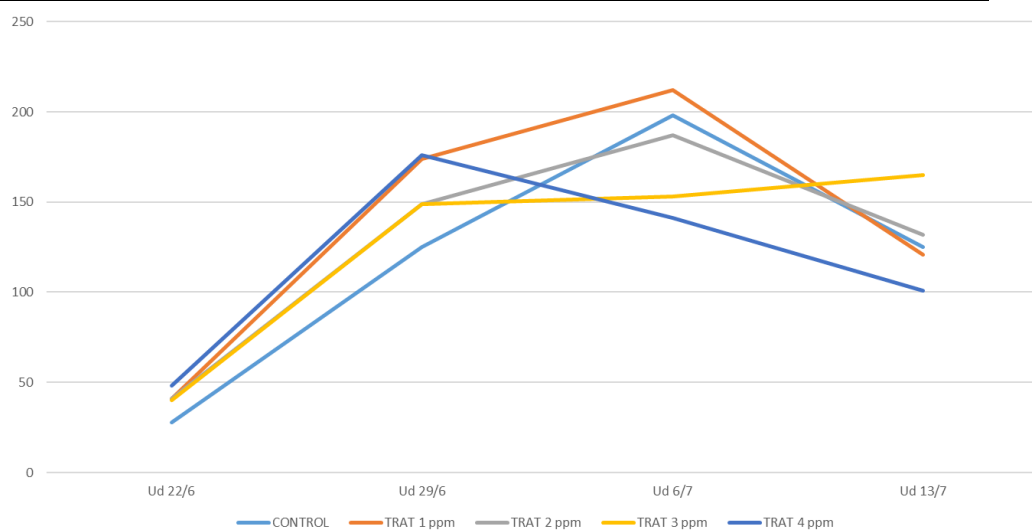


Figura 10. Evolución del número de vainas en las 4 recolecciones realizadas

Tabla 6. Evolución del peso (g) en las 4 recolecciones realizadas

	Día 2/6/2020	Día 29/6/2020	Día 6/7/2020	Día 13/7/2020
<b>CONTROL</b>	<b>280</b>	<b>1205,9</b>	<b>1879,51</b>	<b>973,2</b>
<b>TRAT 1 ppm</b>	<b>415</b>	<b>1650,2</b>	<b>1820,4</b>	<b>941,8</b>
<b>TRAT 2 ppm</b>	<b>425</b>	<b>1434,73</b>	<b>1704,95</b>	<b>1143,32</b>
<b>TRAT 3 ppm</b>	<b>435</b>	<b>1458,9</b>	<b>1575,29</b>	<b>1252,77</b>
<b>TRAT 4 ppm</b>	<b>475</b>	<b>1738,75</b>	<b>1287,78</b>	<b>721,56</b>

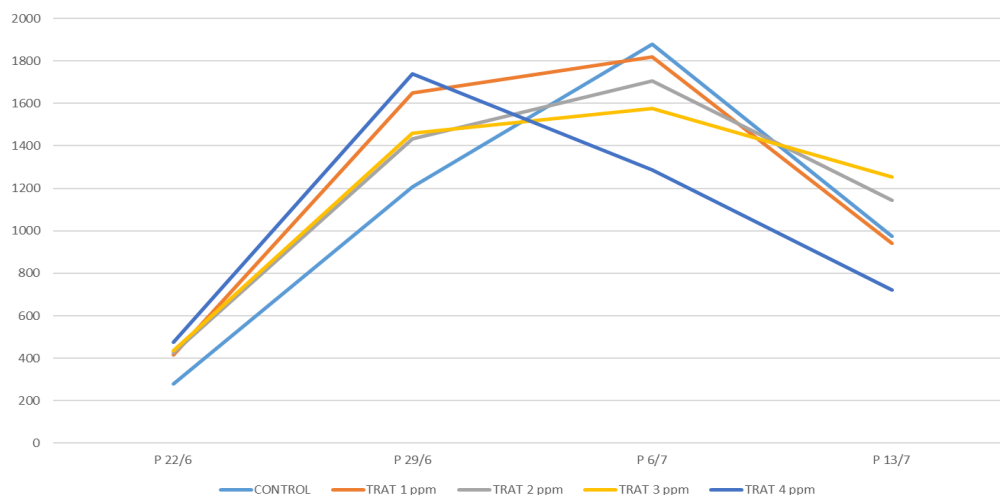


Figura 11. Evolución de peso recogido (g) en cada cosecha por tratamiento

En la evolución de los datos recogidos en las cosechas, podemos ver una evolución inicial muy positiva del tratamiento con 1 ppm.

### 3.3.2.REMOLACHA

Al igual que en el ensayo de judías verdes, en el ensayo de remolacha se han aplicado diferentes concentraciones de ozono en bandas. A continuación, se muestran los resultados de cosecha obtenidos y la comparación entre estos con un control en el que no se ha aplicado nada. La aplicación en bandas de diferentes concentraciones del ozono no permite realizar una evaluación estadística en cuanto a su eficacia, ya que en este ensayo no existen réplicas de los tratamientos.

Tabla 7. Clasificación del peso de remolacha cosechado (g). Según categorías de interés industrial

	<80g	80-200 g	>200 g	Comercial [g]	Destríos [g]	Comercial/Destrío
<b>Control</b>	3802,38	4003,36	0	2534,41	1468,95	1,73
<b>1ppm</b>	5363,77	1136,46	0	758,02	378,44	2,01
<b>2ppm</b>	4034,21	4045,85	0	3036,39	1009,46	3,01
<b>3ppm</b>	5296,78	2024,39	0	1324	700,76	1,89
<b>4ppm</b>	3700,1	252,67	0	2828,61	424,06	6,67

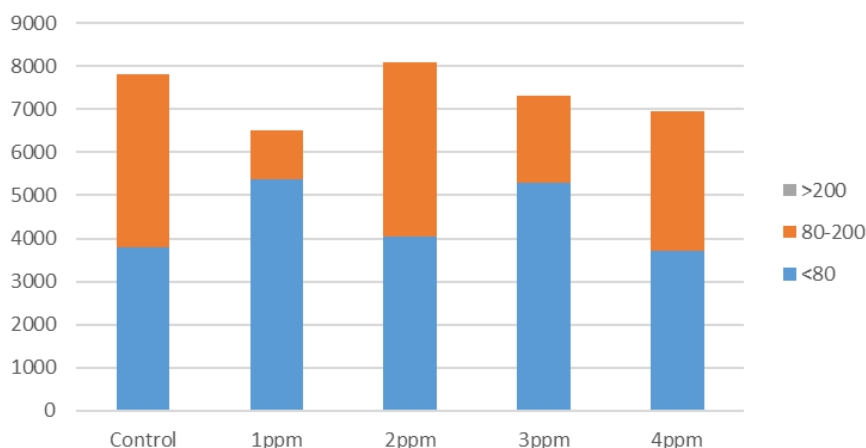


Figura 12. Peso acumulado de diferentes calibres

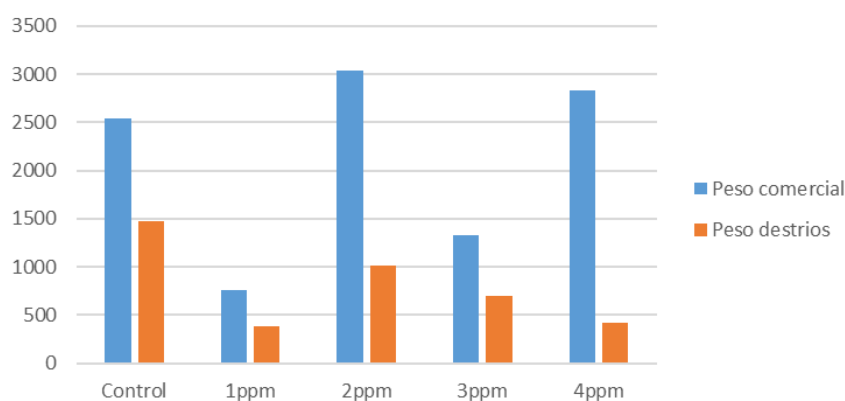


Figura 13. Peso por calidad referente al diámetro comercial

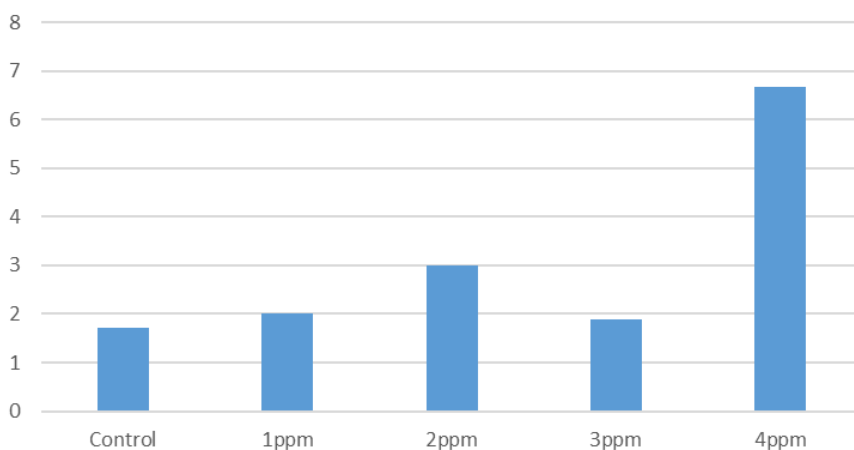


Figura 14. Índice de peso comercial entre peso de destrijo. Mayor índice menor destrijo mayor aprovechamiento comercial.

Los resultados que se han obtenido en el ensayo muestran un ligero incremento en la producción del tratamiento 2 (2 ppm) con respecto al resto de tratamientos y el control. En este tratamiento se ha obtenido el mayor peso total, y también el mayor peso de calibre comercial, muy ligeramente por encima del control.

Para valorar el efecto del ozono en la calidad de la remolacha recogida, se ha diferenciado dentro del calibre comercial, la cantidad de remolacha sin defectos y lo que serían destríos. En el índice calculado en la gráfica se puede observar como el tratamiento con 4 ppm de concentración, en el calibre comercial ha obtenido el menor número de destríos.

### 3.3.3. PIMIENTO

Como se observa en la Figura 15, no se muestran diferencias significativas entre los tratamientos. Aunque se muestra un ligero incremento en el tratamiento de 1 ppm.

Tabla 8. Resumen de medias estadística de resultados de tratamientos en pimiento (nivel de significación 0.05)

	PESO		ALTURA		ANCHO	
<b>CONTROL</b>	109,14	a	8,20	a	5,50	a
<b>T1</b>	145,56	a	8,05	a	6,65	a
<b>T2</b>	139,95	a	8,05	a	6,90	a
<b>T3</b>	123,53	a	7,65	a	6,35	a
<b>T4</b>	133,43	a	7,95	a	6,30	a

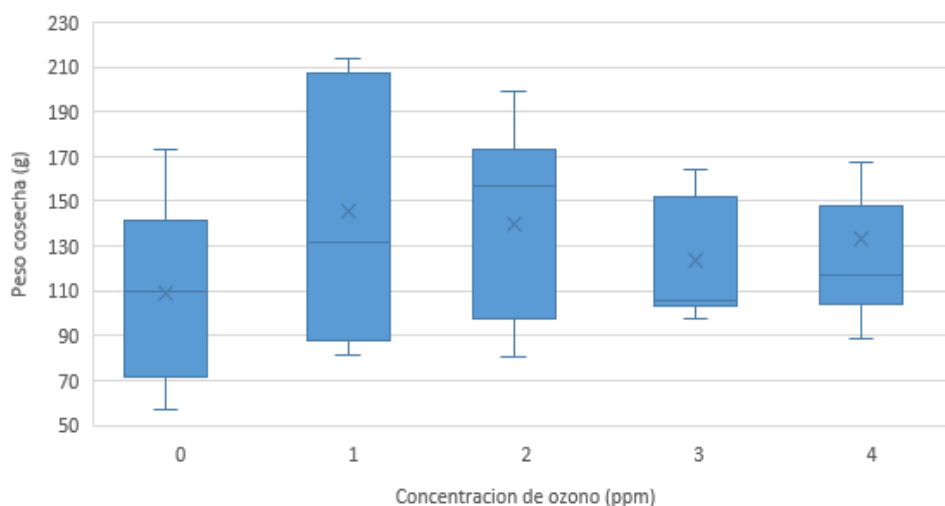


Figura 15. Evolución de peso de cosecha en pimiento con diferentes tratamientos

### 3.3.4. BRÓCOLI

No se muestran diferencias significativas en los tratamientos en cultivo de brócoli, aunque se muestra una ligera tendencia a mayores índices productivos en el 3 ppm.

Tabla 9. Resumen de medias estadísticas de resultados del brócoli referente a la parte aérea (nivel de significación 0.05)

	PESO	ALTURA	PERIMETRO	DIAMETRO TRONCO	ESTADO FLORACIÓN
<b>CONTROL</b>	818,678 a	50,1 a	60,4 a	3,9 a	Bueno
<b>TRAT 1</b>	660,364 a	17,6 a	53 a	3,8 a	Bueno

TRAT 2	825,484 a	18 a	59,1 a	4,4 a	Bueno
TRAT 3	843,666 a	19,6 a	57,4 a	3,9 a	Bueno
TRAT 4	731,76 a	44,4 a	57,4 a	4,2 a	Bueno

Tabla 10. Resumen de medias estadísticas de resultados de brócoli referente a raíces (nivel de significación 0.025)

	PESO [g MS]	Diámetro tallo	Longitud raíces	perímetro raíces
CONTROL	21,254 a	1,72 a	11,6 b	9,6 a
TRAT 1	17,388 a	1,7 a	9,7 ab	10,6 a
TRAT 2	19,42 a	1,898 a	8 a	9,9 a
TRAT 3	21,756 a	1,848 a	8,1 a	9,8 a
TRAT 4	14,072 a	1,552 a	7,4 a	7,7 a

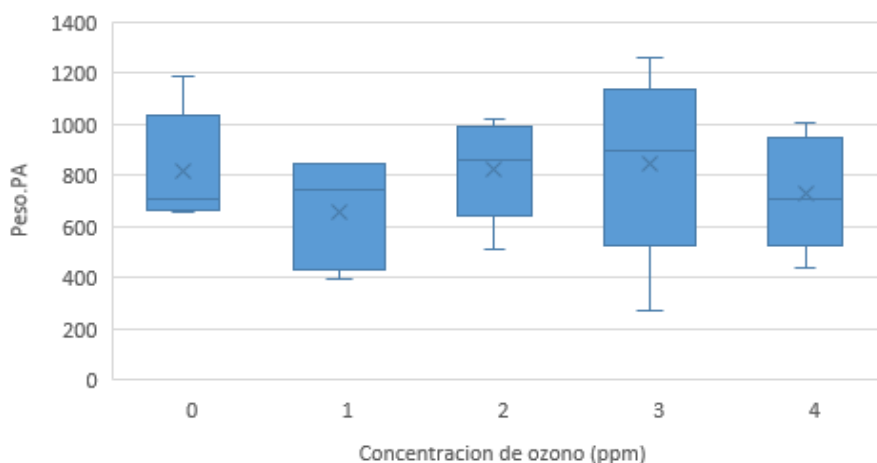


Figura 16. Evolución de peso parte área del brócoli

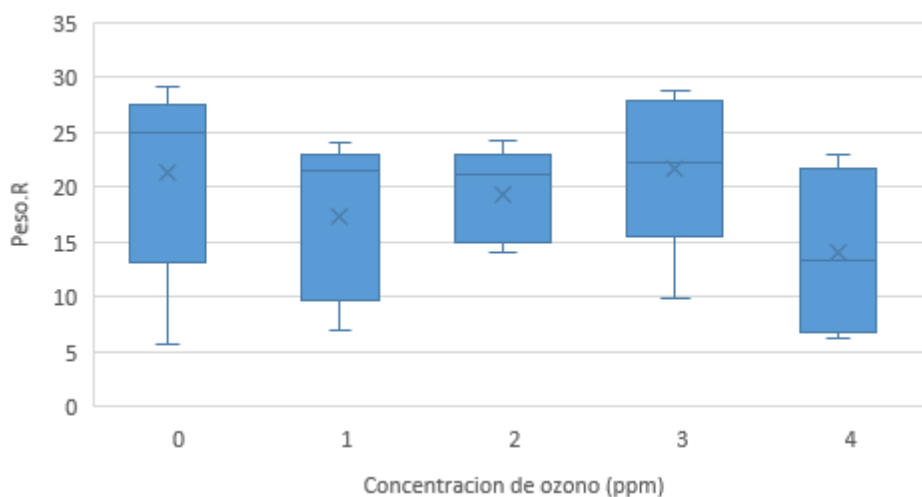


Figura 17. Peso de raíz en brócoli

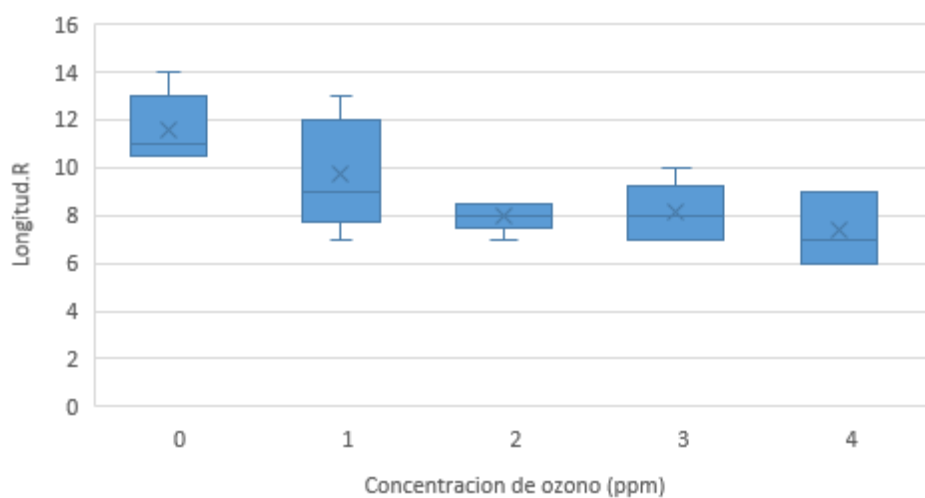


Figura 18. Longitud de raíz en brócoli

### 3.3.5.CALABACÍN

En el ensayo de calabacines se han aplicado diferentes concentraciones de ozono en bandas. A continuación, se muestran los resultados de cosecha obtenidos y la comparación entre éstos con un control en el que no se ha aplicado nada. No se muestran diferencias significativas en los tratamientos en cultivo de calabacín, aunque se muestra una ligera tendencia a mayores índices productivos en el 1 ppm.

Tabla 11. Resumen del número de calabacines recolectados y peso total (nivel de significación 0.05)

	Unidades recogidas	PESO TOTAL [g]
CONTROL	10 a	744,624 a
T1 ppm	13 a	1044,084 a
T2 ppm	9,8 a	648,728 a
T3ppm	12,8 a	688,126 a
T4ppm	11 a	569,112 a

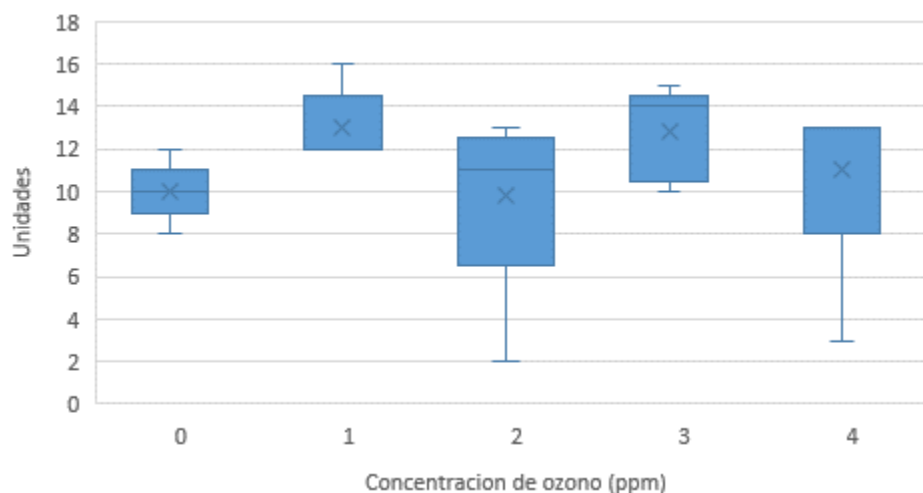


Figura 19. Evolución de unidades de calabacín cosechadas (nivel de significación 0.05)

### 3.3.6.CEBOLLA

En la Tabla 12 se muestran las medias en unidades y pesos de aplicar ozono en diferentes concentraciones en cebolla. No se muestran diferencias significativas en los tratamientos en cultivo de cebolla, aunque se muestra una ligera tendencia a mayores índices productivos en el tratamiento de 1 ppm.

Tabla 12. Medias estadísticas por tratamiento en cebolla (nivel de significación 0.05)

	UD	PESO TOTAL	BULBO	HOJAS
<b>CONTROL</b>	5 a	969,8 a	565,9 a	403,9 a
<b>T1 PPM</b>	5 a	1163,0 a	689,4 a	473,6 a
<b>T2 PPM</b>	4,4 a	878,9 a	583,3 a	295,6 a
<b>T3 PPM</b>	5 a	1093,8 a	652,8 a	441,1 a
<b>T4 PPM</b>	5 a	1093,0 a	671,6 a	421,4 a

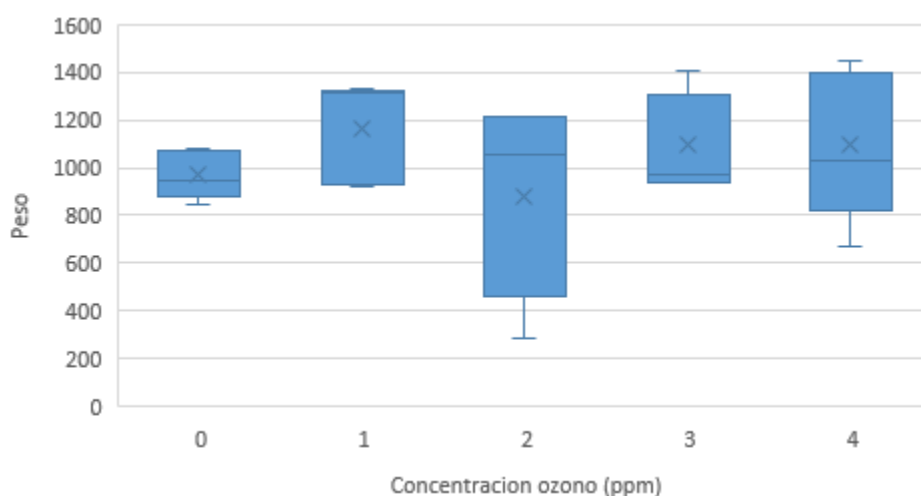


Figura 20. Evolución del peso de bulbo de la cebolla a diferentes concentraciones de ozono (nivel de significación 0.05)

### 3.3.7.REPOLLO

En la Tabla 13 se muestra como solo en el tratamiento a 4 ppm el peso de la raíz es mayor al de los demás tratamientos, aunque no son diferencias significativas.

Tabla 13. Medias estadísticas de rendimientos en repollo (nivel de significación 0.05)

	PARTE AÉREA			RAÍCES		
	PESO (g)	DIÁMETRO (cm)	ALTURA (cm)	PESO (g)	DIÁMETRO (cm)	LARGO (cm)
<b>CONTROL</b>	2340,7 a	57,0 a	17,7 a	192,9 a	12,9 a	28,0 a
<b>T1PPM</b>	2286,4 a	56,4 a	16,6 a	206,4 a	12,1 a	28,0 a
<b>T2PPM</b>	2546,4 a	63,0 ab	21,7 a	224,3 a	16,4 ab	26,4 a
<b>T3PPM</b>	3221,4 a	70,9 b	21,0 a	222,9 a	18,7 b	26,3 a
<b>T4PPM</b>	3027,1 a	68,0 ab	21,7 a	315,0 b	17,0 ab	29,6 a

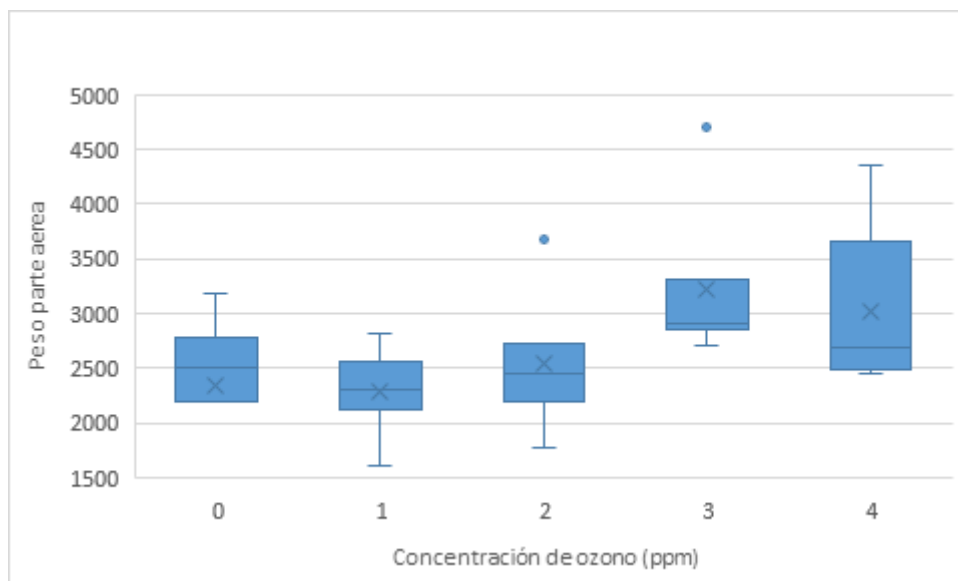


Figura 21. Evolución de peso (g) de la parte aérea en repollo (nivel de significación 0.05)

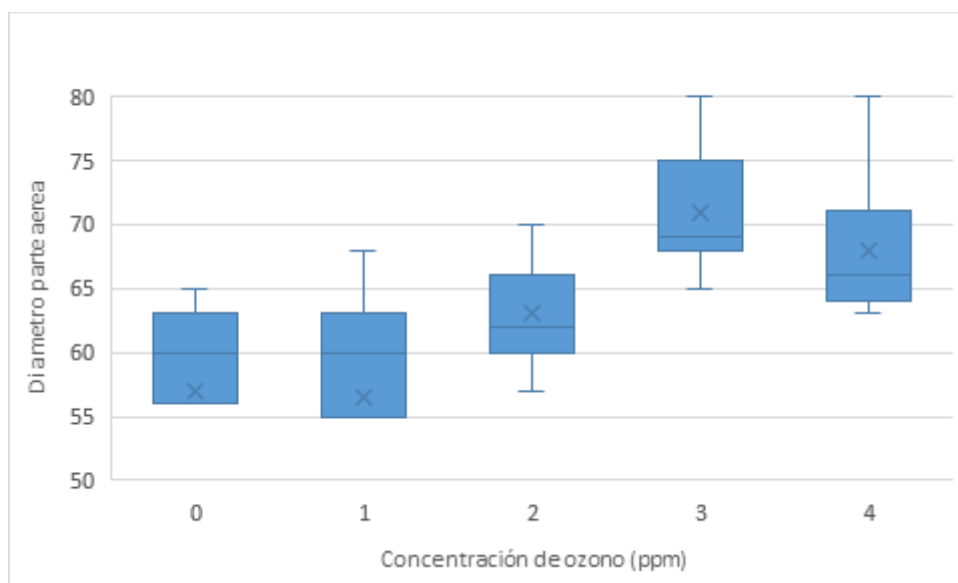


Figura 22. Evolución del diámetro (cm) de parte aérea (nivel de significación 0.05)

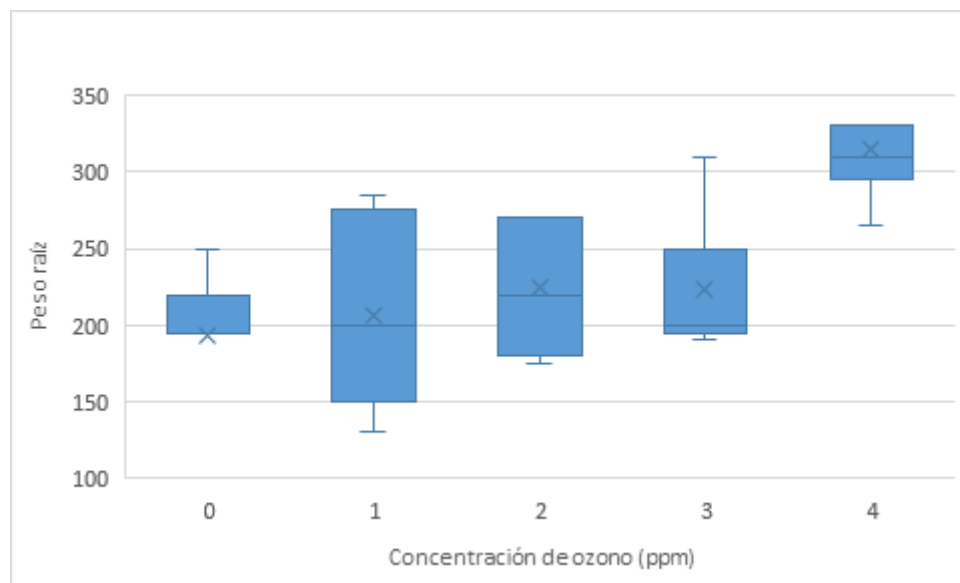


Figura 23. Evolución de peso de la raíz (g) en repollo (nivel de significación 0.05)

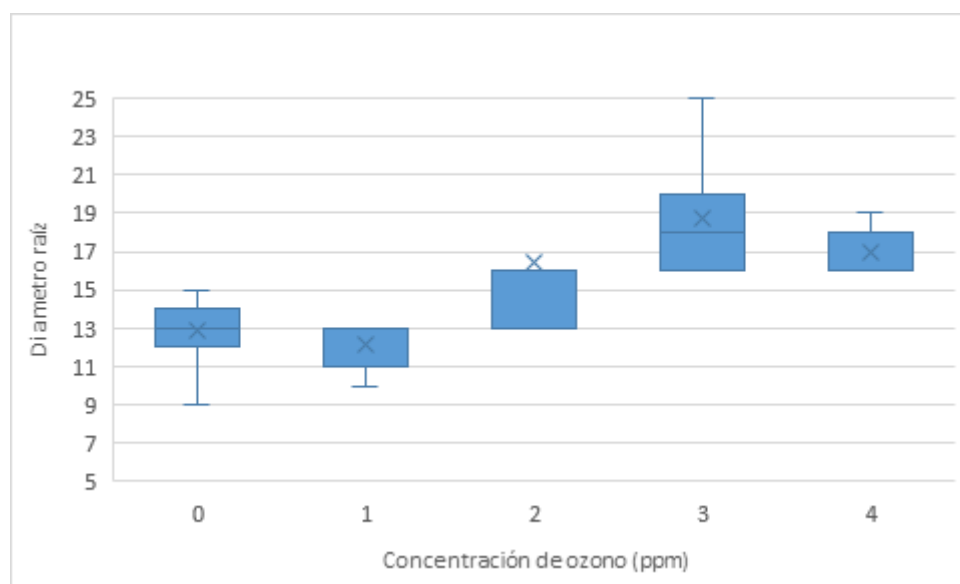


Figura 24. . Evolución diámetro (cm) de repollo (nivel de significación 0.05)

### 3.3.8.LOMBARDA

En la Tabla 14 se muestran las medias en unidades y pesos de aplicar ozono en diferentes concentraciones en lombarda. No se muestran diferencias significativas en los tratamientos en cultivo de lombarda, aunque se muestra una ligera tendencia a mayores índices productivos en el tratamiento de 3 ppm tanto en la parte aérea como en raíces.

Tabla 14. Medias de rendimiento de lombarda

	PARTE AÉREA			RAÍCES			Peso total (g)
	PESO (g)	DIÁMETRO (cm)	ALTURA (cm)	PESO (g)	DIÁMETRO (cm)	LARGO (cm)	
CONTROL	1578,4 a	46,3 a	12,3 a	97,9 a	5,0 a	26,0 a	1676,3 a
T1PPM	1647,9 a	40,0 a	10,7 a	103,6 a	4,3 a	25,6 a	1751,4 b
T2PPM	1757,1 a	45,4 a	12,3 a	110,7 a	3,9 a	23,0 a	1867,9 a
T3PPM	1989,3 a	48,3 a	14,3 a	130,7 a	3,7 a	25,3 a	2120,0 b
T4PPM	1526,9 a	48,4 a	13,0 a	90,0 a	8,3 a	20,0 a	1616,9 c

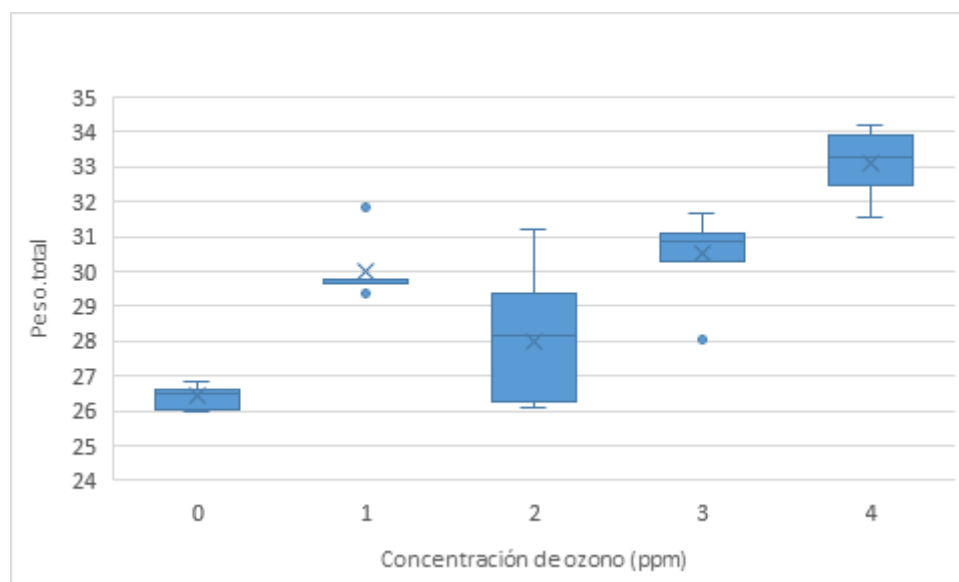


Figura 25. Evolución de peso total de la parte aérea (kg) en la lombarda (nivel de significación 0.05)

### 3.3.9. PATATA

En la Tabla 15 se muestran las medidas por categorías de tubérculos de patata para los distintos tratamientos de ozono aplicados en el ensayo. No se muestran diferencias significativas en los tratamientos en cultivo de patata, aunque se muestra una ligera tendencia a mayores índices productivos en el tratamiento de 3 ppm.

Tabla 15. Resumen de categorías de tubérculos de patata según su diámetro

Tratamiento	Peso Tota (kg)	Nº	<40mm		40-65mm		65-75mm		>75mm	
			Peso [Kg]	Nº	Peso [Kg]	Nº	Peso [Kg]	Nº	Peso [Kg]	Nº
Control	26,67	307,00	5,27	114,00	21,14	192,00	0,26	1,00	0	0
1PPM	28,15	383,00	4,42	157,00	22,29	219,00	1,45	7,00	0	0
2PPM	23,99	335,00	3,91	153,00	18,99	178,00	1,10	4,00	0	0
3PPM	24,00	293,00	3,22	118,00	20,21	173,00	0,21	1,00	0,36	1,00
4PPM	21,49	263,00	2,22	85,00	17,38	171,00	1,89	7,00	0	0

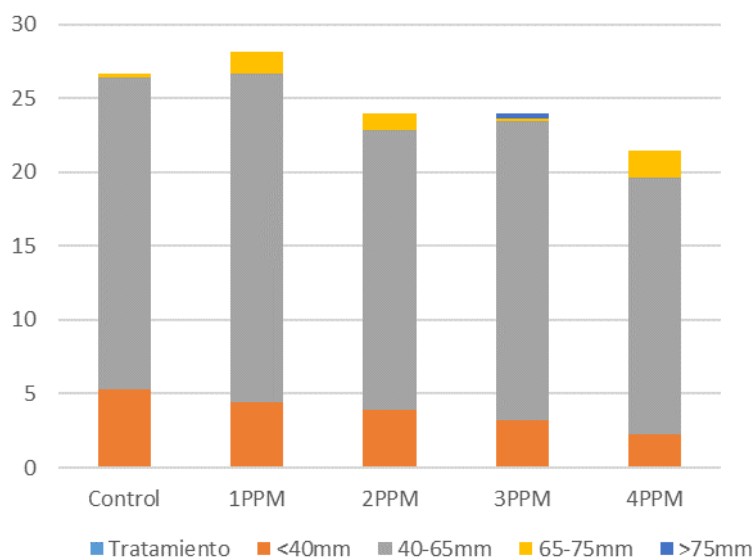


Figura 26. Peso acumulado por calibres [Kg]

### 3.3.10. CEBADA

La tabla 16, muestra un resumen de rendimiento y peso específico de cebada para cada uno de los tratamientos aplicados. No se muestran diferencias significativas en los tratamientos en cultivo de cebada, aunque se muestra una ligera tendencia a mayores índices productivos en el tratamiento de 3 ppm.

Tabla 16. Resumen de rendimiento y peso específico de cebada

Tratamientos	Rendimiento [toneladas/ha]	Peso específico [g/L]
1ppm	5,16 ab	51,03 a
2ppm	5,41 ab	53,53 ab
3 ppm	5,87 b	55,10 b
4ppm	4,88 a	53,57 ab
Control	5,03 a	52,97 ab

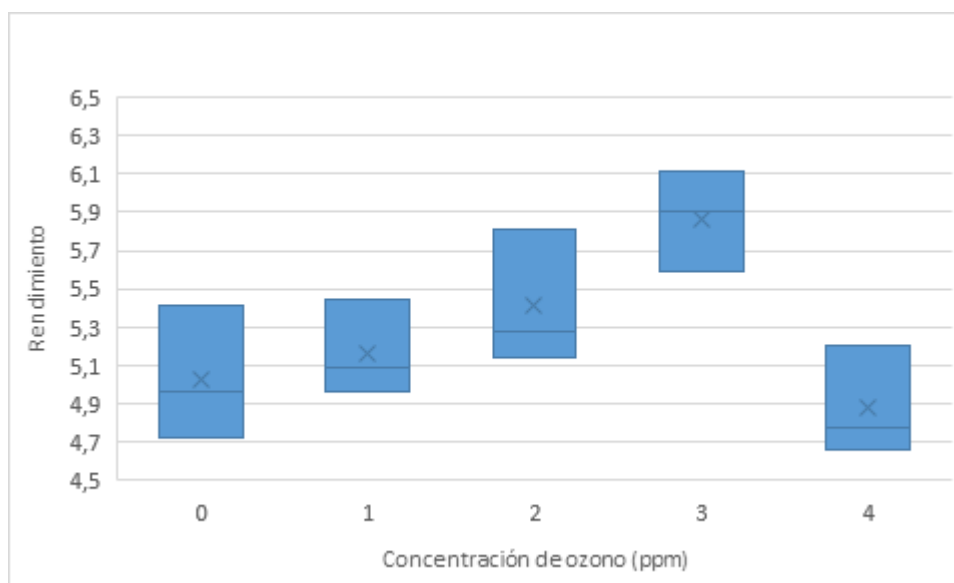


Figura 27. Evolución de rendimiento [toneladas/ha] de cebada por tratamiento. (nivel de significación 0.05)

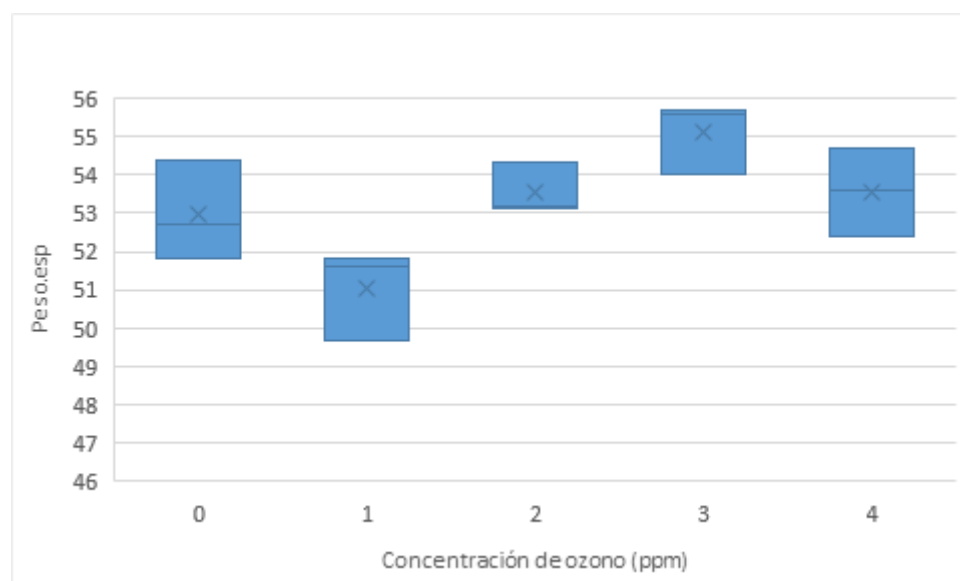


Figura 28. Evolución de peso específico de cebada por tratamiento. (nivel de significación 0.05)

### 3.3.11. TRIGO

La tabla 17, muestra un resumen de rendimiento y peso específico de trigo blando para cada uno de los tratamientos aplicados. No se muestran diferencias significativas en los tratamientos en cultivo de trigo.

Tabla 17. Resumen de rendimiento y peso específico de trigo blando

Tratamientos	Rendimiento [toneladas/ha]	Peso específico [g/L]
1ppm	2,88 b	62,60 a
2ppm	2,51 ab	63,53 a
3 ppm	2,60 ab	64,17 a
4ppm	2,18 a	59,60 a
Control	2,51 ab	62,60 a

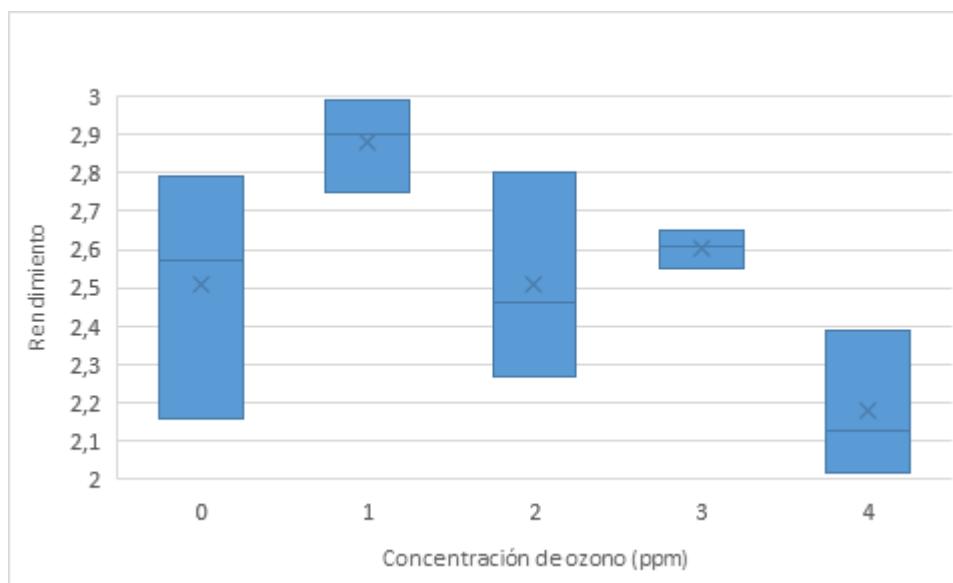


Figura 29. Evolución de rendimiento [toneladas/ha] de trigo por tratamiento. (nivel de significación 0.05)

## 4. CONCLUSIONES GENERALES

### 5.1. Evolución de suelos

El ozono a dosis por encima de 2 ppm supone una destrucción de la materia orgánica oxidable del suelo, presentando mayores destrucciones conforme se incrementa esta concentración llegando a alcanzar la destrucción de un 8% de la materia orgánica a concentraciones de 4 ppm.

Esta pérdida de la materia orgánica supone la destrucción del complejo arcillo-húmico, que supone la liberación de determinados iones como es el potasio o los fosfatos. Esto supone un aumento de los niveles de fósforo asimilable en el suelo, ya que el fósforo es poco móvil en el suelo, permaneciendo en el entorno radicular la planta. En el caso del potasio sucede que, al ser un elemento móvil en el suelo, este se lava a capas profundas no quedando disponible.

Por ejemplo, en un suelo típico de viñedo con un contenido en materia orgánica del 0.75% (28.125 Kg por hectárea de materia orgánica en los 30 cm), supone que realizar de forma continuada un tratamiento de 4ppm de agua ozonificada podemos perder 2250 Kg/ha de materia orgánica.

Por otro lado, la tendencia de la microbiología del suelo permite afirmar que la disminución del carbono oxidable del suelo no deriva de la acción de los microorganismos que pudieran haberse incrementado por la aplicación de agua ozonificada. La disminución del carbono orgánico del suelo se ha debido solo a la acción oxidante del ozono. Además, la aplicación de ozono en suelo no ha mostrado ser efectivo para la eliminación de los microorganismos aerobios, mohos y levaduras, lo que hace cuestionarse la efectividad de esta práctica como desinfectante de los suelos.

### 5.2. Sanidad vegetal

La aplicación pulverizada de agua ozonizada presenta una tendencia de mejora en la sanidad vegetal del cultivo de la remolacha frente a la *Cercospora beticola* Sacc y en frutales para la Psila (*Cacopsylla pyri* L.) y el pulgón *Myzus ceresai* con tratamientos superiores a 4 ppm, pero no es una diferencia significativa. Aunque el tratamiento con agua ozonizada no erradica las enfermedades de la hoja de cultivos leñosos, si es capaz de ejercer un control sobre la carga de algunos insectos y hongos.

La aplicación de riego de agua ozonizada a distintas concentraciones de ozono 1, 2, 3 y 4 ppm no son efectivos en el control de la roya amarilla (*Puccinia striiformis*) en el cultivo del cereal.

La aplicación de ozono presenta una ligera reducción en la microbiota del suelo, pero no es una diferencia significativa.

### 5.3. Producción de cultivo

En el caso de los cultivos hortícolas las conclusiones no son significativas estadísticamente por lo que no podemos concretar que la aplicación de riego por goteo a 1, 2, 3 y 4 ppm (mg de ozono/litro de agua) influya en el producción y calidad de las hortalizas. Sin embargo, cabe destacar algunas tendencias observadas.

En las hortalizas de verano se observa un ligero incremento en los tratamientos de 1 y 2 ppm para judías, pimientos y remolacha de mesa. En las de invierno; lombarda, repollo y patata la tendencia aumenta con los tratamientos 3 y 4 ppm.

## 5. PLAN DE TRABAJO

La investigación se llevó a cabo en cinco fases:

Fase I, se evaluó la persistencia del ozono en el agua en función de las diferentes formas de aplicación, fase II se determinó el efecto del ozono en los suelos agrícolas, en la fase III el efecto del ozono ante patógenos, en la fase IV se realizó evaluaciones de coadyuvantes en el proceso de ozonificación para aplicación en tratamientos foliares y finalmente se llevó a cabo la fase V; en la cual se efectuó evaluaciones agronómica de coadyuvantes en el proceso de ozonificación para posterior aplicación en tratamientos foliares en ensayos de campo y del riego con agua ozonizada.

Para la generación de ozono  $O_3$  se utilizó un generador marca Todozono, el agua ozonificada se generó en el lugar y el momento de su aplicación, por lo cual se diseñó y realizó un tanque hermético y con las adecuaciones técnicas para almacenar y facilitar el proceso de ozonificación. Para alcanzar las concentraciones de ozono en agua, se realizaron diversas pruebas monitoreando la temperatura, el pH, el potencial de óxido reducción del agua, empleada en los diversos ensayos; a diferentes tiempos de ozonificación adicionalmente se evaluó la concentración del ozono en agua, para establecer los diferentes tratamientos empleados en los ensayos.

### 5.1. Fase I. Evaluación de la persistencia del ozono en el agua en función de las diferentes formas de aplicación.

#### 5.1.1. Evaluación de la persistencia en diferentes conducciones cerradas de riego

Se ha trabajado con tres tipos de materiales distintos para analizar la persistencia de las conducciones cerradas; aluminio, policloruro de vinilo (PVC) y polietileno (PE). A continuación, se describe el equipo utilizado para la inyección de ozono en el agua.

El equipo consta de 3 elementos:

- El respirador proporciona oxígeno gaseoso puro al generador de ozono.
- El oxígeno puro entra simultáneamente en dos cartuchos de plasma con la capacidad de generar 30 gramos de ozono cada uno de ellos. El ozono se forma porque un pulso eléctrico disocia la molécula diatómica de oxígeno ( $O_2$ ) en dos átomos de oxígeno (O, O) capaces de formar un enlace con  $O_2$  y generar una nueva molécula de ozono  $O_3$
- El ozono generado se mezcla a través de un venturi con el agua que recircula en el depósito. Una sonda toma continuamente agua del depósito y mide la concentración de  $O_3$  y la temperatura

El equipo dispone de una sonda que mide a tiempo real la concentración de ozono disuelto en el tanque de agua ozonizada.

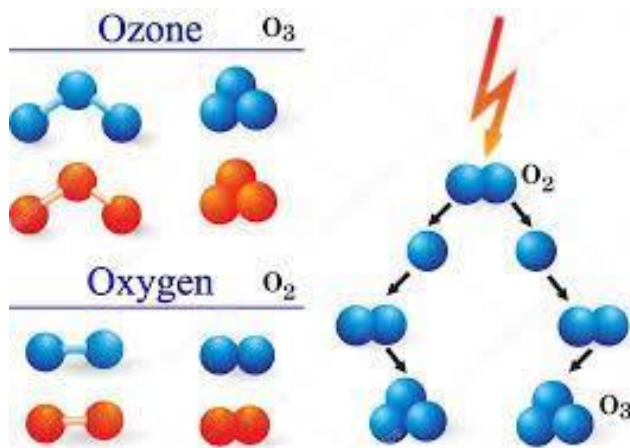


Figura 30. Generación de la molécula de ozono

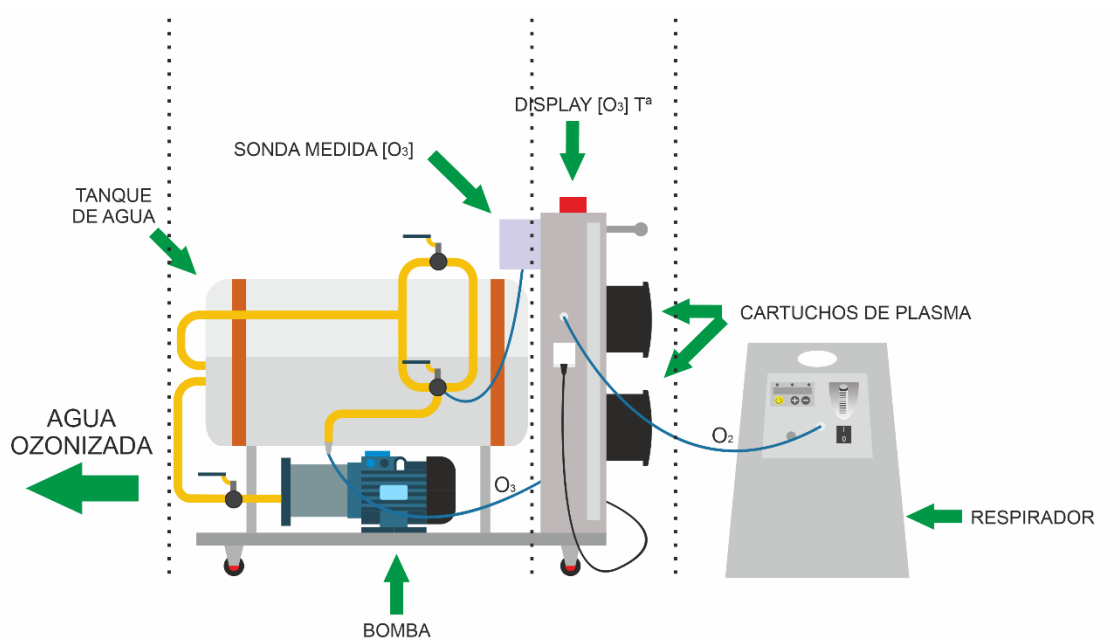


Figura 31. Generación ozono. Equipo Todozono (Autor: Jorge Díez Franco)

Para analizar la persistencia de las conducciones cerradas de riego se ha utilizado el generador de ozono descrito anteriormente conectado a tuberías de aluminio, PVC y PE y se midió la concentración de ozono a la entrada y a la salida de las conducciones, así como la durabilidad y estabilidad de los materiales utilizados.

Tabla 18. Características de los materiales de conducción en función de la aplicación de agua ozonizada

Material de conducción	Longitud de conducción (cm)	Diámetro de la conducción	[O <sub>3</sub> ] entrada red riego (ppm)	[O <sub>3</sub> ] salida red riego (ppm)	Temperatura agua (C)	Temperatura tratamiento (C)
Aluminio	250	1 pulgada	4,3 ppm	4 ppm	15°C	16,2°C
PVC	250	1 pulgada	4,5 ppm	4 ppm	15°C	16,3°C
PE	250	1 pulgada	4,6 ppm	4 ppm	15°C	15,9°C

Tabla 19. Resistencia de los materiales utilizados en las conducciones de riego con agua ozonizada

	ALUMINIO	PVC Policloruro de vinilo	PE Polietileno
Tratamiento 1 ppm	Resistente	Resistente	Parcialmente resistente
Tratamiento 2 ppm	Resistente	Resistente	Parcialmente resistente
Tratamiento 3 ppm	Resistente	Resistente	Parcialmente resistente
Tratamiento 4 ppm	Resistente	Resistente	Parcialmente resistente

### 5.1.2. Evaluación de la concentración de ozono en el suelo regado en función del sistema de riego utilizado.

Para realizar esta evaluación se efectuó un análisis en función de los diferentes tipos de sistemas de riego; goteros, aspersores, micro aspersores y nebulizadores. Se midió la concentración de ozono generado en el tanque de disolución con el agua de riego y la concentración de ozono a la salida del equipo en cada uno de los sistemas utilizados. La temperatura de trabajo fue de 15°C y se mantuvo constante para todos los tratamientos aplicados.

Tabla 20. Concentración de ozono en los sistemas de riego utilizados

Concentración de ozono (T <sup>a</sup> = 15°C)		Sistemas de riego		
		Goteros	Aspersores	Microaspersores/Nebulizadores
1ppm	[O <sub>3</sub> ] en el equipo	1ppm	1ppm	1ppm
	[O <sub>3</sub> ] a la salida del tanque de riego	1ppm	1ppm	1ppm
	[O <sub>3</sub> ] a la salida de la conducción de riego	1ppm	1ppm	1ppm
2ppm	[O <sub>3</sub> ] en el equipo	2ppm	2ppm	2ppm
	[O <sub>3</sub> ] a la salida del tanque de riego	2ppm	2ppm	2ppm
	[O <sub>3</sub> ] a la salida de la conducción de riego	2ppm	2ppm	2ppm
3ppm	[O <sub>3</sub> ] en el equipo	3ppm	3ppm	3ppm
	[O <sub>3</sub> ] a la salida del tanque de riego	3ppm	3ppm	3ppm
	[O <sub>3</sub> ] a la salida de la conducción de riego	3ppm	3ppm	3ppm
4ppm	[O <sub>3</sub> ] en el equipo	4ppm	4ppm	4ppm
	[O <sub>3</sub> ] a la salida del tanque de riego	4ppm	4ppm	4ppm
	[O <sub>3</sub> ] a la salida de la conducción de riego	4ppm	4ppm	4ppm

### 5.1.3. Definir un método para evaluar los parámetros de ozonificación del agua en función de la naturaleza del agua y temperatura

Para la evaluación de la ozonificación de los diferentes tipos de agua se realizó el siguiente protocolo:

1. Se prepararon cinco disoluciones de agua salada a la concentración de; 0,1 g/l, 0,2 g/l, 0,3 g/l, 0,4 g/l y 1 g/l
2. A continuación, se realizó la ozonificación de las muestras de agua salada por separado a 18°C, en un recipiente cerrado de 1 litro con un espacio de cabeza.
3. Se agitaron los recipientes a 1000 rpm
4. Monitorizando al final de 5 minutos la concentración de ozono presente el agua.

Tabla 21. Parámetros de ozonización del agua en función de la naturaleza del agua y la temperatura

Concentración de sal de las muestras tratadas		Concentración de [O <sub>3</sub> ] (ppm)	ORP (mV)	Conductividad eléctrica μS
1	0.1 g/l	0	350	227
2		1 ppm	614	285
3		2 ppm	825	221
4		3 ppm	844	286
5		4 ppm	657	285
6	0.2 g/l	0	315	457
7		1 ppm	703	506
8		2 ppm	803	513
9		3 ppm	893	500
10		4 ppm	862	500
11	0.3 g/l	0	330	653
12		1 ppm	720	686
13		2 ppm	818	682
14		3 ppm	903	706
15		4 ppm	849	657
16	0.4 g/l	0	318	858
17		1 ppm	763	912
18		2 ppm	837	906
19		3 ppm	872	920
20		4 ppm	855	877
21	1 g/l	0	325	2057
22		1 ppm	765	2083
23		2 ppm	823	2049
24		3 ppm	868	2081
25		4 ppm	868	2003

Los equipos utilizados para verificar la concentración de ozono generada en el equipo Todozono a la salida de la conducción del tanque del agua ozonizada han sido; fotómetro, ORP/REDOX tester y Redoxímetro y la concentración salina disuelta en el agua ozonizada se realizó mediante un conductímetro (Ilustración 3 y 4 respectivamente).



Figura 32. Equipos de medida de ozono y conductividad eléctrica



Figura 33. Equipos utilizados para medir el potencial Redox y la conductividad eléctrica del agua a distintas concentraciones de sal y ozono

Temperaturas próximas a 20°C influyen negativamente en la disolución del ozono en agua, por lo que para evitar la interferencia de la temperatura en la solubilidad del ozono en agua las pruebas de laboratorio se han realizado a una temperatura constante de 15°C.

## 5.2. Fase II. Determinación del efecto del ozono en los suelos agrícolas

### 5.2.1. Determinar el efecto del agua ozonizada en la concentración de materia orgánica del suelo.

Se determinó en condiciones de laboratorio el efecto de la aplicación de agua ozonizada en 6 suelos agrícolas a 5 concentraciones de agua ozonizada (0 ppm -4ppm) (Tabla 5) donde se determinó la influencia del riego en el carbono orgánico soluble, y la tasa de descomposición de los suelos evaluando la persistencia de los microorganismos responsables de la descomposición de la materia orgánica, y el efecto en la disponibilidad de nutrientes en cebada (*Hordeum vulgare*).

Inicialmente se realizó la recolección y análisis de suelos provenientes de actividades agrícolas en diferentes localidades y con diferentes características fisicoquímicas (Tabla 6) tales como textura, contenidos de pH, materia orgánica, nutrientes asimilables. Posteriormente se realizó en los suelos pruebas de capacidad de campo, para determinar la capacidad de retención de agua de cada suelo. Luego se efectuó el montaje del ensayo en condiciones de laboratorio para lo cual se depositaron en macetas 200 g de suelo, realizando 5 repeticiones por cada suelo agrícola; posterior se efectuó el riego, recolección de muestras y reposición de suelo de acuerdo a parámetros técnicos.



Figura 34. Tipos de suelos ensayados

Tabla 22. Características de los suelos ensayados

SUELOS	S1	S2	S3	S4	S5	S6
LOCALIDADES	Villamuera de la Cueva	Palencia	Viñalta Palencia	Villamuriel de Cerrato	Autillo de Campos	Torquemada
Textura	Franco arcillo arenoso	Arcilloso grueso	Arcilloso fino	Franco arcillosa	Arcilloso arenoso	Arcilloso grueso
pH	6,39	8,31	8,23	8,2	7,38	7,92
Conductividad (mS/cm)	0,36	0,19	0,22	0,25	9,7	0,56
Materia orgánica	1,51%	0,57%	2,23%	1,65%	3,00%	1,63%

<b>P asimilable (ppm)</b>	35,2	no detectable	23,6	11,2	214,5	21,2
<b>K asimilable (ppm):</b>	238,0	112,0	510,0	264,0	779,0	382,0
<b>Ca (meq/100g):</b>	6,3	37,4	39,6	44,6	41,1	42,0
<b>Mg (meq/100g):</b>	1,40	2,09	2,37	1,56	2,37	2,31
<b>Sodio (meq/100g):</b>	0,01	0,07	0,03	0,02	0,28	0,05

Las figuras 36, 37 y 38 muestran el montaje de las macetas ensayadas; pesaje de cada suelo (200 gramos/suelo), 5 repeticiones/suelo y 6 tipos de suelos.

Y las ilustraciones 10 y 11 representan el momento del riego con agua ozonizada por tratamiento, réplica y tipo de suelo. Se aplicaron 50 ml de agua ozonizada a 0, 1, 2, 3 y 4 ppm/l con una frecuencia de 1 vez/semana durante 2 meses.



Figura 35. Pesaje muestras



Figura 36. Repeticiones de cada suelo



Figura 37. Tratamiento de ozono

### 5.3. Fase III. Determinación de efecto del ozono ante los patógenos

### 5.3.1. Efecto nematocida del ozono

Se tomaron suelos de cultivo de remolacha con infestación por nematodos, se colocaron sobre macetas y se regaron con agua ozonizada a concentración de 0, 1, 2, 3 y 4 ppm, con una frecuencia de 1 vez/semana durante 60 días

En laboratorio mediante el análisis del suelo se determinaron los quistes presentes tras la aplicación de los tratamientos de ozono.





Figura 38. Suelo de cultivo de remolacha con infestación por nematodos y recuento de nematodos tras la aplicación de los tratamientos con agua ozonizada

### 5.3.2. Efecto del tratamiento de ozono en suelos de la *Rhizoctonia solani*

Se tomaron muestras de suelo infectadas con *Rhizoctonia solani* y se regaron con agua ozonizada a concentración de 0, 1, 2, 3 y 4 ppm, con una frecuencia de 1 vez/semana durante 60 días. A continuación, se tomaron muestras de los suelos tratados y se realizó un cultivo en placa Petri con un medio selectivo para el desarrollo del patógeno y evaluó el número de ufc/gramo de suelo.





Figura 39. Aplicación de tratamiento de agua ozonizada en patata y aislamiento de *Rhizoctonia Solani* en placa Petri

### 5.3.3. Efecto del tratamiento de ozono en las enfermedades fúngicas de hoja, Mildiu y Oidio

Se trataron las de cepas de vid que presentaban síntomas de Mildiu y Oidio en hoja. Se realizaron 5 tratamientos de agua ozonizada a 0, 1, 2, 3 y 4 ppm/l a las plantas infectadas. Los tratamientos fueron aplicados con mochila en el haz y el envés de las hojas afectadas, impactando sobre el patógeno. El tratamiento se repitió a los 21 días durante 3 ciclos. Los resultados comenzaron a notarse a los 35-40 días de la primera aplicación, mostrando los nuevos brotes de las plantas exentos de plaga o enfermedad.

Este mismo tratamiento se repitió en el invernadero con plantas de calabacín que presentaban síntomas de oídio no siendo efectivos los tratamientos en estas condiciones.



Figura 40. Síntomas de Mildiu y Oidio en la hoja de vid

#### 5.4. Fase IV. Evaluación de coadyuvantes en el proceso de ozonificación para posterior aplicación en tratamientos foliares

##### 5.4.1. Determinación del efecto de zeolitas y azufre-diatónico en los procesos de ozonificación y aplicación de tratamientos foliares.

Tras los análisis de solubilidad y difusión de zeolitas y azufre-diatónico en el laboratorio, ambos tratamientos fueron descartados por la dificultad de aplicación en pulverización como tratamiento foliar.

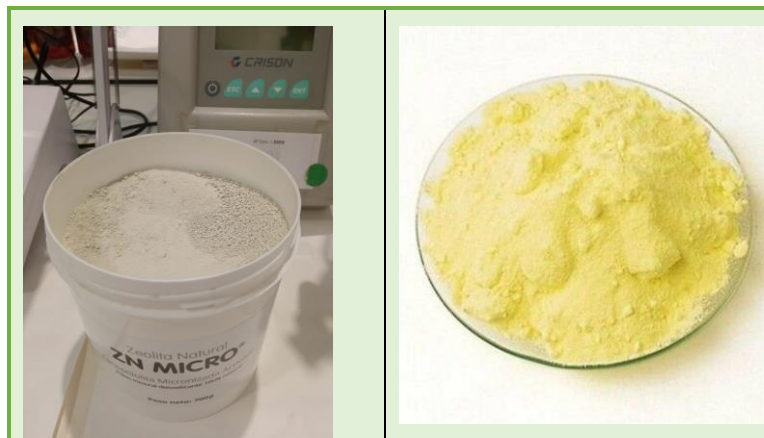


Figura 41. Coadyuvantes para la aplicación de tratamientos foliares

#### 5.5. Fase V. Evaluación agronómica de coadyuvantes en el proceso de ozonificación para posterior aplicación en tratamientos foliares en ensayos de campo y del riego con agua ozonizada

La evaluación agronómica de los cultivos se ha desarrollado sólo con agua de riego ozonizada a distintas concentraciones, no se han aplicado los coadyuvantes en el proceso de ozonificación porque los resultados obtenidos en las fases anteriores mostraron su inviabilidad en el proceso.

En el ensayo se ha trabajado con 4 concentraciones de agua ozonizada; 1,2,3 y 4 ppm. El equipo dispone de un sistema de refrigeración hídrica en los cartuchos de plasma que producen el impulso eléctrico y le permite mantener la temperatura por debajo de 15°C, alcanzando una concentración estable de ozono de hasta 4ppm.

El equipo de ozono es un equipo móvil dispuesto sobre una plataforma con ruedas y conexiones estándares que permiten su incorporación tanto en la línea de riego del invernadero como en los campos de ensayo de Santana

Se realizaron los ensayos propuestos en la memoria divididos en tres áreas de trabajo:

### 5.5.1. Ensayos de campo al aire libre

Cultivos de cereal (maíz, trigo y cebada), cultivos oleaginosos (cártamo), cultivo proteaginoso (garbanzo), cultivo tubérculo (patata). Se realizaron los ensayos con riego con agua ozonizada a 0, 1, 2, 3 y 4 ppm.

Se descarta el cultivo del girasol porque es una zona con un elevado tránsito de aves que pudieran dañar la cosecha del girasol como ocurrió con el maíz a pesar de ser un cultivo menos atractivo para ellas.



Figura 42. Conexiones equipo de ozono a los ramales fijos de riego de Santana

### 5.5.2. Ensayos en invernadero climatizado

Con cultivos de raíz (remolacha) y cultivos hortícolas (lechuga, pimiento, cebolla, judías verdes, calabacín, lombarda, brócoli, repollo). Se realizaron los ensayos con riego con agua ozonizada a 0, 1, 2, 3 y 4 ppm.

La figura 43 muestra la conexión del equipo de ozono a la tubería de riego del invernadero (tubería horizontal), a partir de la cual salen los 7 ramales fijos de goteros de polietileno agrícola para la aplicación de los tratamientos ensayados; control (solo agua de riego), T1ppm (agua ozonizada con 1 ppm), T2ppm (agua ozonizada con 2 ppm), T3ppm (agua ozonizada con 3 ppm) y T4ppm (agua ozonizada con 4 ppm). El equipo de ozono dispone de una entrada conectada al pozo que suministra el agua de riego, una vez lleno el depósito pulmón del equipo (blanco) con una capacidad de 60 litros se cierra la entrada de agua y se genera el ozono que se disuelve hasta su perfecta homogeneización con el agua, cuando la sonda nos indica la concentración de ozono en el agua (p.e 1ppm), se abre solo el ramal del tratamiento de 1ppm hasta aportar el agua de todo el depósito y así sucesivamente hasta completar el riego de todos los tratamientos.



Figura 43. Conexión del generador de ozono al sistema de riego del invernadero

### 5.5.3. Ensayos en el área en cultivos arbustivos permanentes (almendro, manzano, peral).

Se trataron distintos tipos de frutales con la concentración más elevada alcanzada por el equipo Todozono 5 ppm de agua ozonizada.



Figura 44. Aplicación foliar con pulverización de agua ozonizada a 5 ppm en frutales

#### 5.5.4. Evaluación agronómica de tratamiento de ozono en cultivos de cereal (maíz, trigo y cebada), cártamo, garbanzo y patata

A continuación, se describen los ensayos realizados en los cultivos de maíz, patata y cártamo figura 45 y cebada, trigo y garbanzos figura 46.

Se realizó un riego con agua ozonizada/semana durante el ciclo biológico de cada cultivo aportando una media de 15 minutos con microaspersores de caudal 2l/hora. Además, se aplicó un riego solo con agua para todos los tratamientos y cultivos según las necesidades hídricas de cada cultivo.

Los tratamientos foliares con agua ozonizada más coadyuvantes no se desarrollaron ya que los resultados arrojados durante la fase I y fase II no fueron satisfactorios, debido a la falta de solubilidad y colmatación de las boquillas de los microaspersores.

Se ha dividido la superficie de campo en dos secciones A (maíz, patata y cártamo) y B (cebada, trigo y garbanzo) y se ha marcado numeralmente las líneas y los cultivos de cada línea (tabla 23) Dejando dos líneas de bordes y de izquierda a derecha, se marcó; tratamiento control y los tratamientos con agua ozonizada; a 1ppm, 2 ppm, 3 ppm y 4 ppm.

La distribución de los tratamientos experimentales, se han adoptado en un diseño estadístico con 3 réplicas por tratamiento.

Antes de la siembra se realizó un análisis de suelo para comprobar su estado nutricional, los resultados arrojaron parámetros correctos para los cultivos a ensayar, por lo que no fue necesario realizar fertilización ni aporte nutricional.

La tabla 23 detalla la fecha de siembra, dosis, fertilización, plagas y enfermedades, carencias nutricionales y fecha de recolección para cada cultivo.

Tabla 23. Cultivos ensayados en la Finca de Santana

Cultivo	Siembra	Dosis	Fertilización	Plagas/ enfermedades	Carencias nutricionales	Recolección
Maíz	20/5/2020	100000 u/ha	No aplica	Picoteo por aves	Ninguna	No se recolecta
Trigo	18/2/2020	200 k/ha	No aplica	Roya amarilla	Ninguna	8/8/2020
Cebada	18/2/2020	200 k/ha	No aplica	Ninguna	Ninguna	8/8/2020
Cártamo	20/5/2020	60000 semillas/ha	No aplica	Ninguna	Ninguna	21/9/2020
Garbanzo	20/5/2020	200 k/ha	No aplica	Ninguna	Ninguna	8/8/2020
Patata	20/5/2020	Marco de plantación: 0,70x0,30	No aplica	Leptinotarsa decemlineata	Ninguna	21/9/2020

El cultivo de maíz sufrió un ataque severo de aves, por lo que fue necesario replantar en a primeros de junio y durante su desarrollo biológico el picoteo por las aves fue constante, llegando a la fecha de recolección con una merma importante de mazorcas y grano por lo que no se cosecho.

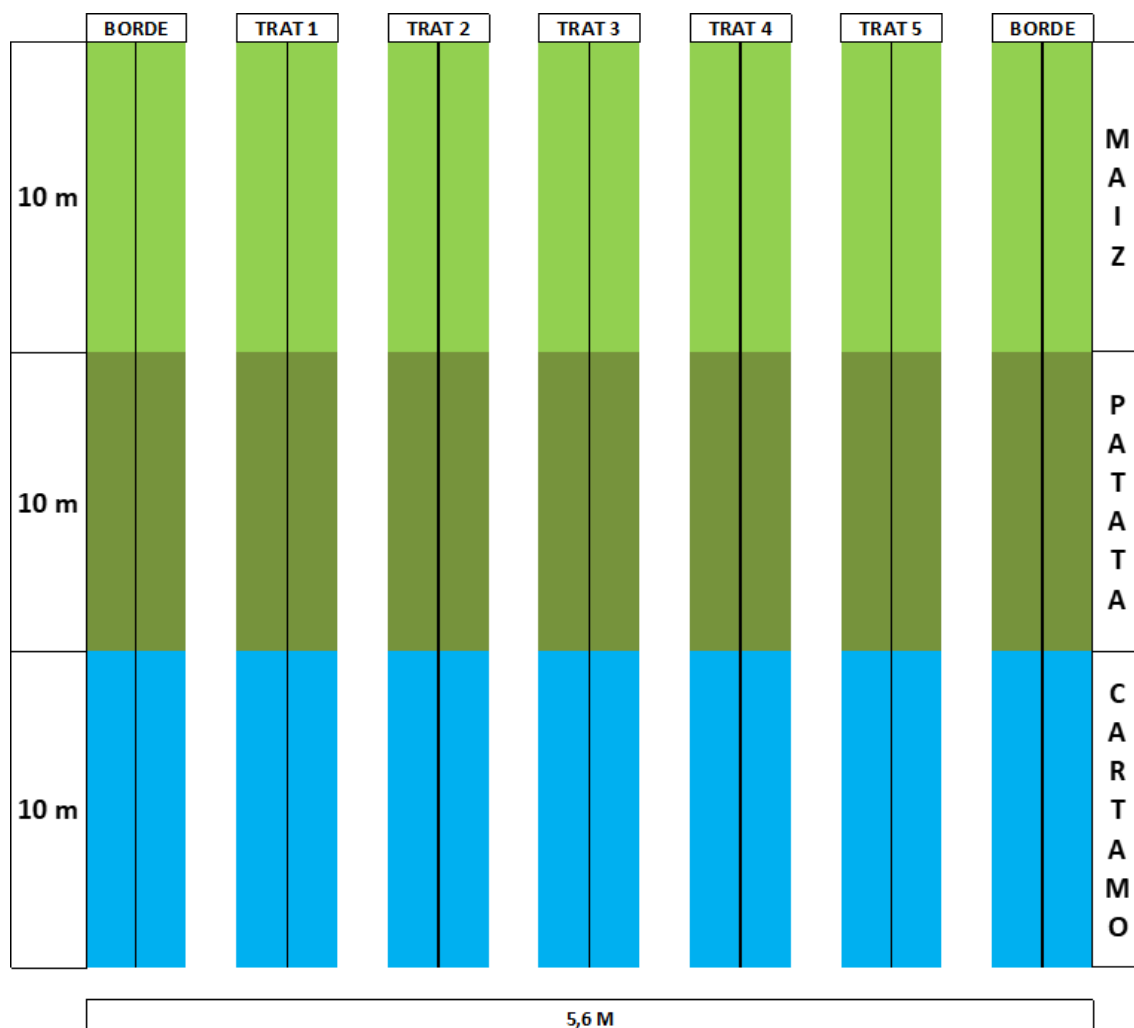


Figura 45. Distribución de los tratamientos experimentales por cultivo en la Finca de Santana

La distribución de los tratamientos experimentales se ha realizado en 3 bloques para cada cultivo y línea de tratamiento ensayado (C, T1, T2, T3 y T4), los bordes (B) no se ha tratado estadísticamente. La tabla anexa de la figura 3 muestra los cultivos y las fechas de implantación y recolección de cada una de ellos.

El sistema de riego diseñado permite aportar el riego a cada uno de los tratamientos de forma individual, así los bordes y el control se regaron con agua sin ozono a 2l/h de caudal de la boquilla y los tratamientos se regaron con el mismo caudal de agua ozonizada 2l/h y distinta concentración de ozono según el tratamiento de 1ppm, 2 ppm, 3 ppm y 4 ppm. La frecuencia de riego está condicionada a la temperatura registrada en el interior del invernadero;  $T^a < 25^{\circ}\text{C}$  se regó 3 días/semana y  $T^a > 25^{\circ}\text{C}$  la frecuencia aumento a 5días/semana.

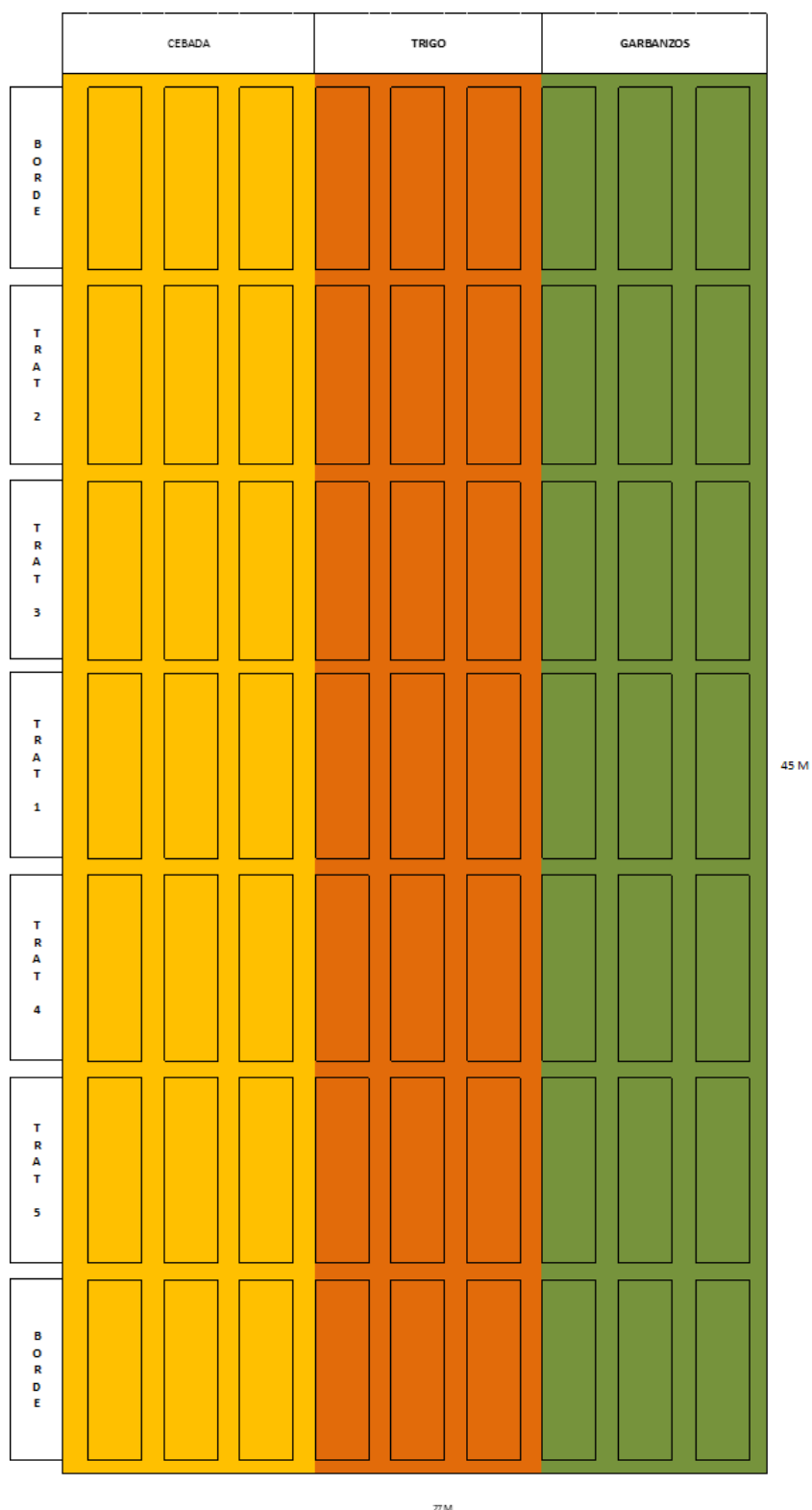


Figura 46. Distribución de los tratamientos experimentales por cultivo en la Finca de Santana

### 5.5.5. Evaluación agronómica de tratamiento de ozono en remolacha y cultivos hortícolas

Los ensayos se realizaron en un invernadero ubicado en Palencia (41°59'22.7"N 4°30'49.0"W), durante los meses de abril 2020 a febrero 2021, donde han ido alternando diferentes cultivos, agronómicamente compatibles en rotación.

La distribución de los tratamientos experimentales se ha realizado en 3 bloques para cada cultivo y línea de tratamiento ensayado (C, T1, T2, T3 y T4), los bordes (B) no se ha tratado estadísticamente. La tabla anexa de la figura 3 muestra los cultivos y las fechas de implantación y recolección de cada una de ellos.

El sistema de riego diseñado permite aportar el riego a cada uno de los tratamientos de forma individual, así los bordes y el control se regaron con agua sin ozono a 2l/h de caudal de la boquilla y los tratamientos se regaron con el mismo caudal de agua ozonizada 2l/h y distinta concentración de ozono según el tratamiento de 1ppm, 2 ppm, 3 ppm y 4 ppm. La frecuencia de riego está condicionada a la temperatura registrada en el interior del invernadero; T<sup>a</sup>< a 25°C se regó 3 días/semana y T<sup>a</sup>> a 25°C la frecuencia aumento a 5días/semana.

Cada línea de cultivo tiene una longitud de 25 m, acoge a 5 cultivos diferentes a la vez y esta recorrida por una red de tuberías en paralelo para poder abrir y cerrar cada unidad experimental. Este diseño permite aplicar los tratamientos con ozono en cada una de las unidades experimentales y gestionar el riego dependiendo de las necesidades de cada cultivo.

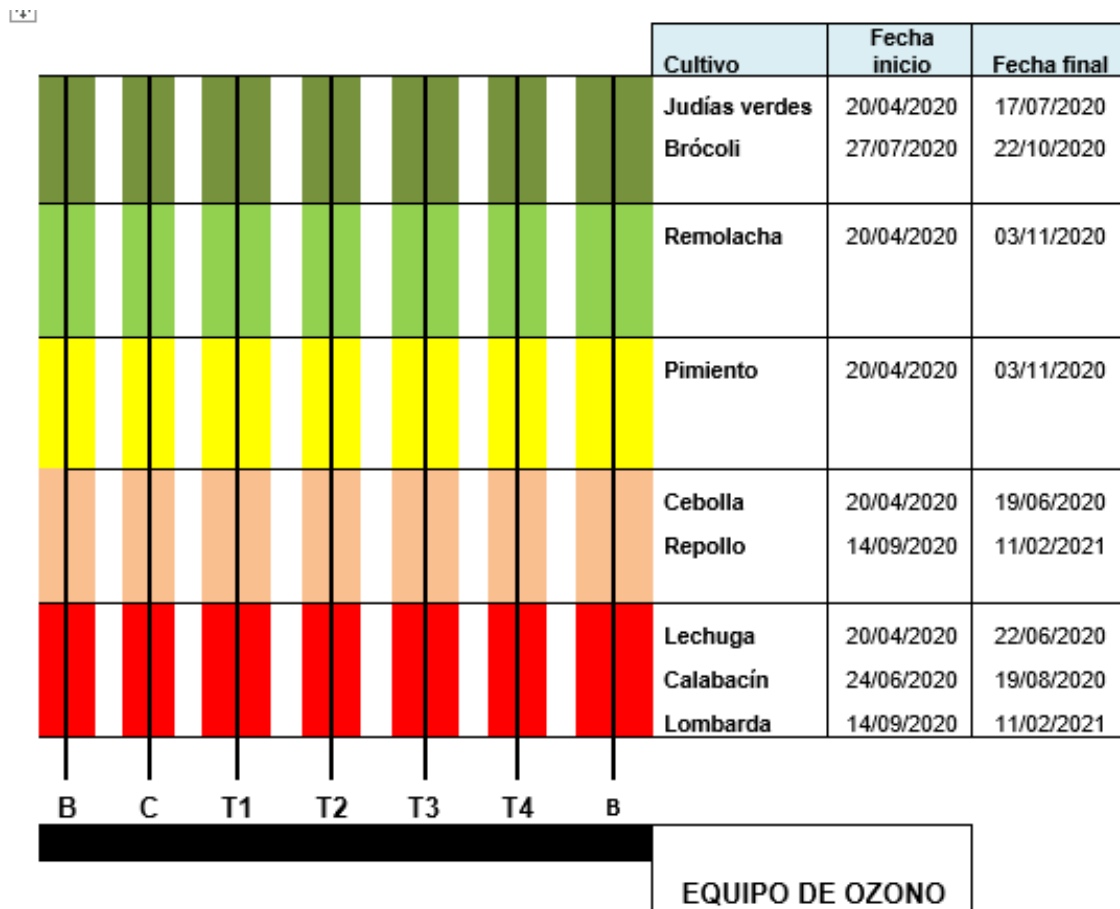


Figura 47. Distribución de los tratamientos experimentales por cultivo en el invernadero de la ETSIIAA

### 5.5.6. Ensayos en el área de frutales

La selección de frutales y cepas se realizó en base a los síntomas de enfermedades foliares presentes en las hojas, aproximadamente un 25% de los árboles y cepas presentaban sintomatología.

Se han localizado, seleccionado y marcado las arboles y cepas enfermas y, por otro lado, se han marcado las cepas sanas que se han utilizado como testigos.

La distribución de los tratamientos experimentales, se han adoptado en un diseño estadístico con 7 réplicas por tratamiento. La distribución de los 5 tratamientos de cada bloque se ha realizado al azar, abarcando toda la superficie del viñedo, etiquetando cada una de las cepas enfermas y sanas de forma visible y clara, con el fin de evitar posibles errores e interferencias con las prácticas vitícolas desarrolladas en el resto de la parcela en los dos años de duración del proyecto.

Se aplicó un tratamiento foliar con agua ozonizada a la concentración de 5 ppm y se repitió cada 15 días, hasta completar un ciclo de 3 aplicaciones

Pasados 15 días de la última aplicación de ozono se tomaron hojas de los cinco tratamientos del estudio experimental para el recuento de unidades formadoras de colonias de hongos por gramo de hoja.

El análisis se realizó mediante la siembra en placa con agar-extracto de malta del extracto obtenido de las hojas recogidas de cada tratamiento. Una vez sembradas fueron incubadas a 28°C durante 24 a 48 horas y posteriormente se hizo el recuento de las unidades formadoras de colonias crecidas en la placa.



Figura 48. Recuento de unidades formadoras de colonias fúngicas aislados de hojas de la vid de los cinco tratamientos.