

La experiencia española en el diseño de sistemas experimentales para el estudio de efectos producidos por contaminantes gaseosos sobre especies vegetales

M. PUJADAS, J. TERÉS y B.S. GIMENO

Los primeros estudios experimentales realizados en España sobre efectos producidos por diversos oxidantes fotoquímicos sobre especies agrícolas fueron abordados por el CIEMAT en 1.988. Desde esta fecha, el CIEMAT dispone de un campo experimental de cámaras de techo abierto en una finca agrícola situada en el Delta del Ebro. En esta instalación se han desarrollado diversos proyectos, cuyos resultados han contribuido notablemente al conocimiento de los efectos del ozono troposférico sobre numerosas especies de interés agrícola y forestal en nuestro país.

En este trabajo se describe la concepción técnica de este campo experimental, su infraestructura y los elementos básicos, que permiten homologar sus resultados a nivel internacional.

M. PUJADAS, J. TERÉS y B. S. GIMENO: Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas (CIEMAT). Dpto. de Impacto Ambiental de la energía. Avda. Complutense, 22. 28040 Madrid.

Palabras clave: Cámaras de techo abierto, Cámaras de fumigación, Ozono, efectos sobre plantas.

INTRODUCCIÓN

Desde el inicio de la revolución industrial, la creación de grandes polígonos de producción y la puesta en marcha de un enorme número de centrales térmicas de combustión han traído consigo importantes impactos ambientales, que se dejan sentir en zonas cada vez más distantes de estos emplazamientos industriales. En la actualidad, el problema es de ámbito global y sus repercusiones alcanzan a todos los sistemas bióticos. En general, los contaminantes atmosféricos se comportan de modo parecido ante cualquier tipo de forma de vida, esto es, pueden inducir daños directos en los individuos o favorecer su posterior aparición debida a otros agentes. El caso de las especies vegetales no es una excepción.

El primer programa de investigación en el que se acordó normalizar las metodologías de estudio de los efectos sobre la vegetación, así como las técnicas y los criterios de calidad de los datos, se realizó en el marco de la «National Crop Loss Assesment Network» (NCLAN), en el período de 1980-87, aunque las primeras referencias bibliográficas sobre este problema datan de los años 40-50 (MIDDLETON, *et al.*, 1950). El objetivo original de la NCLAN fue realizar una valoración económica de los efectos que algunos contaminantes, como el dióxido de azufre (SO₂), los óxidos de nitrógeno (NO_x) o el ozono (O₃) estaban produciendo o podían inducir sobre la agricultura. Se trataba de conocer su repercusión en el rendimiento (calidad y productividad) de las cosechas en especies de gran importancia económica, como el trigo,

alfalfa, maíz, sorgo, judía, tomate, tabaco, etc. El tema era notablemente complejo, puesto que la simple identificación de un contaminante atmosférico concreto como agente causante de un daño es ya una tarea delicada. Por ejemplo, cuando el efecto negativo inducido se traduce también en la aparición de síntomas visibles sobre las plantas, no siempre se pueden distinguir éstos de los producidos por otras causas naturales (estrés hídrico, plagas, deficiencias nutricionales, bajas temperaturas, etc.), por lo que una diagnosis correcta del problema era el primer objetivo a cubrir. La forma de abordar el tema se centró en la caracterización de las funciones Dosis-Respuesta y en la investigación de los mecanismos fisiológicos y bioquímicos involucrados en el desarrollo de los daños, para lo que se necesitaba aplicar metodologías muy rigurosas que permitiesen diferenciar los efectos y atribuir causalidades.

Uno de los aspectos esenciales abordados en el marco de la NCLAN fue precisamente la definición de métodos experimentales adecuados, que sirvieran para unificar las condiciones de los ensayos de los distintos grupos de investigación, permitiendo con ello una evaluación normalizada de sus resultados. En esta metodología, se determinaron los siguientes aspectos (HECK, *et al.*, 1987): ubicación del material biológico estudiado (bien en campo o en laboratorio), los tipos de tratamientos pasivos/activos del aire que rodea a las plantas, los métodos para la realización del muestreo y análisis de la atmósfera que les rodea y, por último, aquellos parámetros y magnitudes que, por ser determinantes para el crecimiento de las plantas, deben también ser medidos. Los resultados del programa de la NCLAN constituyeron una importante base de datos cuyo interés continúa aún vigente.

El estudio de esta problemática en Europa se inició a nivel continental con el nacimiento del programa «European Communities Research Project on Open-Top Chambers» (1986-91). Su principal objetivo fue la evaluación de los efectos que el ozono troposfé-

rico produce sobre ciertos cultivos europeos (CEC Air Pollution Research Report 48). Desde 1991 y en el marco del subprograma ECOTREE, perteneciente al programa STEP, estos estudios se han extendido a especies de interés forestal. Otro foro de gran relevancia internacional, creado en 1988, fue el Programa de Cooperación Internacional sobre los Efectos de la Contaminación Atmosférica y otros Estrés en los Cultivos y Plantas Herbáceas (ICP-CROPS) (BENTON, *et al.*, 1995), siendo parte del Grupo de Efectos de la ONU/CEPE. Los objetivos del ICP-CROPS son:

- Evaluar los datos experimentales sobre la respuesta de los cultivos y plantas herbáceas a distintas exposiciones de ciertos contaminantes, para obtener valores actualizados que permitan determinar los Niveles Críticos de ozono en relación con los protocolos de la Unión Europea para VOC y NO_x.
- Determinar las respuestas de cultivos y plantas herbáceas para poder documentar los resultados de la puesta en marcha de los protocolos de VOC y NO_x.

La experiencia española en estos temas arranca en 1988 con un proyecto liderado por el CIEMAT y realizado en colaboración con el Instituto de Salud Carlos III (Ministerio de Sanidad y Consumo) y con la empresa agrícola MIGJORN S.A. Este primer proyecto se circunscribió al estudio de los efectos producidos por el ozono sobre cultivos de sandía y judía. Tanto en el desarrollo de éste como en el de los proyectos posteriores, encuadrados en los programas ECOTREE e ICP-CROPS, se han seguido las directrices metodológicas marcadas por la NCLAN.

METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

En el estudio de los efectos de la contaminación atmosférica sobre las especies vegetales, las líneas maestras trazadas por la NCLAN son referencias obligadas para los



Fig. 1.—Vista parcial del campo experimental de OTC instalado en el Delta del Ebro.

estudiosos de estos temas. En su metodología, no sólo se definen las técnicas experimentales, cuya implementación puede variar en cada estudio, sino también los requisitos mínimos que deben cubrirse para garantizar la calidad de los resultados y su representatividad estadística. También se pone especial énfasis en señalar las interferencias que otros agentes distintos de los estudiados pueden producir sobre las plantas. En este sentido, se recomienda evitar en lo posible, o al menos minimizar, cualquier efecto de los elementos e instrumentación utilizados sobre los resultados en el desarrollo de las plantas. Si algún efecto tuviera lugar de manera inevitable, debe ser identificado y cuantificado para poder considerarlo durante la fase de interpretación de resultados.

Los procedimientos que se utilizan en la actualidad siguen esta metodología, incor-

porando las modificaciones que los avances técnicos aconsejan. A continuación se repasan los conceptos más relevantes que se manejan en este tipo de experimentación.

Emplazamiento de las plantas bajo estudio

Clásicamente, se distingue entre *Estudios en Condiciones Semicontroladas* y *Estudios en Condiciones Controladas*. Los primeros están más cerca de la realidad porque, aunque en ellos las plantas estudiadas no están en condiciones completamente naturales, se intenta no influir sobre los parámetros meteorológicos. Los segundos están más alejados de la realidad porque aplican un control estricto de todas las variables, incluidas las termodinámicas, lo que les hace

muy interesantes para estudiar los mecanismos de interacción entre las plantas y el ambiente.

Las condiciones semicontroladas se pueden crear utilizando cierto tipo de cámaras, por ejemplo, *Cámaras de Techo Abierto*, o directamente realizando los tratamientos a cielo abierto. Las condiciones controladas se generan en *Cámaras de ambiente controlado*.

Cámaras de Techo Abierto (Open Top Chambers. OTC)

Se trata de recintos cilíndricos contruidos a partir de un armazón metálico, con paredes transparentes a la radiación fotosintéticamente activa (PAR), y cuya concepción se realizó para aplicaciones de campo (HAGRETT, *et al.*, 1987; HEAGLE, *et al.*, 1979). Estas cámaras cuentan con un sistema de

ventilación forzada para asegurar la renovación de la atmósfera interior. El aire se inyecta a través de un difusor toroidal situado en la parte inferior de las cámaras y sale por la amplia abertura de la parte superior, que da nombre a este sistema. Estas cámaras deben contar con una puerta de acceso que permita la entrada para la realización de las labores de mantenimiento, control y muestreo de las plantas que se sitúan en su interior. En la figura 2 se detallan los aspectos más relevantes del diseño.

Aunque, en principio, con estas cámaras sólo se pretende controlar la calidad del aire que rodea a las plantas, las condiciones en el interior difieren con respecto a las externas en algo más que la concentración de ciertos constituyentes gaseosos. La experiencia ha demostrado que existe una notable influencia de las OTC sobre el crecimiento de las plantas, semejante al efecto que produce un invernadero. Por ello se re-

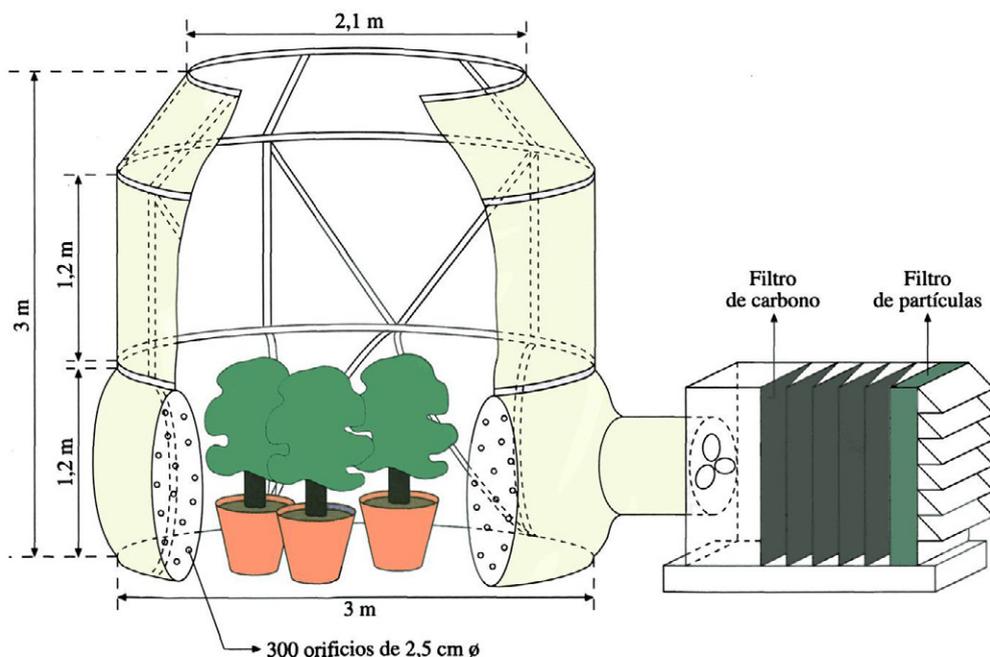


Fig. 2.—Esquema de cámara de techo abierto (OTC) y sistema de ventilación forzada con filtros.

comienda la utilización paralela de parcelas de control. Estas parcelas son superficies de las mismas dimensiones que las ocupadas por las cámaras, que contienen el mismo tipo de plantas y que deben estar situadas en el mismo entorno, pero que carecen de barrera física que posibilite el control de la calidad del aire.

Las OTC pueden emplazarse acotando partes de un cultivo real o pueden albergar plantas en maceta. En cualquier caso, deben contar con un número suficiente de individuos en su interior, para que la variabilidad natural no afecte al resultado de los experimentos por falta de réplicas.

Cámaras de ambiente controlado

Para estudios en laboratorio pueden emplearse cámaras de crecimiento cerradas, también llamadas cámaras climáticas, que permiten controlar en su interior todos los parámetros físicos que determinan las condiciones de crecimiento del material biológico que albergan. Las dimensiones y diseños de estas cámaras son diversos, aunque su fundamento es siempre el mismo. En el interior de las cámaras debe crearse el ambiente adecuado para el desarrollo normal de las plantas (luz, aire, temperatura, humedad, nutrientes, etc.), de manera que pueda alterarse selectivamente este medio a través de la modificación del parámetro cuya influencia se desee estudiar.

Aplicadas al estudio de los efectos producidos por contaminantes atmosféricos, estas cámaras admiten la creación en su interior de una atmósfera perfectamente controlada, cuya composición puede ajustarse con gran exactitud y precisión. No obstante, al tratarse de espacios cerrados, pueden surgir problemas cuando se manejan ciertos contaminantes reactivos, debido fundamentalmente a limitaciones en los materiales empleados en la construcción de estos recintos. La dificultad consiste básicamente en la escasez de materiales transparentes en el rango UV-Visible y que sean químicamente inertes.

Tratamientos del aire: pasivos y activos

La potencia de este tipo de experimentación se basa en la aplicación de distintos tratamientos del aire. Es precisamente la capacidad de alterar la calidad del aire ambiente de las plantas lo que posibilita la obtención de las correlaciones adecuadas de dosis-respuesta con respecto a la concentración de especies gaseosas contaminantes. Normalmente, no suele utilizarse aire sintético, sino que se emplea aire ambiente sometido a ciertos tratamientos. Estos pueden dividirse en dos tipos: Pasivos y Activos.

Pasivos

Los tratamientos pasivos se reducen al empleo de filtros selectivos, que permiten retirar del aire ambiente aquellas sustancias cuya presencia incontrolada puede perturbar los resultados. Por su abundancia, las especies contaminantes que suelen filtrarse son los óxidos de azufre y nitrógeno, el ozono y los hidrocarburos. Los filtros empleados están constituidos bien por partículas de carbón activo, o bien por *Purafil*. Este último permite retener el 70% del NO, que el carbón activo no absorbe. Cuando se desea eliminar todas estas sustancias simultáneamente, deben utilizarse filtros mixtos de ambos tipos. El período de renovación de estos filtros depende tanto del caudal de aire que tengan que depurar como de su nivel de contaminación, por lo que está sujeto a una variabilidad importante, recomendándose, por tanto, un control sistemático del rendimiento de los filtros.

Con estos tratamientos no sólo se alteran las concentraciones naturales de los contaminantes, sino que se puede crear una atmósfera estándar de referencia, cuestión fundamental para este tipo de estudios.

Activos

Los tratamientos activos se basan en la inyección en las cámaras de cantidades con-

troladas de los compuestos de interés. Este método amplía significativamente la gama de tratamientos que puede ofrecer la simple utilización de filtros y abre la posibilidad de fumigar las plantas en régimen controlado, lo que permite establecer con mayor fiabilidad las posibles funciones dosis-respuesta.

Por otro lado, mediante la combinación de distintos contaminantes, o de fumigaciones y tratamientos biológicos, se pueden realizar estudios sobre la existencia de relaciones entre la exposición simultánea a esos factores y la respuesta de las plantas. Existen estudios que han demostrado la existencia de distintos tipos de interrelaciones (sinérgicas, aditivas y antagonicas), lo que pone de manifiesto la importancia de estos ensayos (CHAPPELKA, CHEVONE, 1992; RONECKLES, CHEVONE, 1992).

Las características químicas de cada gas contaminante a inyectar determinarán su fuente, de tal manera que no siempre se podrá disponer de bombonas comerciales de contenido certificado, como puede ser el caso del SO₂, NO₂, hidrocarburos, etc., sino que a veces el contaminante deberá producirse in situ, como por ejemplo en el caso del O₃.

Muestreo y análisis del aire

El único medio que permite el control constante de la composición de la atmósfera establecida en el interior de las cámaras es su caracterización continua. Esto implica inmediatamente la utilización de un sistema automático que asegure la obtención permanente de muestras de aire y su análisis en tiempo real.

El sistema de muestreo debe garantizar la integridad química de la muestra de aire desde el punto de captación hasta el punto de análisis. Por lo tanto, los elementos del sistema neumático que entren en contacto con el aire deberán estar fabricados con materiales inertes, por ejemplo, teflon o acero inoxidable. Además de las posibles influencias de tipo químico sobre las muestras, se

deben evitar los efectos de tipo físico como diluciones indeseadas, producidas por entradas de aire en puntos intermedios del sistema, condensaciones de vapor de agua, entrada de partículas, insectos u otros elementos extraños, etc. Para resolver estos problemas se deben instalar filtros de partículas y realizar tareas de mantenimiento con regularidad. Es conveniente también que todas las líneas de toma de muestra tengan la misma longitud y que mantengan un flujo de aire constante.

En cuanto al análisis continuo de las muestras, éste se realizará siguiendo los métodos homologados por la Agencia de Protección Ambiental de los EE.UU. (USEPA) para la medida de cada contaminante (absorción ultravioleta para O₃, fluorescencia ultravioleta para SO₂, quimio-luminiscencia de la reacción del NO con O₃ para NO_x y espectrometría de llama para hidrocarburos). Las concentraciones ambientales de los contaminantes citados están normalmente en el rango de decenas de partes por billón (ppb; 1 ppb = 1/10⁹), pudiendo alcanzar hasta cientos de ppb. Esto determina las características de los analizadores comerciales a utilizar.

El período de muestreo deberá ser menor o igual a la variación natural apreciable de la concentración de los contaminantes, siendo comúnmente del orden de minutos, aunque tanto ésta como otras especificaciones del sistema deberán ajustarse a cada experimento.

Parámetros adicionales a controlar

Existen otras variables que deben ser medidas en continuo para mantener un buen nivel de información sobre el entorno en que se encuentran las plantas. En concreto, algunos parámetros termodinámicos, como *temperatura del aire* (interior y exterior, si se utilizan OTC), *humedad del aire* (interior y exterior, en OTC), *radiación fotosintéticamente activa* (PAR) (interior y exterior, en OTC), *humedad del suelo*, *temperatura del suelo*, etc., son del máximo interés.

EXPERIENCIA ESPAÑOLA

Desde finales de la década de los 70 se detectó una sintomatología anómala en las plantaciones de sandía de algunas explotaciones agrícolas del sur de Tarragona. Por analogía con problemas similares detectados anteriormente en distintas zonas de los EE.UU., esta sintomatología fue atribuida a efectos relacionados con la contaminación fotoquímica existente en el área (Salleras, 1987).

Como consecuencia de ello, se realizó por primera vez en España un proyecto científico encaminado al estudio de esta problemática. El proyecto fue encabezado por el CIEMAT y desarrollado conjuntamente con el Instituto de Salud Carlos III y MIGJORN, S.A., en la finca que esta última tiene en el Delta del Ebro (Tarragona). El estudio se llevó a cabo siguiendo la metodología definida en la NCLAN, quedando instalado en 1988 el primer campo experimental español de Cámaras de Techo Abierto en una parcela de 40 × 60 m² de MIGJORN, S.A. (40° 41.5' N, 0° 48' E). Por su emplazamiento, alejado de polígonos industriales y de grandes fuentes lineales de NO_x (autopistas), esta zona es especialmente interesante porque en ella se dispone de forma natural de una notable concentración de ozono ambiente, raramente sujeta a perturbaciones por emisiones locales de monóxido de nitrógeno, cosa que no suele suceder a lo largo de toda la costa mediterránea española.

A partir de 1991, el «Grupo de efectos de la contaminación atmosférica sobre especies vegetales» del Instituto de Medio Ambiente del CIEMAT, responsable del citado proyecto, pasó a formar parte del subprograma ECOTREE del programa STEP, financiado por la Comunidad Europea en el que se definió como objetivo el estudio de los efectos del ozono y otros estreses ambientales sobre la fisiología y la bioquímica del *Pinus halepensis* Mill. Actualmente, el grupo es el coordinador mediterráneo del ICP-CROPS de la ONU, cuyo principal objetivo es determinar los niveles críticos de ozono sobre cultivos (GIMENO, *et al.*, 1993a; GIMENO, *et al.*,

1993b; GIMENO, *et al.*, 1993c) En la actualidad ya existen otros grupos en España interesados en el estudio de los efectos de los contaminantes gaseosos convencionales sobre plantas superiores que utilizan OTC (PENUELAS, *et al.*, 1995).

EL CAMPO EXPERIMENTAL DEL DELTA DEL EBRO: DESCRIPCIÓN Y RENDIMIENTO

En los últimos siete años el montaje experimental desplegado en el Delta del Ebro ha ido evolucionando ininterrumpidamente hasta alcanzar su configuración actual, de acuerdo con los nuevos objetivos científicos marcados por el grupo de trabajo.

Los elementos constituyentes del campo experimental se pueden agrupar en dos sistemas bien diferenciados: *Sistema de Control* de la atmósfera que rodea el material biológico bajo estudio y *Sistema de Muestreo y Análisis* de la atmósfera creada y de otras variables de interés.

Sistema de Control

El campo consta de un conjunto de OTC (18 en total) distribuidas en un recinto de 62 × 34m², que permiten trabajar con distintas especies vegetales de interés agrícola y forestal crecidas en macetas. Independientemente del material biológico estudiado, las cámaras están agrupadas según el tratamiento que se da al aire de su interior. Además de estas cámaras de techo abierto, existen 6 parcelas de control sin cámaras que se encuentran intercaladas con las OTC. En la fotografía (fig. 1) se presenta parte de este campo, con algunas de las OTC y la sala de control en el centro.

Al estar diseñadas siguiendo las directrices de la NCLAN, todas las cámaras cuentan con elementos comunes. Entre ellos, además de los elementos estructurales (armazón, base y paredes plásticas), cabe destacar el sistema de inyección de aire que es

independiente para cada cámara, siendo los ventiladores los elementos esenciales. Estos ventiladores (marca S&P, potencia: 0.5 CV y 2500 rpm) renuevan el aire interior de las cámaras tres veces por minuto (caudal: $71 \text{ m}^3 \text{ min}^{-1}$). Los ventiladores se encuentran inmediatamente antes de la entrada a las cámaras y están protegidos por carcasas metálicas, que a su vez permiten la colocación de una batería de elementos filtrantes como etapa previa a los ventiladores. En la figura 2 se detallan los aspectos más relevantes del diseño.

La composición del aire de las OTC se establece por medio de filtros y fumigando con gases contaminantes mediante el sistema de dilución de las cámaras. Considerando que en el Delta del Ebro el ozono es el único contaminante atmosférico que se encuentra en cantidades apreciables, ésta ha sido la única especie gaseosa considerada a efectos de filtración. Todas las cámaras cuentan con un filtro para la retención de partículas y, además, algunas cuentan con filtros de carbón activo para filtrar el O_3 ambiental, que se sitúan entre el de partículas y el ventilador.

Este campo cuenta también con algunas cámaras dotadas de una entrada especial

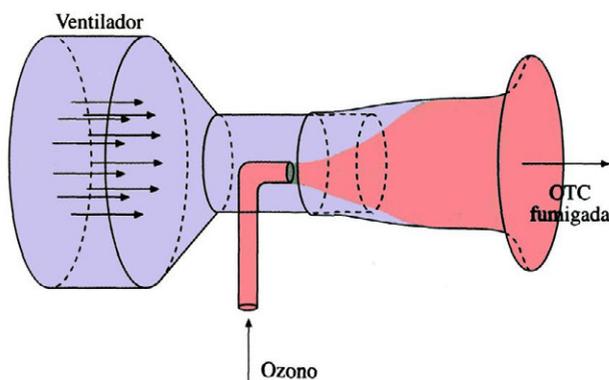


Fig. 3.—Esquema de la conexión del conducto de fumigación con el sistema de ventilación forzada.

para la fumigación con gases situada a continuación del ventilador y antes de la entrada al difusor toroidal de distribución de aire. Con objeto de garantizar una correcta dilución del gas inyectado en la corriente de aire impulsada por el ventilador, así como para impedir que este gran caudal de aire ($71 \text{ m}^3 \text{ min}^{-1}$) produzca perturbaciones sobre los pequeños flujos de fumigación ($\sim 50 \text{ cm}^3 \text{ min}^{-1}$), es preciso cuidar el diseño de la geometría de esta entrada (véase la fig. 3). Como resultado de combinar los elementos descritos en las OTC se pueden obtener diversos tratamientos:

- Aire Ambiente (Parcelas de control).
- Aire No Filtrado (Aire ambiente + OTC).
- Aire Filtrado (OTC + filtro de carbón activo).
- Aire Ambiente Fumigado (Aire ambiente + OTC + dosis de gas contaminante).
- Aire con Fumigación controlada (OTC + filtro de carbón activo + dosis de gas contaminante).

Hasta el presente, en este campo se ha trabajado con los cuatro primeros tratamientos, habiéndose realizado fumigaciones con ozono. Esta última tarea es, sin duda, la más delicada de todas las relacionadas con los tratamientos del aire. Independientemente del gas empleado, un diseño incorrecto del sistema de inyección, un fallo en el mismo o un error en la valoración del rendimiento del proceso de dilución del gas pueden producir consecuencias irreversibles en el material biológico tratado.

La fumigación con ozono es probablemente una de las más complicadas de realizar, puesto que no se dispone del gas embotellado. En consecuencia, a los problemas derivados del propio sistema de inyección se le suman, en este caso, los relacionados con el de generación del gas. Existen distintos métodos de producción de ozono y muchos más modelos comerciales que los implementan. Todos ellos se basan en la obtención de moléculas de ozono a partir de la ruptura de moléculas de oxígeno en cámaras

de reacción y de la inmediata recombinación de los átomos resultantes con el oxígeno molecular disponible.

La técnica empleada por el generador de ozono utilizado en el campo del Delta del Ebro es similar al mecanismo natural que desencadena la generación de ozono durante las tormentas. Éste se basa en que las descargas eléctricas producidas a través del aire por la presencia de diferencias de potencial muy elevadas (de hasta 150 kV m^{-1} en tormentas eléctricas) provocan la ionización y disociación de moléculas de oxígeno (MARSHALL, *et al.*, 1995). El generador utilizado en el Delta del Ebro (Fisher mod. 503) cuenta con cuatro cilindros de descarga (8.000 voltios), con un buen rendimiento en la producción de O_3 . Para la aplicación que nos ocupa, es más recomendable alimentar el generador con oxígeno puro de botella que utilizar aire ambiente, para evitar, entre otras cosas, la formación de N_2O_5 que se genera en las descargas eléctricas en aire ambiente y cuyos efectos sobre las plantas pueden ser incluso peores que los de otros contaminantes y que, en el mejor caso, perturbaban el resultado de los experimentos (OLSZYK, *et al.*, 1990).

La producción de ozono con este sistema se puede regular controlando el flujo de entrada de O_2 al generador o ajustando la corriente de las descargas. Los flujos de O_3 enviados a las OTC fumigadas son regulados mediante controladores de flujo másico (BROOKS, mod 5850TR). El sistema completo permite crear las concentraciones de ozono deseadas manteniendo los niveles en las OTC bastante estables, aunque las tareas previas de calibración son bastante laboriosas. La concentración de ozono creada dentro de las OTC se puede considerar uniforme en todo su espacio útil, habiéndose constatado su isotropía en la OTC tanto radialmente como en altura, hasta la proximidad del techo abierto de la OTC. A partir de este punto, se aprecia un pequeño gradiente, un metro por encima del dosel de las plantas en el caso más desfavorable.

Sistema de Muestreo y Análisis

El Sistema de Muestreo y Análisis del aire de las cámaras (SMA) funciona en continuo y de manera totalmente automática. En síntesis, el sistema realiza un muestreo secuencial del aire de las cámaras siguiendo un ciclo establecido previamente, de modo que la muestra de aire seleccionada es llevada a unos analizadores automáticos, que miden las concentraciones presentes de ciertos gases contaminantes. Un sistema informático gestiona todo el ciclo de muestreo y procesa y almacena toda la información, mediante un programa diseñado al efecto.

Paralelamente, se registra en continuo con un sistema autónomo de adquisición de datos una serie de variables termodinámicas (temperatura y humedad del aire, PAR, temperatura y humedad del suelo), cuya medida también se realiza dentro y fuera de las OTC. También se miden parámetros como la dirección y velocidad de viento en el área del campo experimental.

Una descripción detallada del SMA se puede realizar agrupando sus elementos en los tres subsistemas de que consta: el Subsistema de Muestreo, el Subsistema de Análisis y el Subsistema de Gestión.

Subsistema de Muestreo

Considerando las dimensiones del campo experimental y dado que el riesgo de alteración de las muestras de aire aumenta con la distancia entre los puntos de captación y de análisis, es fácil concluir que el mejor lugar para ubicar la sala de control y de medidas es el centro geométrico del campo, situando las OTC entorno a él.

El muestreo del aire del interior de cada OTC se realiza en un punto situado en el centro de cada cámara y justo por encima del dosel de las plantas que contiene. Las muestras de aire se canalizan a través de tubos de teflon, de la misma longitud (30 m) para todas las OTC, que convergen en un colector distribuidor de teflon situado en la

sala de control. El bombeo del aire se realiza por aspiración con una bomba general, que mantiene un flujo permanente en cada tubo. La activación secuencial de una serie de electroválvulas permite que, periódicamente, cada uno de estos caudales de aire sea aspirado directamente por las bombas de los analizadores de gases, realizándose entonces las medidas. Con ello se asegura la renovación continua del aire presente en los tubos, lo que disminuye el riesgo de impurificación de las canalizaciones por estancamiento y permite acortar el tiempo de respuesta del sistema de medida. Las muestras de aire que no se analizan se ventean al exterior. En la actual configuración del campo, todos los tubos están guiados por conducciones subterráneas, lo que evita su deterioro mecánico y el sobrecalentamiento de las líneas, que podría llegar a alterar la composición de las muestras durante el recorrido.

Además del aire de las distintas cámaras, el sistema puede recoger una muestra de aire de referencia independiente mediante la inclusión de un filtro de carbón activo unido directamente al colector distribuidor como

si se tratase de una cámara más. La utilización de este aire cero es el que permite controlar tanto el rendimiento de los filtros de las cámaras como el funcionamiento de los analizadores de gases. En la figura 4 se ilustra la disposición de los distintos elementos del sistema neumático.

Subsistema de Análisis

Las muestras de aire tomadas en este campo experimental son analizadas de manera continua, midiéndose su contenido en O_3 , NO_x y SO_2 (ver fig. 4). Pese a que las concentraciones de NO_x y SO_2 presentes en la zona apenas superan el límite de detección de los analizadores (1 ppb), estos contaminantes se miden de manera cautelara. Los analizadores automáticos utilizados son: (O_3) DASIBI mod. 1008, por fotometría UV; (NO_x) DASIBI mod. 2108, por quimioluminiscencia; (SO_2) DASIBI mod. 4108, por fluorescencia UV. Todos los analizadores son sometidos a rutinas de calibración semanales y a un mantenimiento técnico

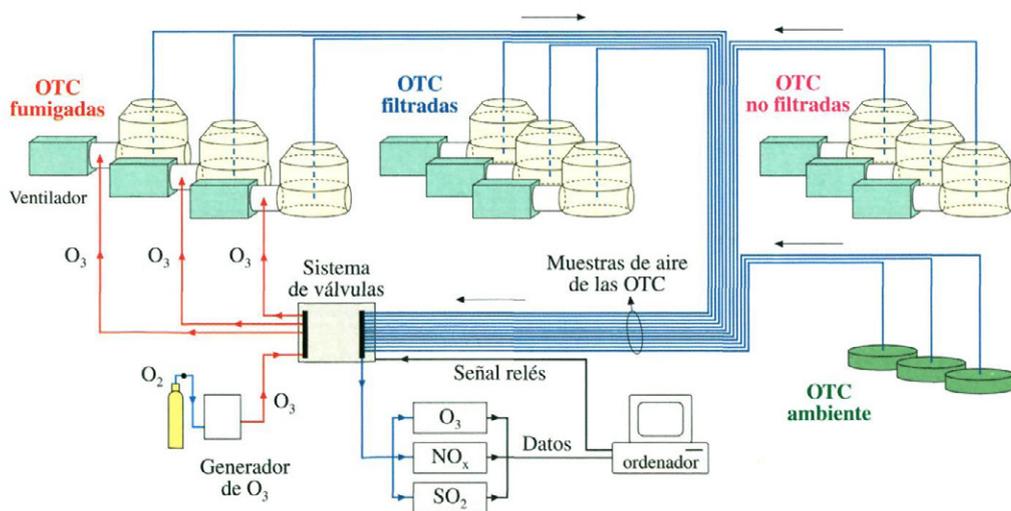


Fig. 4.-Esquema del sistema de muestreo y su integración en el campo experimental.

co trimestral más completo. Las condiciones ambientales del campo (alta humedad permanente y elevadas temperaturas en verano) obligan a acondicionar adecuadamente la sala de control, para evitar problemas de funcionamiento en los analizadores y derivas en el resultado de los análisis.

Por otro lado, también se caracterizan algunos parámetros termodinámicos del campo experimental y la influencia de las OTC sobre ellos. Para ello, algunas OTC y algunas parcelas de control abiertas están dotadas de sensores de temperatura y humedad del aire (Skye Instruments, mod. SKH 2013), temperatura de suelo (Unidata, mod. 6507), humedad del suelo (Skye Instruments, mod. SKT 600) y PAR (Skye Instruments, mod. SKP 210). En la figura 5 se muestra esquemáticamente la disposición de estos sensores. Además, hay instalada una torre meteorológica autónoma de 10 m, que proporciona información ambiental adicio-

nal (velocidad horizontal del viento, temperatura y humedad relativa).

Subsistema de Gestión

La definición de los ciclos de muestreo y el procesado de los datos depende de las características de los experimentos que se realicen en el campo. Desde su instalación, se han preparado distintas versiones del bloque electrónico e informático que han permitido automatizar los diferentes campos en cada etapa.

En la disposición actual el campo está dividido en dos partes: en una se trabaja con especies de interés agrícola y en la otra con especies de interés forestal. Ambos campos se gestionan de manera independiente, aunque de un modo muy similar. Cada uno es controlado desde un ordenador HP Vectra 486/25VL a través de un programa informá-

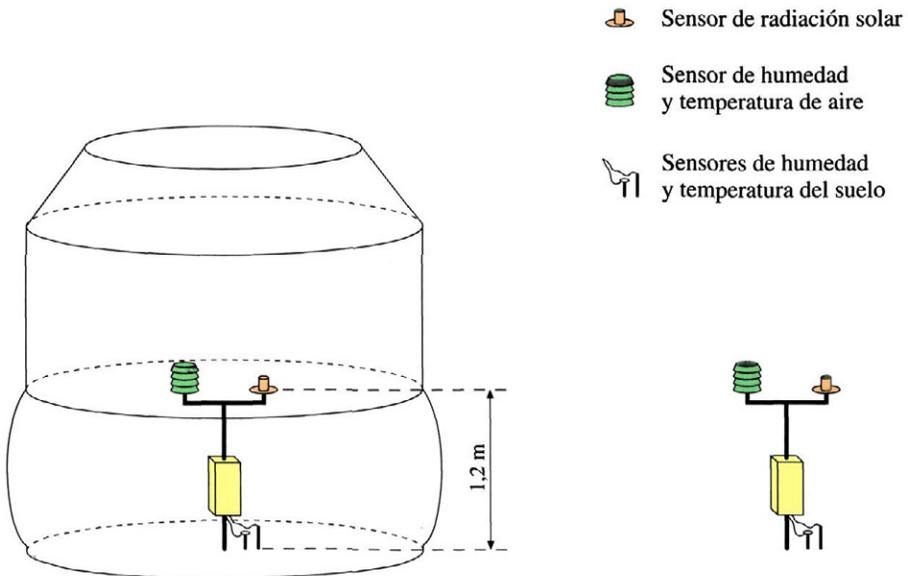


Fig. 5.—Esquema de la instalación, dentro y fuera de las OTC, de los sensores radiación fotosintéticamente activa (PAR), de temperatura y humedad de aire y de temperatura y humedad de suelo.

tico de diseño propio preparado al efecto. Cada ordenador está equipado con una tarjeta electrónica de conversión analógico/digital (tarjeta A/D, National Instruments PC-LPM-16) y una tarjeta de entradas/salidas digitales (National Instruments PC-D10-96). Esta última está conectada a dos tarjetas externas de ocho relés cada una (National Instruments SC-2062). Cada relé controla una electroválvula de tres vías que, a su vez, dirige la trayectoria del flujo de muestra de aire procedente de la cámara que tiene asociada. Si la electroválvula se activa por medio de su relé, el aire es enviado hacia los analizadores de gases, mientras que si permanece desactivada el caudal se ventea al exterior. La tarjeta de conversión A/D tiene conectadas las salidas de señal de los analizadores de gases y es la encargada de recoger y transmitir esta información al ordenador.

El programa informático, realizado en el lenguaje Turbo Pascal (7.0) de Borland, maneja una serie de conceptos fundamentales para la gestión del Subsistema de Muestreo y Análisis:

- período y secuencia del muestreo de las cámaras (número de cámara y tipo de tratamiento del aire asociado),
- tiempo de espera (T_{off}) y de adquisición de datos válidos (T_{on}) tras seleccionar una cámara para el análisis,
- precisión y cadencia del barrido de las señales de cada analizador,
- curvas de calibración de todos los analizadores,
- procedimientos para el primer procesamiento de la información (control de calidad de los datos, tipo de promedio, almacenamiento redundante, presentación numérica de las medidas instantáneas, presentación gráfica de los promedios horarios previos del día, etc.).

De acuerdo con el diseño del campo y la longitud de las líneas de teflon, se ha fijado un tiempo de muestreo para cada cámara de 5 minutos, formado por $T_{off} = 2$ minutos y $T_{on} = 3$ minutos. Con estos tiempos se ga-

rantiza una renovación completa del aire que llega a los analizadores tras un cambio de cámara, evitando así problemas de solape en la lectura y asignación de datos. En la versión actual del programa, los cambios de cámara se efectúan coincidiendo con el momento en que se alcanzan valores múltiples de 5 minutos en el reloj del ordenador. En ese momento, se realiza un promedio de los datos de calidad de aire obtenidos durante T_{on} , y se almacenan junto con la identificación de la cámara seleccionada. A continuación, se activa la electroválvula asignada a la cámara siguiente en el ciclo, que debe corresponder a un tratamiento de aire distinto. Al final de cada hora en punto, se realizan promedios de concentración de los contaminantes medidos de cada tipo de tratamiento, se almacenan y presentan gráficamente en pantalla. En la figura 6 se sintetiza el funcionamiento del programa en un diagrama de flujo. En la figura 7 se muestra un ejemplo de la información que aparece en la pantalla de cada ordenador en tiempo real.

Los datos correspondientes a los distintos sensores de temperatura y humedad y PAR son almacenados en un sistema de adquisición de datos autónomo y procesados en el laboratorio.

RENDIMIENTO Y PROBLEMATICA DE LOS SISTEMAS

Después de ocho años de funcionamiento de este campo, la experiencia acumulada en su diseño e instalación y en el trabajo diario han permitido obtener suficiente información como para evaluar la eficiencia de los sistemas y detallar los aspectos del mantenimiento más importantes para su correcto funcionamiento.

Existen varios puntos críticos en este tipo de instalaciones que deben ser revisados con frecuencia. Los más conflictivos son, sin duda, los relacionados con la fumigación con ozono de las OTC. Se ha comprobado que incluso un material teóricamente inerte, como el teflon, puede quedar completamen-

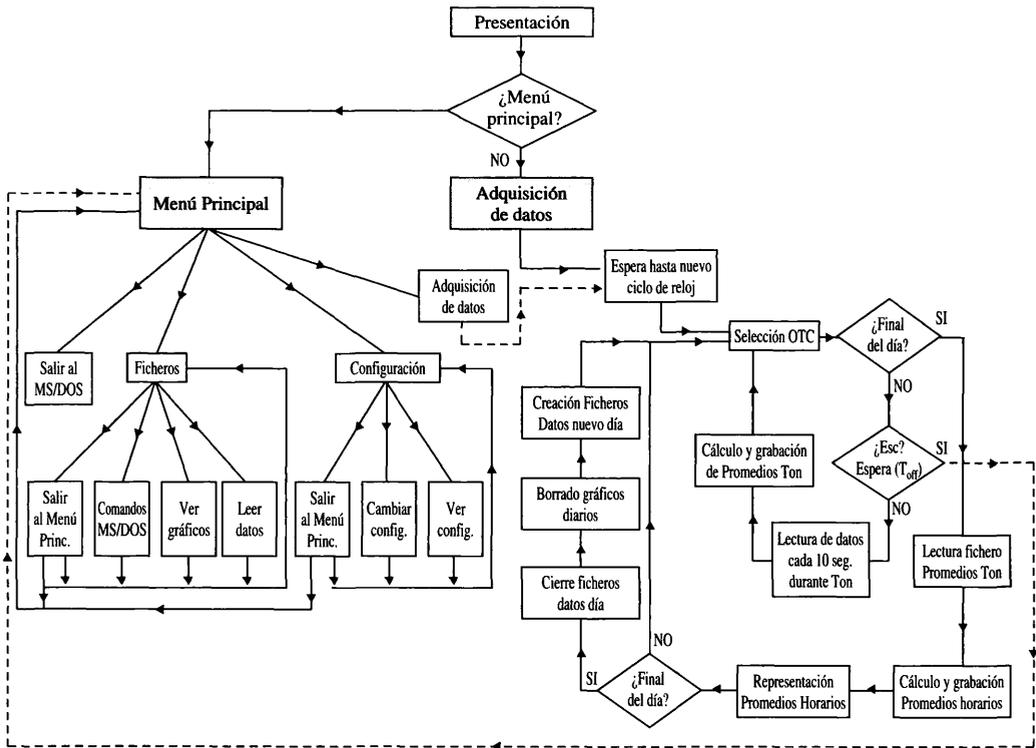


Fig. 6.—Diagrama de flujo del programa de control y gestión del campo experimental.

te pulverizado tras exponerlo a las elevadas concentraciones de ozono que se producen en el interior del generador. Esto significa que otros materiales menos resistentes y que están presentes en este circuito de fumigación (juntas tóricas, etc.) deben ser reemplazados con gran frecuencia (2 ó 3 meses). El descuido de esta tarea provoca fallos en cadena. En primer lugar, la corriente de ozono producida arrastra las partículas resultantes de la erosión de estos materiales presentes en el propio generador, lo que hace que se colmaten los filtros que protegen los controladores de flujo de máscico. La siguiente etapa es la alteración del funcionamiento de estos últimos, que pueden intentar compensar una reducción ficticia de flujo de ozono, debida a la obstrucción de algún conducto de control, llegando a crearse concentraciones muy elevadas en las cámaras fumigadas,

pudiendo producir la pérdida irreversible de las plantas que albergan. Por otro lado, el deterioro de algunas partes constituyentes del generador puede acarrear fugas de ozono en la sala de control (donde está el generador), pudiendo inducir daños en las personas y aparatos presentes en la sala.

Es importante señalar también que la realización de las calibraciones correspondientes al sistema de fumigación en determinadas condiciones meteorológicas pueden producir errores importantes. En efecto, aquellos fenómenos meteorológicos (viento, lluvia, etc.) que puedan perturbar el flujo normal de entrada-salida de aire en las cámaras deben ser evitados a la hora de calibrar. En esas condiciones, se puede alterar significativamente el caudal de salida de aire por la abertura superior de las cámaras, modificando las concentraciones de gases creadas en su interior.

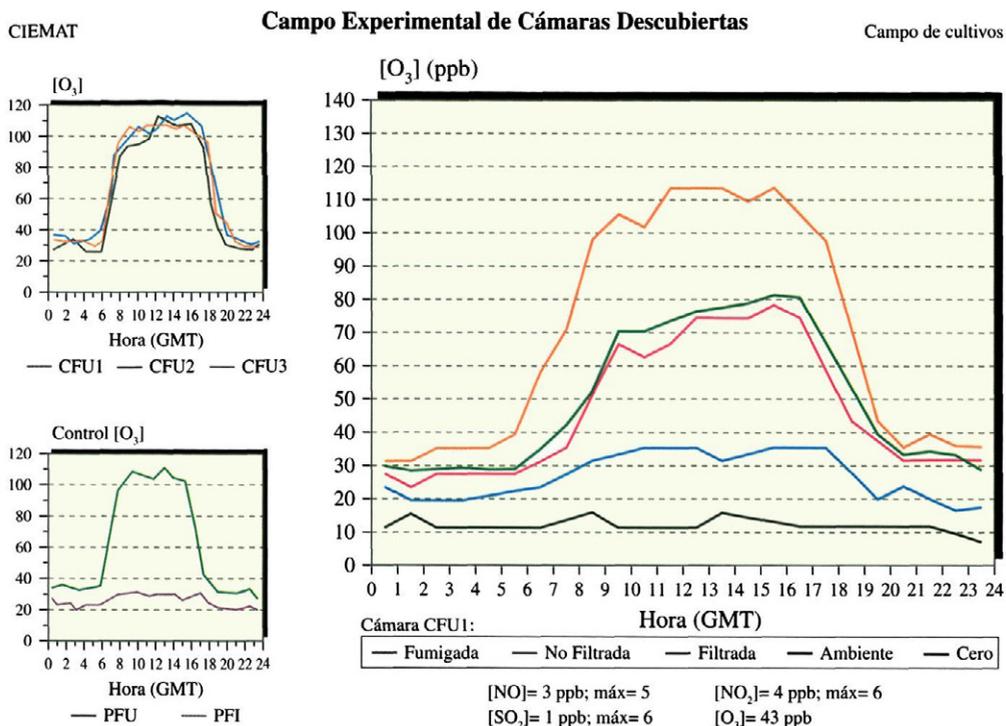


Fig. 7.—Información que el programa muestra en la pantalla del PC en tiempo real.

El siguiente punto delicado es el subsistema de análisis. La entrada de los tubos de muestra debe protegerse con filtros para evitar la introducción de insectos u objetos que obstruyan el paso de aire y modifiquen su composición. Es de gran importancia evitar en lo posible condensaciones en las líneas de muestra mediante su aislamiento térmico o manteniéndolas lejos de puntos fríos. Se recomienda limpiar las impurezas acumuladas en estas líneas inyectando nitrógeno a una presión no inferior a 5 bares. En cuanto a los analizadores, debe seguirse rigurosamente las rutinas de calibración recomendadas por el fabricante, reemplazando con la frecuencia necesaria los filtros de teflon antipartículas. Éstos filtros pueden alterar durante las primeras horas de uso la concentración de ozono de la muestra, midiéndose concentraciones menores de las reales. Este

efecto puede neutralizarse con un acondicionamiento previo de los filtros en una atmósfera rica en ozono.

Con respecto al rendimiento de las OTC, conviene señalar que la influencia que ejercen no es despreciable y que el efecto inducido sobre el desarrollo de las plantas es claro. Puede decirse que, en general, las cámaras suponen un elemento protector frente a las inclemencias atmosféricas, siendo destacable, en este caso, la protección que las OTC ofrecen a las plantas que albergan frente al viento, casi permanente, típico de la comarca. El aumento de temperatura inducido por las OTC en su interior lleva también asociada una disminución de la humedad relativa, siendo mayor la diferencia en las horas centrales del día durante los meses cálidos, en los que se llegan a registrar diferencias de 5 °C en la temperatura y

del 5% en la humedad relativa entre el interior de las OTC y el exterior. En la figura 8 se ilustran estos efectos. Por otro lado, la radiación (PAR) disponible en las OTC es, en general, sensiblemente inferior a la disponible en el exterior, aunque este parámetro depende del estado del material plástico que constituyen las paredes de las OTC, puesto que su envejecimiento se traduce en un aumento de la opacidad. La figura 9 muestra la evolución de la transmitancia espectral de los plásticos en distintas fases de uso. Puede observarse una progresiva degradación de sus características originales, que implican la desaparición de su opacidad inicial en el rango ultravioleta y la pérdida de transparencia en el rango visible. Esta razón, sumada al deterioro mecánico de los plásticos, hace necesaria la renovación periódica de estos materiales.

AGRADECIMIENTOS

Los autores quieren expresar su gratitud a cuantos nos han apoyado durante las tareas de definición, instalación y mantenimiento del campo. Al CIEMAT, al Instituto de Salud Carlos III, a la CEE y a MIGJORN S.A. por su apoyo económico. Al Dr. Richard Reinert por su apoyo científico a lo largo de estos años. Al Dr. José María Salleras por el aval continuo que ha representado y por el interés de las discusiones mantenidas. A Victoria Bermejo, Rosa Inclán, Rocio Alonso y Susana Elvira del Grupo de efectos de la contaminación atmosférica sobre especies vegetales del CIEMAT, por sus comentarios al manuscrito. Por último, manifestamos nuestro reconocimiento a D. Modesto Mendoza por su espléndido trabajo y su dedicación como capataz del campo experimental.

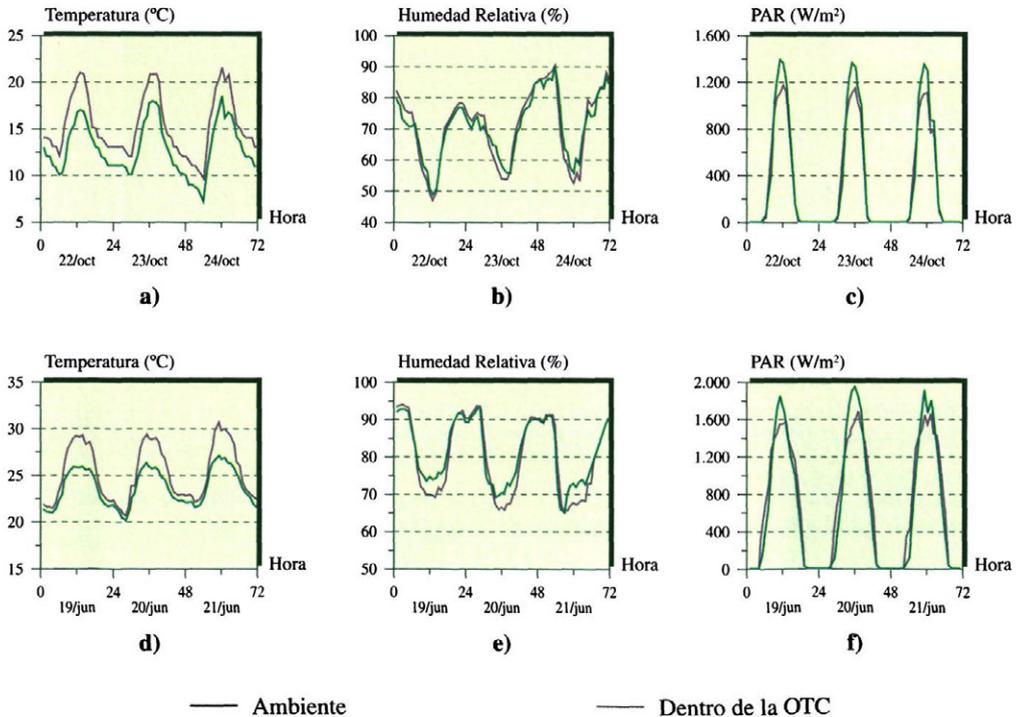


Fig. 8.—Efecto de las OTC sobre algunos parámetros ambientales y su variación según la estación del año. (Figs. a, b y c; otoño/93; figuras d, e y f; verano/94)

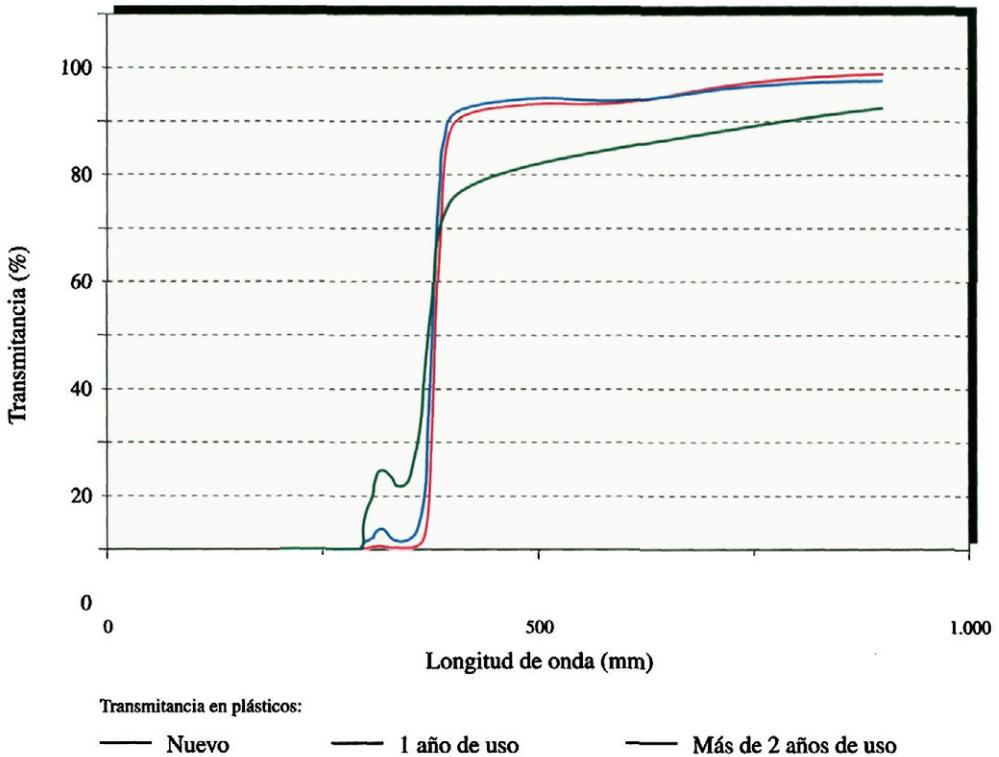


Fig. 9.-Evolución temporal de la transmitancia de las paredes plásticas de las OTC.

ABSTRACT

PUJADAS, M.; TERES, J. y GIMENO, B. S., 1997: La experiencia española en el diseño de sistemas experimentales para el estudio de efectos producidos por contaminantes gaseosos sobre especies vegetales. *Bol. San. Veg. Plagas*, 23(1): 39-55.

In 1988, CIEMAT started the first experimental studies carried out in Spain related to effects induced by photochemical oxidants on crops. Since then, CIEMAT has maintained an experimental field of Open Top Chambers (OTC) in an agricultural farm located at the Ebro Delta on the Mediterranean coast.

Different research projects have been undertaken at this station, whose results have improved our knowledge about the effects that tropospheric ozone produces on some types of agricultural and forestry in Spain.

In this paper, all the aspects of this station that allow standardization of its scientific results at an international level are presented. With respect to this, the technical design of the field, its infrastructure and its more basic elements are described in some detail.

Key words: Open top chamber, fumigation chamber, ozone, plants effects.

REFERENCIAS

- BENTON, *et al.*, 1995: Final Report (ICP-CROPS). CEC Air Pollution Research Report 48. The European OTC Project: Assessment of Air Pollutants on Agricultural Crops.
- CHAPPELKA, A. H. y CHEVONE, B. I., 1992: Tree Responses to Ozone. *Surface level O₃ exposures and their effects on vegetation*. Lewis publishers, Inc.: 271-324.
- GIMENO, B. S.; SALLERAS, J. M.; PORCUNA, J. L.; REINERT, R.; VELISSARIOU, D. y DAVISON, A. W., 1993a: Effects of Air Pollution on Agricultural Crops in Europe. Proceedings of the final Symposium of the European Open-Top Chambers project. Jager H.J., Unsworth M., De Temmerman L., Mathy P. Eds. CEC Air Pollution Research Report, 46: 511 -514.
- GIMENO, B. S.; BERMEJO, V.; SALLERAS, J. M.; TARRUEL, A. y REINERT, R., 1993b: Effects of Air Pollution on Agricultural Crops in Europe. Proceedings of the final Symposium of the European Open-Top Chambers project. Jager H.J., Unsworth M., De Temmerman L., Mathy P. Eds. CEC Air Pollution Research Report, 46: 515-518.
- GIMENO, B. S., VELISSARIOU, D.; SCHENONE, G. y GUARDANS, R.: Critical Level for Ozone. AUN-ECE workshop report. Fuhrer J., Achermann B. Eds. FAC Liebefeld: 122-136.
- HAGRETT, W. E.; OLSZYK, D. M.; ORMROD, D. P.; TAYLOR, G. E. Jr. y TIUPEY, D. T., 1987: Air pollution exposure systems and experimental protocols. (Vol. 2: description of facilities) USEPA. Pub. 600/3-87/0376.
- HEAGLE, A. S.; PHILBECK, R. B.; ROGERS, H. H. y LETCHWORTH, M. B., 1979: Dispensing and monitoring ozone in open-top chambers for plant-effects studies. *Phytopathology*, **69**(1): 15-20
- HECK, TAYLOR, TINGEY, 1987: *Assesment of Crop Loss from Air Pollutants*. Eds. Elsevier Applied, London-New York.
- MARSHALL, T. C.; MCCARTHY, M. P. y RUST, W. D., 1995: Electric field magnitudes and lightning initiation in thunderstorms. *Journal of Geophysical Research*, Vol 100, N.º D4, Pages 7.097-7.103, April 20.
- MIDDLETON, J. T.; KENDRICK, J. B. y SCHWALM, J. W., 1950: Injury to herbaceous plants by smog or air pollution. *Plant Disease Reporter*, **34**: 245-252.
- OLSZYK, D. M.; DAWSON, P. J.; MORRISON, C. L. y TAKEMOTO, B. K., 1990: Plant response to nonfiltered air vs. added ozone generated from dry air or oxygen. *J. Air Waste Manag. Assoc.*, **40**, 1, 77.
- PEÑUELAS, J.; FILELLA, I.; ELVIRA, S. e INCLAN, R., 1995: Reflectance assessment of summer ozone fumigated mediterranean white pine eddlings. *Environmental and Esperimental Botany*, **35**(3): 299-307.
- RUNECKLES, V. C. y CHEVONE, B. I., 1992: *Crop Responses to Ozone. Surface level O₃ exposures and their effects on vegetation*. Lewis publishers, Inc.: 189-270.
- SALLERAS, J. M., 1987: Fitotoxicidad de ozono en plantaciones de sandía del Delta del Ebro. XIII Jornadas de productos fitosanitarios. Fruticultura profesional nº 12 - Noviembre/diciembre

(Aceptado para su publicación: 9 julio 1996).