HUEVOS CONTRA LA LLUVIA ÁCIDA

Alumnado IES Fidiana
Lola Cosgaya Ortiz
Paula Resina Cruces
Coordinadora del proyecto de investigación del IES Fidiana
Elena León Rodríguez

Índice

ABSTRACT *3*

1.- INTRODUCCIÓN *4*

2.- OBJETIVOS *5*

3.- FUNDAMENTOS TEÓRICOS *5*

3.1.- ¿Qué es la acidez? **5**

3.2.- Lluvia ácida y efectos producidos sobre el medio ambiente **5**

3.3.- Arabidopsis thaliana **6**

3.4.- Cultivo in vitro **6**

3.5.- Elección de la alternativa sostenible para contrarrestar los efectos de la lluvia ácida **7**

4.- MATERIALES Y MÉTODOS *8*

4.1.- Material experimental y/o instrumentos de recogida de información **8**

4.2.- Diseño del trabajo de laboratorio **9**

4.1.- Variables de estudio **11**

5.- RESULTADOS *11*

5.1.- Calidad del aire **11**

5.2.- Efectos sobre la velocidad de crecimiento **12**

5.3.- Efectos sobre la roseta **13**

5.4.- Producción de tallos secundarios (Ahijamiento) **15**

5.5.- Efecto en la floración de las plantas **16**

5.8.- Efecto en el pH de la tierra **17**

5.9.- Tratamiento estadístico de los resultados **17**

6.-DISCUSIÓN *18*

7.-CONCLUSIONES *19*

8.- AGRADECIMIENTOS *19*

9.- BIBLIOGRAFÍA *20*

ABSTRACT

HUEVOS CONTRA LA LLUVIA ÁCIDA

Cosgaya-Ortiz, L. [1] ; Resina-Cruces,P[1]; León-Rodríguez, E.[2]
1: Alumnado IES Fidiana
2: Coordinadora del proyecto de investigación IES Fidiana

RESUMEN

La lluvia ácida, generada por emisiones antropogénicas de SO_2 y NO_X, presenta graves repercusiones en la agricultura al agotar los nutrientes del suelo y debilitar la resistencia de las plantas a plagas e insectos. Este estudio investiga la eficacia de utilizar cáscaras de huevo, ricas en $CaCO_3$, como una aproximación sostenible para neutralizar los efectos de la lluvia ácida en *Arabidopsis thaliana*. Hemos cultivado las plantas en dos invernaderos: uno expuesto a diferentes niveles de acidez en el riego (pH = 4; pH = 4,5; pH = 5,5) y otro tratado con lluvia ácida y posteriormente con una solución básica de cáscaras de huevo. Nuestros resultados mostraron que la disolución de cáscara de huevo contrarrestó los efectos negativos de la lluvia ácida al promover una mayor velocidad de crecimiento en condiciones de lluvia ácida intermedia, mayor diámetro de la roseta y un adelanto de la floración, aunque con algunos efectos secundarios como menor ahijamiento del tallo o mayor pérdida de hojas en la roseta. Estos hallazgos sugieren que la reutilización de cáscaras de huevo podría ser una alternativa efectiva y sostenible para mitigar los impactos de la lluvia ácida ligera o intermedia en la agricultura.

Palabras clave: Lluvia ácida, cáscara de huevo, neutralización, reutilización, sostenibilidad

ABSTRACT

Acid rain, generated by anthropogenic emissions of SO2 and NOX, has serious impacts on agriculture by depleting soil nutrients and weakening plant resistance to pests and insects. This study investigates the efficacy of using CaCO3-rich eggshells as a sustainable solution to neutralize the effects of acid rain on Arabidopsis thaliana. We have grown the plants in two greenhouses: one exposed to different levels of acidity in irrigation (pH = 4; pH = 4.5; pH = 5.5) and the other treated with acid rain and subsequently with a basic eggshell solution. Our results showed that eggshell dilution counteracted the negative effects of acid rain by promoting higher growth rate under intermediate acid rain conditions, larger rosette diameter and earlier flowering, although with some side effects such as lower stem tillering or higher leaf loss in the rosette. These findings suggest that eggshell reuse could be an effective and sustainable alternative to mitigate the impacts of light to intermediate acid rain on agriculture.

Key words: Acid rain, eggshell, neutralization, reuse, sustainability.

1.- INTRODUCCIÓN.

Hoy en día uno de los graves problemas que se nos presentan es el cambio climático, que afecta al medio ambiente, así como el efecto de la lluvia ácida sobre los cultivos. La lluvia ácida es una precipitación con un pH más ácido de lo normal, teniendo en cuenta que un pH neutro es de 7; si el pH es inferior a 7 será ácido y, si es superior, básico. *L*a escala de aparición de los efectos de la lluvia ácida tiene dos componentes: la local, con efectos en el entorno de distintas fuentes de emisión y otra de escala regional o global, o contaminación transfronteriza.

En España, se da sobre todo en Galicia y el País Vasco, aunque también está presente en algunas partes de Cataluña y Murcia. Esto es debido en gran parte a su gran tradición industrial, lo que genera una gran cantidad de gases tóxicos durante el proceso de producción. Los óxidos de azufre y de nitrógeno son los principales precursores de la lluvia ácida, aunque también participan compuestos de cloro, amoniaco y compuestos orgánicos volátiles (TVOC). Estos compuestos reaccionan con el agua de la lluvia y se convierten en formas muy reactivas produciendo ácidos fuertes como el ácido sulfúrico y el ácido nítrico que daña a la vegetación. Las nubes y la niebla ácida roban los nutrientes esenciales del suelo lo que dificulta la nutrición de las plantas causando daños irreversibles en la resistencia de y cultivos, árboles y bosques que sufren infecciones de plagas e insectos. Sin duda, esto podría tener una repercusión negativa muy importante sobre la superficie y producción agrícola, así como en la actividad económica de España.

Este problema también se manifiesta cada vez más en Andalucía. Algunos estudios señalan los efectos de la lluvia ácida en la Costa del Sol, especialmente sobre los pinsapos (*Abies pinsapo*) del Paraje Natural de Los Reales de Sierra Bermeja y su relación con las industrias de la Bahía de Algeciras que libera contaminantes que se acumulan en el suelo del pinsapar (Gómez, 2003). Otros efectos, más devastadores para esta región, son los derivados de las emisiones atmosféricas, la quema de restos de poda o los tratamientos químicos sobre el olivar y la producción de aceite en Estepa (Fernández, 2018)

Indudablemente, la solución principal es evitar la formación de la lluvia ácida mediante el uso de energías alternativas, pero resulta evidente también la búsqueda de soluciones sostenibles que nos permitan paliar y neutralizar los efectos de la lluvia ácida de una manera eficaz mediante iniciativas de reciclaje y optimización de los recursos. En Europa se producen un millón de toneladas de cáscara de huevo al año, material rico en carbonato cálcico. Estas se destinan a la producción de biodiesel o como biomaterial para remedios caseros (mascarillas faciales, fertilizante, etc.), pero también son un residuo orgánico con propiedades básicas con un fuerte potencial que podría neutralizar los tan temidos efectos de la lluvia ácida, proporcionando así una solución sostenible y respetuosa con el medio ambiente.

En este proyecto se ha trabajado con *Arabidopsis thaliana*, organismo modelo, que nos permite analizar en el laboratorio de forma fácil sus respuestas al estrés ambiental. Se han simulado dos situaciones ambientales, un grupo de plantas sometidas a lluvia ácida de diferentes intensidades; intensa (pH 4), intermedia (pH 4,5) y ligera (pH 5,5), y otro grupo de plantas sometidas a lluvia ácida y posterior tratamiento neutralizador con una solución de carbonato cálcico procedente de cáscara de huevo. Sobre estas poblaciones hemos analizado variables morfológicas e indicativas del desarrollo de las plantas. Como hipótesis inicial esperamos que el uso de la disolución cáscara de huevo sea capaz de contrarrestar la acidez de la lluvia ácida y sus efectos.

2.- OBJETIVOS

- Determinar los efectos de la lluvia ácida en *Arabidopsis thaliana*.
- Evaluar el potencial de la cáscara de huevo, un residuo orgánico rico en carbonato cálcico, para neutralizar los efectos de la lluvia ácida
- Proponer iniciativas de reciclaje y optimización de recursos que utilicen la cáscara de huevo como una solución sostenible y respetuosa con el medio ambiente para contrarrestar los efectos de la lluvia ácida.

3.- FUNDAMENTOS TEÓRICOS

3.1.- ¿Qué es la acidez?

El pH (potencial de hidrógeno) es una medida que índica el nivel de acidez o basicidad de una disolución. Se expresa: pH = -log(H+)

Ácidos: tienen alta cantidad de iones hidrógeno
Básicos: tienen alta cantidad de iones hidroxilo

3.2.- Lluvia ácida y efectos producidos sobre el medio ambiente

La lluvia ácida se produce por la emisión antrópica de SO_2 y NO_X, que al reaccionar con la atmósfera produce H_2SO_4 y HNO_3. Si estos se mantienen en la atmósfera pueden precipitar en forma de lluvia ácida. Su composición es la siguiente: óxidos de azufre (SO_2); óxidos de nitrógeno (NOx); compuestos de cloro, amoniaco y compuestos orgánicos volátiles (COV).

Por ejemplo, las reacciones que tienen lugar con el SO_2 para transformarse la lluvia ácida son las siguientes:

1. $SO_2(g) + OH\ (g) \rightarrow HOSO_2(g)$ (entra en contacto con O_2)
2. $HOSO_2\ (g) + O_2(g) \rightarrow H_2O + SO_3(g)$ (reacciona con H_2O)
3. $SO_3\ (g) + H_2O\ (l) \rightarrow H_2SO_4\ (l)$

Entre los efectos de la presencia de acidez en la lluvia se encuentran los siguientes:

- Producir acidificación del agua, afectando a la vida acuática, disminuyendo los nutrientes del medio y aumentando la mortalidad de la fauna marina.
- En vegetales deteriora las hojas, daña la cutícula y dificulta su desarrollo por la pérdida de nutrientes del suelo. También reduce la resistencia a temperaturas bajas, a la acción de insectos y favorece el desarrollo de enfermedades. Además, puede inhibir la reproducción de las plantas
- Peligro medio ambiental y en la salud humana, estos gases se pueden distribuir fácilmente con la contaminación de la atmósfera, pudiendo penetrar en nuestro organismo y en un caso extremo causar la muerte.
- La acidez disuelve el carbonato de calcio y deteriora el mármol y la caliza, erosionando monumentos y esculturas.

3.3.- *Arabidopsis thaliana*

Para este estudio la planta *Arabidopsis thaliana* ha sido escogida por sus particulares características: el pequeño tamaño que permite cultivarla fácilmente en un laboratorio en poco espacio, ciclo vital relativamente corto (en torno a unas seis semanas llegando a la maduración entre 3 y 4 semanas), muy prolífica, (capaz de producir 10.000 semillas por planta). Presenta una roseta plana de hojas en la que crece un tallo principal y otros secundarios con flores. Por todo ello, su uso como organismo modelo de laboratorio ha tenido una enorme repercusión en los estudios agronómicos.

Figura 1. Morfología de Arabidopsis

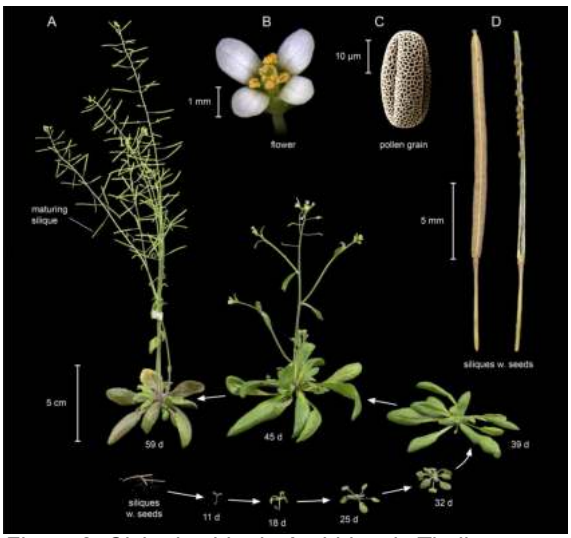


Figura 2: Ciclo de vida de Arabidopsis Thaliana Imagen extraída de Ute Krämer (2015)

Arabidopsis thaliana es una planta herbácea anual de la familia de las crucíferas que presenta un ciclo de vida muy corto. En los primeros estadios de vida aparece una roseta que termina de desarrollarse en torno a los 40 días. Entonces parte de ella un tallo que puede producir tallos secundarios dependiendo de las condiciones de crecimiento. La floración comienza cerca de los 50 días y las semillas se cosechan a las 8 semanas. Una vez madura la planta caen las semillas y se vuelve a repetir el ciclo. (Krämer, 2015)

3.4.- Cultivo in vitro

El cultivo *in vitro* es un método muy utilizado y de gran valor en la investigación vegetal. Este método consiste en el cultivo de plantas en un frasco de vidrio o placa de Petri creando un ambiente artificial favorable y específico para el crecimiento de una planta, en nuestro caso *Arabidopsis*.

El medio Murashige y Skoog (MS) se ha convertido en el medio más usado en el cultivo *in vitro* de los tejidos vegetales por su composición rica en nutrientes:

- Macronutrientes: NH_4NO_3, KNO_3, $MgSO_4$, $CaCl_2$, KH_2PO_4.
- Micronutrientes: KI, H_3BO_3, $MnSO_4$, $ZnSO_4$, $NaMoO_4$, CuSO4, $CoCl_2$.
- Hierro: Na_2, $FeSO_4$.
- Vitaminas: inositol, ácido nicotínico, piridoxina HCl, tiamina HCl, glicina.
- Otros compuestos: sacarosa, phytagel (gelificante).

Figura 3: Semillas de Arabidopsis germinadas en medio Murashige y Skoog (MS)

Este medio nos permite generar las condiciones ideales para la germinación de las semillas de *Arabidosis*, ya que esta proporciona el entorno fisiológico óptimo para su crecimiento. Además, nos permite sincronizar la germinación de las semillas.

3.5.- Elección de la alternativa sostenible para contrarrestar los efectos de la lluvia ácida

La cáscara de huevo se seleccionó como alternativa sostenible para mitigar los efectos de la lluvia ácida por los siguientes motivos:

- Está compuesta de 93,6% carbonato de calcio; 1,6% agua; 0,8% carbonato de magnesio; 0,73% fosfato tricálcico y 3,3% materia orgánica. El $CaCO_3$ es una base fuerte, y por tanto, con elevada capacidad de reacción con el ácido sulfúrico de la lluvia ácida, con lo ofrece una buena alternativa para neutralizar los efectos de esta. La reacción del $CaCO_3$ al entrar en contacto con la lluvia ácida sería la siguiente:

  $$CaCO_3\,(s) + H_2SO_4\,(l) \rightarrow CaSO_4\,(s) + CO_2\,(g) + H_2O\,(l)$$

  El gas CO_2 generado en la reacción es liberado al medio ambiente, lo que podría incrementar la concentración de este en la atmósfera y contribuir al aumento de los gases de efecto invernadero. Sin embargo, en principio, no se consideró preocupante este incremento, ya que se espera que con un mayor crecimiento vegetal este CO_2 sea consumido durante la fotosíntesis. No obstante, se decidió medir las variaciones de la concentración de este gas para poder evaluar su impacto.

- Otro factor que se tuvo en consideración, fue que este residuo nos permite preparar una solución de riego líquida con pH básico y que será de fácil aplicación en los sistemas de riego tradicionales utilizados en agricultura. Para garantizar su efecto neutralizador se preparará teniendo en cuenta que el número de moles de OH presentes en esta, sean los moles necesarios para neutralizar los moles de H+ presentes en los tratamientos de lluvia acida seleccionados para este proyecto.

- Además, el huevo es un alimento cuyo consumo aumentó en España un 7,7 % durante 2023, según el "Observatorio del Consumo de Huevo en España" presentado por la Organización Interprofesional del Huevo y sus Productos (INPROVO) en su cuarta edición. Esto supuso 405 millones de kilos de huevos, el equivalente a un consumo per cápita de 8,61 kilos, y una media de 137 huevos por persona al año. Cada día los españoles consumieron en casa 17,6 millones de huevos (6.423 millones durante todo el año) (https://www.inprovo.com/el-huevo-lider-en-aumento-de-consumo-en-los-hogares-espanoles-8-en-2023/).

- El peso medio de la cáscara de un huevo es de 7,5 gramos, lo que supone que en el 2023 se generaron 48.180 Tn. Así pues, la cáscara de huevo es uno de los residuos generados en mayor cantidad en España. En ocasiones se utilizan como remedios caseros para fortalecer las uñas, disminuir irritaciones de la piel o bien para la obtención de cal industrial. No obstante, estos métodos no se aplican de forma masiva y la mayoría de la cáscara de huevo acaba en los vertederos y no son procesadas.

En conclusión, existen dos problemas a los que podríamos dar solución; uno, dar una utilidad a los residuos de cáscara de huevo y, dos, contrarrestar los efectos de la lluvia ácida, cada vez más evidentes, sobre nuestros cultivos. La importancia de esta investigación queda de manifiesto en la convergencia de ambas aproximaciones, ofreciendo una solución sostenible para los dos desafíos.

4.- MATERIALES Y MÉTODOS

4.1.- Material experimental y/o instrumentos de recogida de información

Se utilizaron los siguientes materiales:

Figura 4: pipeta, lejía, puntas

Figura 5: Cazo para elaboración medio MS

Figura 6: Vortex

Figura 7: centrifugadora

Figura 8: Semilleros, macetas y sustrato para plantas

Figura 9: Pinzas para pasar las plantas de medio MS a tierra

Figura 10: Etiquetas de plástico para identificar las plantas

Figura 11: Detector de la calidad del aire: CO_2, CO, TVOC, AQI y HCHO

Figura 12: Termómetro digital para medir la temperatura fuera y dentro de nuestro invernadero

Figura 13: pHmetro para medir el pH del agua de riego

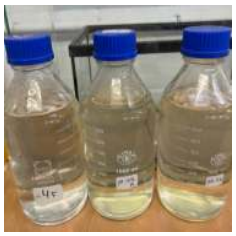


Figura 14: Disoluciones de lluvia ácida con diferentes pH (pH=4; pH=4,5; pH=5,5):

Figura 15: Ácido sulfúrico 96% (1M) utilizado para hacer las disoluciones ácidas

Figura 16: Barra de luz que proporciona calor a la plantación

Figura 17: Registrador de datos climáticos para medir la humedad relativa

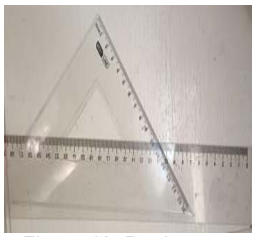


Figura 18: Reglas para medir la altura y anchura de las plantas

Figura 19: Cáscaras de huevo ($CaCO_3$)

Figura 20. Medio MS

Figura 21. Placas de Petri

Figura 22. Erlenmeyer y mortero

4.2.- Diseño del trabajo de laboratorio

La realización de este proyecto cuenta con el uso *Arabidopsis thaliana* como planta modelo de estudio. Se han simulado dos situaciones ambientales, un grupo de plantas sometidas a lluvia ácidas de diferentes intensidades; intensa (pH 4), intermedia (pH 4,5) y ligera (pH 5,5), y otro grupo de plantas sometidas a lluvia ácida y posterior tratamiento neutralizador con una solución de carbonato cálcico (pH = 8,2) procedente de cáscaras de huevo. Sobre estas poblaciones hemos analizado variables morfológicas e indicativas del desarrollo de las plantas: velocidad de crecimiento, anchura y número de hojas de la roseta, producción de tallos secundarios, días necesarios para la floración y número de flores desarrolladas por cada planta.

En el invernadero 1 se ensayó el efecto de la lluvia ácida. Se utilizaron como control plantas regadas con agua de riego convencional y para los tratamientos ácidos se utilizaron tres soluciones de pH distintos: pH ligero (5,5) pH intermedio (4,5) y pH fuerte (4) simulando la lluvia ácida. En cada tratamiento se realizaron cuatro réplicas biológicas y fueron regadas con las soluciones simulando la lluvia ácida una vez por semana.

En el invernadero 2 se estudió en efecto de la disolución de la cáscara de huevo. En este caso las macetas con las plantas control fueron regadas con una disolución obtenida de la cáscara de huevo (H_2O+$CaCO_3$). Además, se añadieron tres tratamientos a los que se les sometieron a riego ácido ligero, medio e intermedio (pH = 5,5, pH = 4,5 y pH = 4), respectivamente, una vez por semana. Posteriormente, las plantas de los tres tratamientos ácidos fueron regadas con la disolución básica (pH = 8,2) de las cáscaras de huevo. Asimismo, también se analizaron cuatro réplicas biológicas.

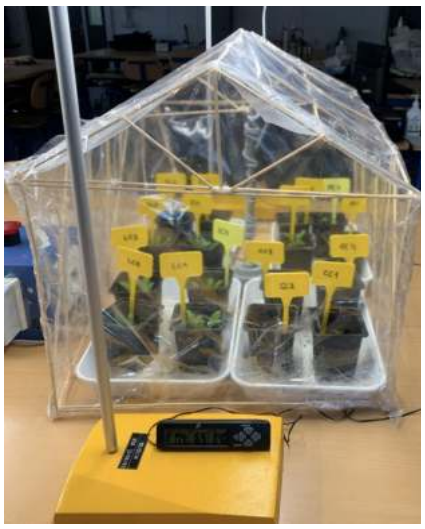
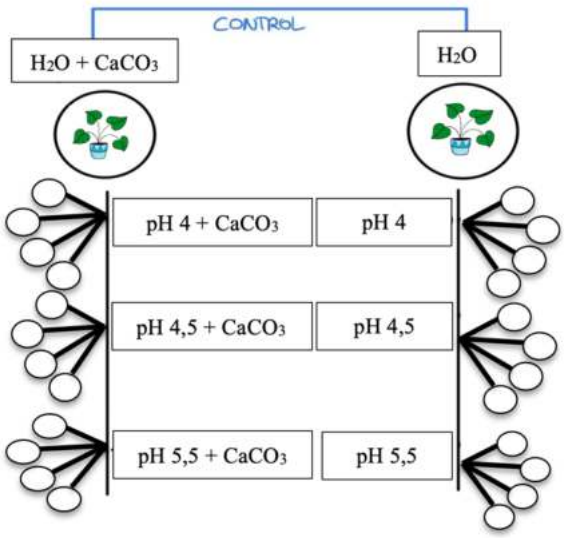


Figura 22. Invernadero en la que se estudió el efecto de la disolución básica de cáscara de huevo

Para intentar contrarrestar el potente efecto de la lluvia ácida regamos más frecuentemente con carbonato cálcico para mantener la basicidad. Los lunes, las plantas del invernadero 2 fueron regadas con las diferentes soluciones ácidas. Los miércoles y viernes fueron regadas con la solución de cáscara de huevo.



Ambos invernaderos se sometieron a las condiciones de crecimiento óptimas para *Arabidopsis thaliana*, manteniéndose a una temperatura 22ºC y humedad relativa del 60%, Para acelerar su crecimiento, se mantuvieron en condiciones de días largos, con un fotoperiodo de 16h de luz y 8h de oscuridad. La intensidad lumínica aplicada fue 120-150 µmol/m^2 sec.

Además, se midieron los parámetros atmosféricos: temperatura exterior/interior (ºC), humedad relativa (%), CO_2 (ppm), CO (ppm), HCHO (mg/m^3), TVOC (mg/m^3) y AQI (índice de calidad del aire) en la atmósfera interior de ambos invernaderos.

El procedimiento experimental ha sido el siguiente:

1.- Esterilización y germinación de las semillas

Esterilización de las semillas
- Eppendorf con el número de semillas requeridas (1 semilla tiene un peso medio de 0.02 mg así que con 1 mg se estima que contengan 50 semillas)
- Se añadió 1 mL de etanol al 95% y se realizó un vortex suave durante 1 min.
- Se centrifugó 30 segundos para retirar el sobrenadante
- Se añadió 1 mL de lejía al 50% y se realizó un vortex suave. Se mantuvieron en lejía 10-15 minutos.
- Se lavaron 4 veces con agua estéril
- Se mantuvieron a 4ºC durante 48 horas para sincronizar la germinación.

Preparación del medio MS
Para llevar a cabo este proceso se utilizó el medio de cultivo Murashige y Skoog (MS). Se pesaron 1,5 g de Agar y 0,2 g de medio de cultivo MS y se diluyeron en 100 mL de agua que se llevó a ebullición. Al halo de la llama del mechero se pusieron 25 ml de medio por placa Petri. Se dejó enfriar y solidificar el medio de cultivo.

Germinación de las semillas
Una vez esterilizadas las semillas, estas se colocaron en las placas Petri con el medio MS y se mantuvieron en oscuridad por 2 días a 4ºC.

2.- Preparación de solución de riego de diferentes grados de acidez.

Se utilizó ácido sulfúrico (1M) 96% (1 kg/0,54 L). A partir del compuesto comercial se realizaron diluciones sucesivas para obtener las distintas soluciones de riego a los pH establecidos (pH = 5,5; pH = 4,5 y pH = 4)

3.-Preparación de la solución de carbonato cálcico

La preparación de solución a partir de la cáscara de huevo se realizó llevando a ebullición polvo triturado de cáscara de huevo, con el fin de aumenta la solubilidad del carbonato cálcico en el agua, ya que este se encuentra en forma precipitada en la cáscara.
Para ello, se trituró 1 g de cáscara de huevo (sin membrana) que se llevó a hervir durante 10 minutos en 100 mL de agua. Se midió el pH de la disolución final que resultó ser de 8.2.

Figura 23. Disolución obtenida de la cáscara de huevo

La solucion de riego no fue filtrada, ya que los restos sobrantes de cáscara contiene Ca CO3 precipitado, el cual puede ser disuelto al reaccionar con el ácido sulfúrico que proporciona la acidez de las soluciones de riego ácidas y, por tanto, contribuir tambien a su neutralización.

4.1.- Variables de estudio

En este proyecto de investigación vamos a utilizar dos tipos de variables. Las variables independientes serán los diferentes pH que usaremos para establecer las tres intensidades de lluvia ácida, como ya se ha descrito previamente. Además, también incluiremos en este tipo de variables la concentración de la disolución de cáscara de huevo (1 g/100 mL) con pH=8,2.

Las variables dependientes fueron las características morfológicas y fisiológicas medidas de la planta *Arabidopsis thaliana* como velocidad de crecimiento, anchura y número de hojas de la roseta, tallos secundarios, días necesarios para la floración y número de flores desarrolladas por planta.

5.- RESULTADOS

5.1.- Calidad del aire

Tabla 1: Calidad del aire atmosférico. Variables físico-químicas en exterior/interior de los invernaderos. SD = desviación estándar**.**

	Lluvia ácida	± SD	Lluvia ácida más disolución cáscara de huevo	± SD
Temperatura exterior (ºC)	20,13	1,22	20,23	1,41
Temperatura interior (ºC)	20,36	1,75	22,08	3,00
Humedad relativa interior	61,82	4,35	62,12	5,00
CO_2 interior (ppm)	385,23	146,03	493,10	185,66
CO interior (ppm)	50,58	113,93	52,00	112,31
HCHO interior (mg/m^3)	0,03	0,05	0,12	0,29
TVOC interior (mg/m^3)	1,68	3,68	1,74	3,56
AQI	1,04	0,65	1,89	1,57
Intensidad de luz (LUX)	419,42	142,32	518,00	38,98

En la Tabla 1 se puede observar que la temperatura media interior y exterior de los invernaderos no mostraron diferencias significativas, manteniéndose en el rango de 20-22 ºC.

Respecto a la concentración CO_2 en la atmosfera interior, se observó un ligero aumento en el ensayo de las plantas regadas con solución de cáscara de huevo, sin embargo, esta diferencia no resultó estadísticamente significativa, lo que sugiere una variación debida al propio desarrollo experimental. Además, es destacable el hecho de que estos valores estuvieron dentro del rango 350-500 ppm, rango de referencia que indican una calidad de aire interior buena. La concentración de dióxido de carbono al aire libre oscila entre 360 ppm en áreas de aire limpio y 700 ppm en las ciudades (BOE-A-2011-1645).

Los niveles de medios de monóxido de carbono (CO) en un aire de buena calidad debe encontrarse por debajo de las 2000-3000 ppm, con lo que los valores obtenidos en Tabla 1 nos indican que este parámetro se encuentra por debajo de los niveles considerados peligrosos.

Los compuestos orgánicos volátiles (TVOC), sustancias químicas que contienen carbono, se hallan en la mayoría de elementos vivos y se convierten fácilmente en vapores o gases. Se

considera que los niveles de concentración de TVOC deben de ser inferiores a 0,3 mg/m^3, para considerar un aire aceptable para la salud humana. En nuestro proyecto (Tabla 1) estos valores no variaron entre los dos ensayos, pero en ambos se encontró por encima de este valor.

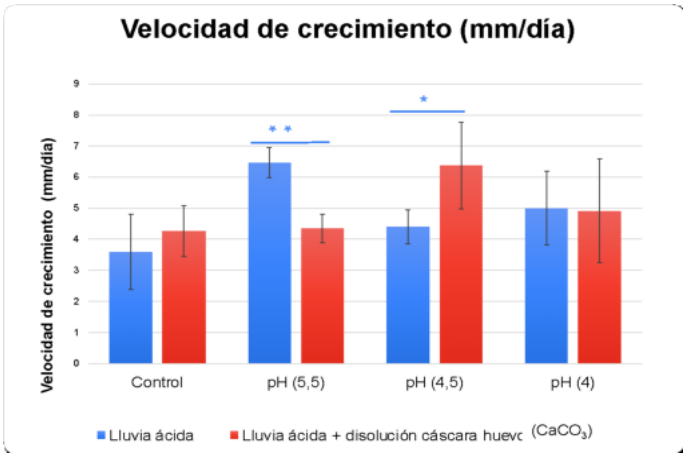
Finalmente, el índice de calidad del aire (AQI) tiene en consideración las partículas en suspensión, el ozono troposférico, dióxido de nitrógeno y dióxido de azufre presente en el aire. Este establece seis categorías de calidad del aire: buena, razonablemente buena, regular, desfavorable, muy desfavorable, y extremadamente desfavorable (BOE-A-2019-4494). Como se puede observar en la Tabla 1 el índice AQI no varió en los dos ensayos y se encontró por debajo de 100, valor a partir del cual se considera la calidad del aire insalubre.

En conclusión, la aplicación de tratamientos de riego ácidos y tratamiento de riego con disolución básica procedente de cáscara de huevo no tuvo repercusión en las condiciones atmosféricas en el interior de los invernaderos, siendo este de buena calidad y no contribuyendo ni al aumento de gases invernadero ni al incremento de temperatura atmosférica.

5.2.- Efectos sobre la velocidad de crecimiento

Tabla 2. Velocidad de crecimiento de plantas regadas con diferentes pH ácidos y disolución de cáscara de huevo. Valor p y significancia obtenidos en prueba T Student. SD = desviación estándar**.**

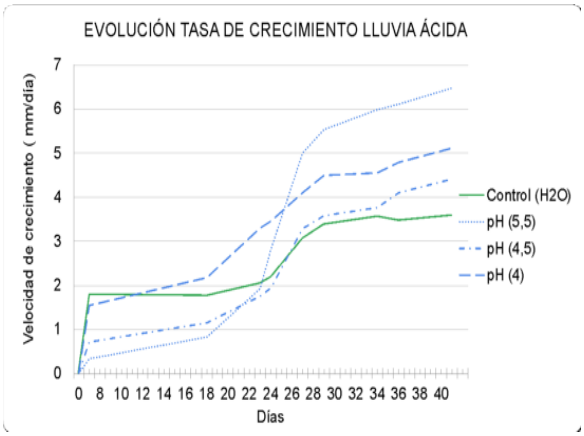
	Lluvia ácida		Lluvia ácida más disolución cáscara de huevo		T Student	
	Velocidad crecimiento (mm/día)	± SD	Velocidad crecimiento (mm/día)	± SD	Valor p	Significancia
Control (H_2O /H_2O+$CaCO_3$)	**3,60**	1,22	**4,27**	0,83	0,397219098	NS
pH (5,5)	**6,472**	0,48	**4,36**	0,46	0,001950567	**
pH (4,5)	**4,41**	0,55	**6,38**	1,39	0,045315532	*
pH (4)	**5,01**	1,18	**4,919**	1,66	0,933384629	NS



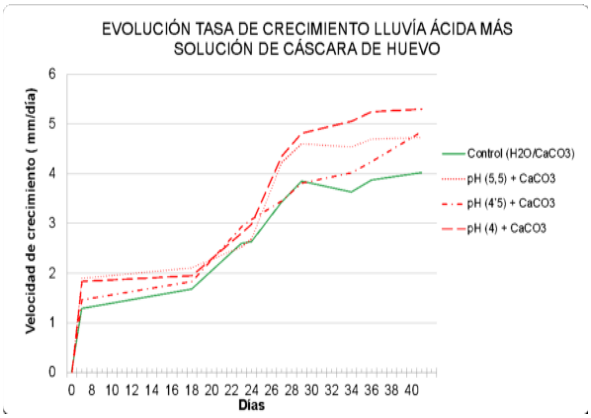
Gráfica 1. Efecto de la Lluvia ácida y/o disolución de huevo en la velocidad de crecimiento de las plantas

Como se observa en Tabla 2 y Gráfica 1 las plantas control que fueron regadas con la disolución de cáscara de huevo rica en carbonato cálcico, incrementaron su crecimiento respecto a las plantas regadas con agua. Este incremento no fue estadísticamente significativo; pero sí es indicativo de un efecto positivo en el crecimiento de *Arabidopsis*.

La disolución de cáscara de huevo ($CaCO_3$) solo consiguió neutralizar los efectos de la lluvia ácida intermedia (pH 4,5), acelerando significativamente la velocidad de crecimiento. Sin embargo, en condiciones de lluvia ácida ligera la adición de $CaCO_3$ produjo una disminución importante del crecimiento de la planta.



Gráfica 2.- Evolución de la tasa de crecimiento de las plantas regadas con diferentes pH ácidos



Gráfica 3.- Evolución de la tasa de crecimiento de las plantas regadas con diferentes pH ácidos y disolución de cáscara de huevo.

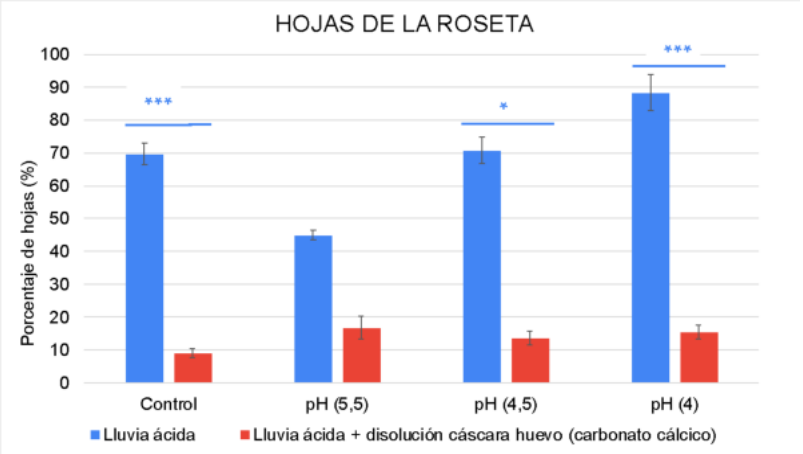
Es interesante analizar también la evolución de la tasa de crecimiento en el tiempo. Las mayores diferencias se encontraron en torno a los 20 días de empezar con el tratamiento, donde vemos como las plantas sometidas a riego a pH = 5,5 se alejan más del control (Gráfica 2). En cambio, a estas mismas condiciones de acidez; pero suplementado el riego con la solución de $CaCO_3$ el crecimiento se mantiene por encima, pero este incremento respecto al control es menor (Gráfica 3). El efecto positivo en el crecimiento del $CaCO_3$ es menos patente en condiciones de lluvia ácida ligera, lo que explica la disminución significativa del valor medio observado en la Gráfica 1.

Todas las plantas regadas con los diferentes tipos de lluvia ácida, suave, intermedia y fuerte mostraron una tasa de crecimiento por encima del control, tanto las plantas suplementadas de carbonato cálcico como las no suplementadas, y ese incremento se enfatiza durante la última etapa del desarrollo de la planta (Gráficas 1 y 2). Esta diferencia también se acentúa en los pH menos ácidos (pH = 5,5).

5.3.- Efectos sobre la roseta

Tabla 3. Porcentaje de pérdida de hojas de la roseta regadas con diferentes pH ácidos y disolución de cáscara de huevo. Valor p y significancia obtenidos en prueba T student. SD = desviación estándar.

	Lluvia ácida		Lluvia ácida más disolución cáscara de huevo		T Student	
	% pérdida de hojas	± SD	% pérdida de hojas	± SD	Valor p	Significancia
Control (H_2O /H_2O+$CaCO_3$)	**69,7**	3,30	**9,1**	1,29	0,000941515	***
pH (5,5)	**45,0**	1,41	**16,9**	3,40	0,134358619	NS
pH (4,5)	**70,8**	4,11	**13,7**	2,08	0,016693429	*
pH (4)	**88,4**	5,56	**15,6**	2,08	0,007472258	***

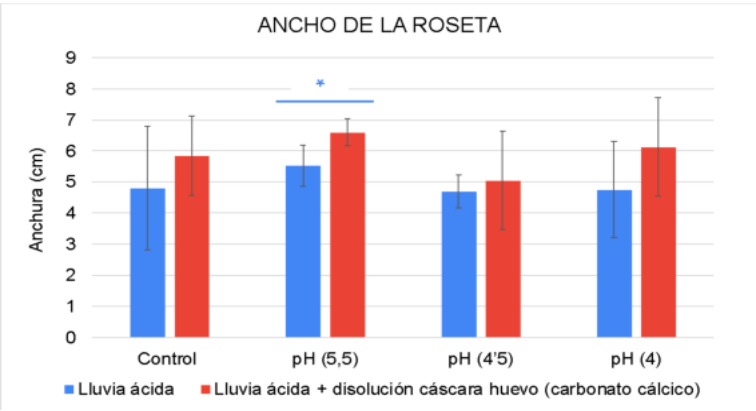


Gráfica 4. Efecto de la lluvia ácida y/o disolución de cáscara de huevo en el número de hojas de la roseta.

El tratamiento de $CaCO_3$, hace que las plantas pierdan las hojas de la roseta con el paso de los días, mientras que las que solo han sido regadas con soluciones ácidas no han sufrido tantas pérdidas. El suministro de disolución de la cáscara de huevo incentivó la pérdida de las hojas de la planta, siendo significativo en los tratamientos de pH medio y muy significativo en tratamientos de pH fuerte y ligero (Tabla 3 y Gráfica 4). La pérdida de las hojas en las regadas son disoluciones ácida fue menor que las plantas a las que se les suministró agua de riego básica con posterioridad. Esto nos indica que el carbonato cálcico potenció el efecto negativo de perdida de la hoja de la roseta producido por la lluvia ácida.

Tabla 4. Anchura de la roseta de plantas regadas con diferentes pH ácidos y disolución de cáscara de huevo. Valor p y significancia obtenidos en prueba T student. SD = desviación estándar.

	Lluvia ácida		Lluvia ácida más disolución cáscara de huevo		T Student	
	Ancho roseta (cm)	± SD	Ancho roseta (cm)	± SD	Valor p	Significancia
Control (H_2O /H_2O+$CaCO_3$)	**4,8**	1,99	**5,9**	1,27	0,409410601	NS
pH (5,5)	**5,5**	0,66	**6,6**	0,43	0,048460199	NS
pH (4,5)	**4,7**	0,53	**5,1**	1,58	0,689400424	*
pH (4)	**4,8**	1,55	**6,1**	1,58	0,201668696	NS



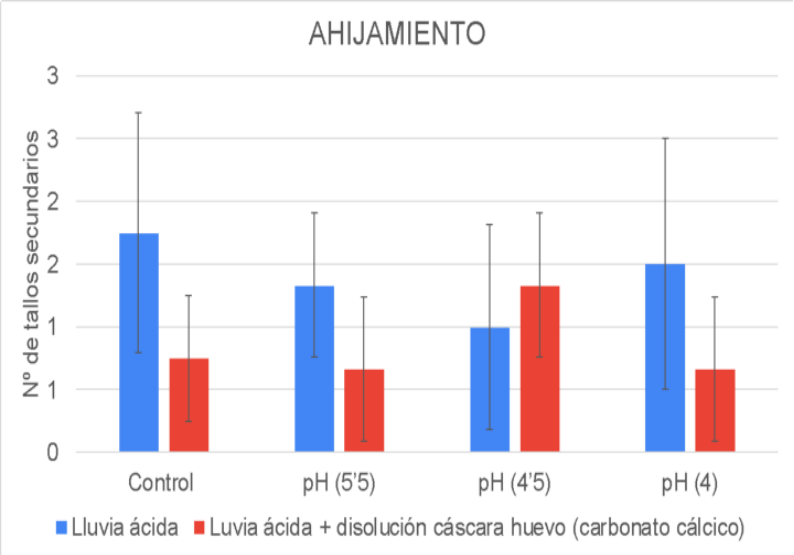
Gráfica 5. Efecto de la lluvia ácida y/o disolución de cáscara de huevo en el ancho de la roseta

Las plantas tratadas solo en las diferentes condiciones de lluvia ácida presentaron anchuras variables de la roseta, con cierta tendencia a disminuir sus diámetros con respecto a las plantas control regadas con agua no ácida. El ancho de la roseta aumentó en las plantas regadas con lluvia ácida y posteriormente con la disolución básica de cáscara de huevo. Este incremento fue significativo con un pH ligeramente ácido (Tabla 4, Gráfica 5).

5.4.- Producción de tallos secundarios (Ahijamiento)

Tabla 5. Número de tallos secundarios de plantas regadas con diferentes pH ácidos y disolución de cáscara de huevo. Valor p y significancia obtenidos en prueba T student. SD = desviación estándar.

	Lluvia ácida		Lluvia ácida más disolución cáscara de huevo		T Student	
	Número tallos secundarios	± SD	Número tallos secundarios	± SD	Valor p	Significancia
Control (H_2O /H_2O+$CaCO_3$)	**1,8**	0,95	**0,8**	0,50	0,113531729	NS
pH (5,5)	**1,3**	0,57	**0,7**	0,57	0,230199641	NS
pH (4,5)	**1,0**	0,81	**1,3**	0,57	0,576131726	NS
pH (4)	**1,5**	1,00	**0,7**	0,57	0,25862864	NS



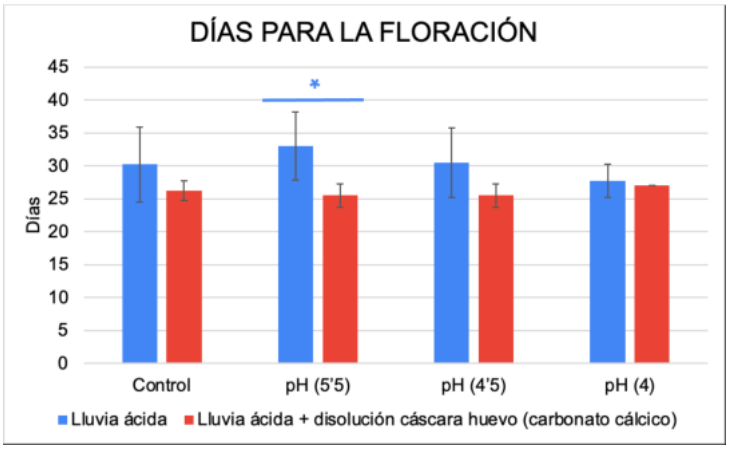
Gráfica 6. Número de tallos desarrollados en plantas regadas con diferentes pH ácidos y/o solución de cáscara de huevo

Las plantas regadas lluvia ácida presentaron mayor producción de tallos secundarios con respecto a los tallos generados por las plantas suplementadas con $CaCO_3$ (Tabla 7 y Gráfica 6). Sin embargo, en ningún caso estas diferencias resultaron significativas, probablemente debido a la gran variación de los datos que presentaron las réplicas biológicas de un mismo tratamiento.

5.5.- Efecto en la floración de las plantas

Tabla 6. Días para la máxima floración de plantas regadas con diferentes pH ácidos y/o disolución de cáscara de huevo. Valor p y significancia obtenidos en prueba T student. SD = desviación estándar.

	Lluvia ácida		Lluvia ácida más disolución cáscara de huevo		T Student	
	Días para la máxima floración	± SD	Días para la máxima floración	± SD	Valor p	Significancia
Control (H_2O /H_2O+$CaCO_3$)	**30,3**	5,67	**26,3**	1,5	0,222109466	NS
pH (5,5)	**33,0**	5,19	**25,5**	1,73	0,039532797	*
pH (4,5)	**30,5**	5,32	**25,5**	1,73	0,124258004	NS
pH (4)	**27,8**	2,5	**27,0**	0	0,570456271	NS

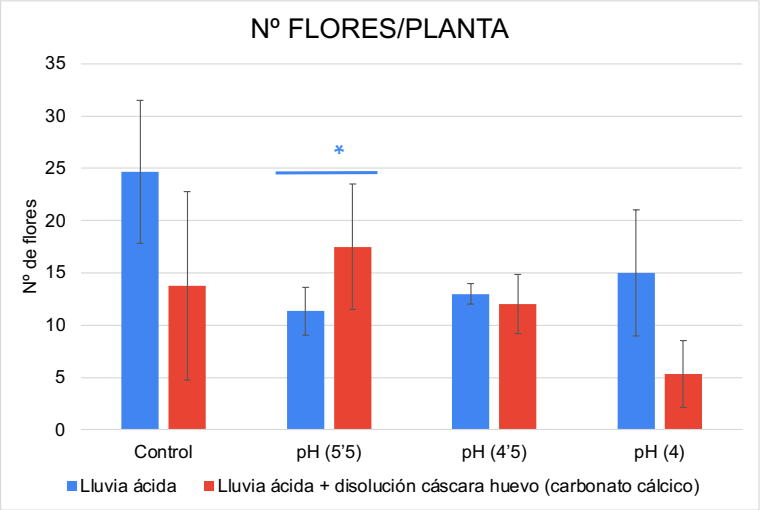


Gráfica 7. Días para alcanzar la máxima floración en plantas regadas con diferentes pH ácidos y/o solución de cáscara de huevo

El $CaCO_3$ presente en la cáscara de huevo disminuyó los días necesarios para alcanzar la máxima floración en todas las plantas regadas con los diferentes tipos de lluvia ácida ensayados (Tabla 6 y Gráfica 7). Este adelantamiento del proceso de floración fue mayor y estadísticamente significativo en las plantas tratadas con lluvia ácida ligera (pH = 5,5).

Tabla 7. Número de flores por planta en plantas regadas con diferentes pH ácidos y/o disolución de cáscara de huevo. Valor p y significancia obtenidos en prueba T student. SD = desviación estándar.

	Lluvia ácida		Lluvia ácida más disolución cáscara de huevo		T Student	
	Flores por planta	± SD	Flores por planta	± SD	Valor p	Significancia
Control (H_2O /H_2O+$CaCO_3$)	**24,7**	6,80	**13,8**	9,03	0,142356628	NS
pH (5,5)	**11,3**	2,30	**17,5**	5,97	0,156921401	NS
pH (4,5)	**13,0**	1,00	**12,0**	2,82	0,590716459	NS
pH (4)	**15,0**	6,05	**5,3**	3,21	0,049127291	*



Gráfica 8. Número máximo de flores desarrolladas en plantas regadas con diferentes pH ácidos y/o solución de cáscara de huevo

Las diferentes intensidades de lluvia ácida produjeron una disminución importante del número medio de flores por plantas respecto al control. Este efecto negativo, solo fue revertido en las plantas tratadas con pH ligeramente ácido (pH = 5,5), ya que la solución de cáscara de huevo consiguió incrementar de forma significativa el número de flores por planta (Tabla 7 y Gráfica 8).

5.8.- Efecto en el pH de la tierra

Tabla 8. pH de la tierra de la maceta en plantas regadas con diferentes pH ácidos y/o disolución de cáscara de huevo. Valor p y significancia obtenidos en prueba T student. SD = desviación estándar.

	Lluvia ácida		Lluvia ácida más disolución cáscara de huevo		T Student	
	pH tierra	± SD	pH tierra	± SD	Valor p	Significancia
Control (H_2O /H_2O+$CaCO_3$)	**7,311**	0,41	**6,989**	0,27	0,06840197	NS
pH (5,5)	**7,478**	0,14	**6,811**	0,58	0,00444464	**
pH (4,5)	**6,967**	0,35	**7,022**	0,38	0,75340572	NS
pH (4)	**6,989**	0,31	**6,800**	0,43	0,76005093	NS

El pH de la tierra no varió prácticamente con la mayoría de los tratamientos ensayados, y únicamente en el tratamiento ligeramente ácido se observó una disminución significativa del pH de la tierra al suministrar agua rica en carbonato cálcico procedentes de la cáscara de huevo (Tabla 8).

5.9.- Tratamiento estadístico de los resultados

Los resultados obtenidos, viniendo de 4 réplicas biológicas, se analizaron empleando Excel y se representaron como la media ± SD (Desviación estándar). Para el análisis del efecto del Carbonato cálcico se realizó una t de Student de dos colas. Se establecieron tres niveles de significancia: (*) valor de $p < 0,05$; (**) valor de $p < 0,01$; (***) valor de $p < 0,001$.

6.-DISCUSIÓN

El objetivo de esta investigación es explorar un método sostenible para contrarrestar el efecto de la lluvia ácida sobre el medio ambiente, en especial sobre los cultivos. Para realizar esto trabaho hemos utilizado cáscara de huevo, rica en $CaCO_3$, y disoluciones a distintos pH reconocidas como “la lluvia ácida”. Hemos podido observar efectos positivos de la cascara de huevo ya que al ser básica y rica en $CaCO_3$, es capaz de neutralizar los efectos negativos de la lluvia ácida en condiciones de lluvia ligera e intermedia. Así pues, estos datos ofrecen una alternativa sostenible con un gran potencial ya que es un residuo al que actualmente no se le da aprovechamiento, y es capaz de revertir los efectos de la acidez de la lluvia en los estadios iniciales de deterioro de las plantas. Todo ello sienta las bases para seguir profundizando en futuros trabajos de investigación.

Hay que considerar que dependiendo de la especie vegetal los efectos de la acidez del medio pueden ser muy variables. Por ejemplo, la acidez del medio disminuye el crecimiento del epicotilo en las plántulas de garbanzo y lenteja; pero, por el contrario, estimula el crecimiento del hipocotilo en colza (Blanco et al, 2019). En este mismo estudio se observa que la lluvia ácida favorece el porcentaje de germinación en estos tres tipos de semillas, probablemente al dañar la envuelta protectora de la semilla y permitir más fácilmente la salida del hipocotilo. En las plantas de *Arabidopsis* también se ha observado también un efecto positivo de la acidez en la velocidad de crecimiento, siendo mayor este crecimiento en condiciones de baja acidez, lo que podría estar asociado a una mejora inicial en la germinación. Por el contrario, condiciones de acidez alta podrían dañar el hipocótilo.

Esta ampliamente estudiado que la capacidad de absorción de los nutrientes del suelo se ve alterada por la acidez de medio. Según el estudio de Contreras et al, (2015) el carbonato cálcico tiene un efecto sobre la disponibilidad del cadmio en las plantas de cacao, disminuyendo la absorción de este al utilizar el $CaCO_3$. Además, evaluaron la dinámica del calcio en las plantas y determinaron que se aumentó la cantidad de calcio en las hojas de las plantas de cacao en función de la cantidad aplicada a los tratamientos. La presencia de carbonato cálcico en suelos influye de manera notable en la asimilación de hierro, magnesio y cloro (Brown y Alberchet, 1947). Por otro lado, la clorosis férrica se atribuye a suelos con pH 7-8 y carbonato cálcico en un 30-50 % (Raciti, 1956). No podemos descartar en nuestra investigación que un exceso de carbonato cálcico tenga un efecto tóxico, o bien, que la frecuencia de regado establecida en el diseño de la investigación desencadene perdida de nutrientes en el sustrato que afecte al desarrollo vegetal. Esta reflexión da pie a futuras investigaciones, como por ejemplo determinar el efecto de diferentes concentraciones de cáscara de huevo ($CaCO_3$), ya que los efectos negativos encontrados en la pérdida de la hoja de la roseta o en un menor número de tallos en planta podría estar relacionado con la concentración de carbonato cálcico presente en la disolución básica de riego y su interferencia en la asimilación de las sales minerales del suelo.

El calcio es un nutriente esencial para las plantas, ya que desempeña un papel crucial en el desarrollo de las paredes celulares, la división celular, la regulación de diferentes enzimas y el transporte de otros nutrientes en las células. El $CaCO_3$ puede influir en el desarrollo de las plantas de diferentes maneras, por un lado, puede actuar como fuente de calcio, también es capaz de neutralizar la acidez del suelo, lo que beneficia a plantas que rinden mejor en ambientes alcalinos y adelantan su crecimiento. El hecho de que las cáscaras de los huevos cuenten con $CaCO_3$ puede ser muy beneficioso para el tratamiento de tierras ácidas.

El huevo es un alimento indispensable en nuestras dietas de consumo creciente, por lo que la cáscara de huevo es uno de los residuos generados en mayor cantidad en España (48.180 Tn /año en 2023). No obstante, no son recicladas de forma masiva y la mayoría de la cáscara de huevo acaba en los vertederos. Por ello, esta línea de investigación, podría aportar

soluciones sostenibles y mitigar los efectos adversos de la lluvia ácida sobre los cultivos. Es fundamental por tanto, comprender y optimizar las interacciones que operan en el cultivo en condiciones de lluvia ácida en presencia de $CaCO_3$ para poder desarrollar estrategias efectivas y sostenibles para hacer frente a este gran problema medio ambiental y el reto de acumulación de residuos procedentes de cáscara de huevo.

Finalmente, las nuevas perspectivas que se abren en este punto de encuentro de ambos retos son prometedoras. Un punto de interés e investigación futura será constatar los efectos positivos de la disolución de cáscara de huevo encontrados en esta investigación en condiciones de laboratorio a escala macroscópica y determinar el efecto de esta disolución de carbonato cálcico en ensayos de campo y en espacies de interés agronómico.

7.-CONCLUSIONES

- El aumento de la acidez del agua retrasó la perdida de la hoja de la roseta de *Arabidopsis thaliana*, mientras que la solución de cáscara de huevo ($CaCO_3$) incrementó significativamente la pérdida de hojas de la roseta, pero aumentó el ancho de la roseta en condiciones de lluvia ácida ligera, intermedia y fuerte.

- La velocidad de crecimiento del tallo aumenta con la lluvia ácida a pH 5,5, pH 4,5 y pH 4, y la solución de cáscara de huevo tiene un efecto potenciador significativo, especialmente en condiciones de lluvia ácida intermedia.

- La influencia de $CaCO_3$ presente en la solución de la cáscara de huevo hace que la planta adelante la floración, pero no el número máximo de flores producidas por planta.

- La disolución de cáscara de huevo disminuye el número de tallos secundarios de la planta

- En definitiva, la solución de cáscara de huevo, básica y rica en $CaCO_3$, neutraliza los efectos la lluvia ácida, especialmente en condiciones de lluvia ácida ligera e intermedia. Aumenta la velocidad de crecimiento del tallo en comparación con el riego convencional, adelanta la floración y aumenta la anchura de la roseta. Estos procesos están relacionados con un adelanto en el desarrollo y maduración general de *Arabidopsis thaliana,* acortando las diferentes etapas de su ciclo de vida.

- La reutilización de la cáscara de huevo podría ser una excelente alternativa sostenible para la neutralización de los efectos de la lluvia ácida

8.- AGRADECIMIENTOS

Finalmente queremos agradecer:

- A nuestra coordinadora de la investigación Elena León Rodríguez, por ayudarnos en diseño y ejecución de nuestro proyecto.
- Al la Junta de Andalucía y al Proyecto de Innovación Educativa Fidiciencia 2.0 por promover la investigación científica en el alumnado de secundaria y bachillerato
- Al Departamento de Epigenética, grupo de Reparación del ADN BIO 301 de la UCO por habernos proporcionado las semillas de *Arabidopsis thaliana* y material para llevar a cabo nuestro proyecto.
- Al IES Fidiana, por proporcionarnos los medios adecuados y su laboratorio para poder realizar nuestro proyecto
- Al profesor de química del IES Fidiana, David Martín Cisneros, por ayudarnos a ajustar el pH de las soluciones de riego ácidas.

9.- BIBLIOGRAFÍA

- Ingeoexpert.22/12/2017. https://ingeoexpert.com/2017/12/22/que-es-la-lluvia-acida/

- Mesa Gómez R. 01/2013. Estudio del papel de las alcamidas en el cultivo in vitro de plantas de *Arabidopsis thaliana* sometidas a condiciones de estrés hídrico. Facultad de ciencias químicas maestría en ciencias en procesos biológicos, Universidad de Veracruz. https://cdigital.uv.mx/bitstream/handle/123456789/46817/MezaGomezRicardo.pdf?sequence=2&isAllowed=y

- FDM Environmental Maker. 23/03/2022.https://www.dellamarca.it/es/cultivar-arabidopsis-aliana-clima-ideal-gracias-un-crecimiento/#:~:text=La%20temperatura%20%C3%B3ptica%20para%20el,las%20primeras%20etapas%20de%20crecimiento.

- Blanco Montes L., Galende Pérez N., Fraile Anciones J , Ganges Bayón A, Ruíz González C., Sánchez Vicente R., Salamanca Núñez C. y Gallego Nogueras P. Efecto de la lluvia ácida sobre la germinación y el crecimiento de plantas. Departamento de Biología y Geología IES Universidad Laboral Avda. de la Universidad de CÁCERES. 2019.https://www.meridies.info/assets/0b-meridies-22-pags-1-103c.pdf#page=79

- Organización interprofesional del huevo y sus productos. https://www.inprovo.com/el-huevo-lider-en-aumento-de-consumo-en-los-hogares-espanoles-8-en-2023/

- Gómez-Zotano, J., Lluvia ácida en la costa del sol: análisis de sus causas y consecuencias. Jábega: revista de la Diputación Provincial de Málaga. 2003

- Ute Krämer (2015) The Natural History of Model Organisms: Planting molecular functions in an ecological context with *Arabidopsis thaliana* *eLife* 4:e06100. https://doi.org/10.7554/eLife.06100

- D. Granados Sánchez; G. F. López Ríos; M. Á. Hernández García. La lluvia ácida y los ecosistemas forestales. Rev. Chapingo ser. cienc. for. ambient vol.16 no.2 Chapingo jul./dic. 2010

- Brown D.A y Albrech, W.A. Plant nutrition and the hydrogen ion. VI Calcium Carbonate a Disturbing fertility factor in the soil. Soil Sci Amer Proc, 12, 342-347. 1947

- Raciti G. Il ferro elemento indispensable de la nutrizione degli agrumée. Archiv. Agrom., 1 (3): 129-132. 1956

- Índice de Calidad del Aire https://www.miteco.gob.es/es/calidad-y-evaluacion-ambiental/temas/atmosfera-y-calidad-del-aire/calidad-del-aire/ica.html

- BOE-A-2011-1645. https://www.boe.es/eli/es/rd/2011/01/28/102

- BOE-A-2019-4494.https://www.boe.es/eli/es/o/2019/03/18/tec351/con