

2. METODOLOGÍA: LA INSTALACIÓN DE CÁMARAS ABIERTAS. DISEÑO EXPERIMENTAL

2.1. INTRODUCCIÓN

El estudio de los efectos de contaminantes atmosféricos sobre la vegetación incluye aspectos de la ecofisiología de las plantas que no son específicos de ese tipo de estrés, por lo que es muy útil el empleo de condiciones de fumigación controlada que ayuden a interpretar los efectos encontrados en condiciones naturales. Para ese tipo de aproximación existe una amplia gama de posibilidades, que va desde estudios de laboratorio, cámaras de ambiente controlado, invernaderos, cámaras abiertas, hasta estudios en condiciones naturales. Aunque en ese gradiente de metodologías aumenta la aproximación a condiciones realistas, disminuye el grado de reproducibilidad y de cuantificación de la respuesta a la exposición (Arndt y Seufert, 1990). En los últimos años se han llevado a cabo experimentos sobre la respuesta de comunidades naturales en instalaciones a cielo abierto (tipo ZAPS, *Zonal Air Pollution System*, o FACE, *Free-air CO₂ Enrichment*) con unos costes económicos, sin embargo, muy elevados.

Uno de los dispositivos que conjuga la exposición a una climatología razonablemente aproximada a la natural y una buena repetitividad de los tratamientos experimentales con la garantía de una homogeneidad de condiciones de experimentación es el sistema de cámaras abiertas (*Open-Top Chambers*, OTCs). Este sistema, puesto a punto en el marco de la Red Nacional de Valoración de Pérdidas de Cosechas de los Estados Unidos (NCLAN, Heagle *et al.*, 1973), se utiliza ampliamente desde hace más de 15 años en programas de investigación europeos y norteamericanos sobre contaminantes atmosféricos para cultivos herbáceos y especies forestales. Aun siendo conscientes de sus limitaciones respecto a la extrapolación de resultados a condiciones naturales (Krupa, 1990; Sanders *et al.*, 1991), existe un acuerdo generalizado respecto a la adecuación de su uso en este tipo de estudios (Jäger *et al.* 1992; CEC, 1993).

Entre 1994 y 1995 se diseñó y construyó una instalación de OTCs en las proximidades de Andorra (Teruel), financiada por la Oficina para la Coordinación de la Investigación y Desarrollo Electrotécnico (OCIDE) y por ENDESA, formando parte del Programa de Investigación Electrotécnica P.I.E. 131.103 "Determinación e implicaciones de la metodología de cargas críticas de contaminantes". La instalación es el resultado de nuestra colaboración con técnicos de ENDESA, especialmente de la

Central Térmica "Teruel", y con las empresas DEINSA (instrumentación y software del sistema de fumigación y medida de contaminantes), CUBIERTAS MZOV (cámaras OTCs y obra civil en general), HANDTE IBÉRICA (equipos de ventilación y filtración), PENTA-MSI (sensores climáticos), ABELLÓ-LINDE (estación de gases), BEYG riegos (riego por goteo) donde nuestra misión fue la de diseñar, realizar la gestión de compra, supervisar y coordinar los trabajos de la mayor parte de los elementos y del conjunto de la instalación. En ese sentido, fue inestimable la ayuda de Lluís Prieto (CREAF). Quiero agradecer también al Dr B. Sánchez (CIEMAT), al Dr C. Mouches (Université des Pays de L'Adour) y especialmente al Dr H.J. Weigel (Institut für Produktions und Ökotoxikologie) las explicaciones técnicas durante nuestra visita a sus instalaciones de OTCs en el Delta del Ebro, Pau (Francia) y Braunschweig (Alemania), respectivamente. El Dr. B. Sánchez nos proporcionó además planos de construcción de las OTCs y contenedores tipo *American Container*.

El objetivo de la instalación que se describe a continuación es proporcionar un área experimental de OTCs dotadas de un sistema de dosificación controlada y automatizada de SO₂ y O₃ por separado y en mezcla, posibilitando el estudio de la interacción de esos u otros contaminantes sobre la ecofisiología de especies vegetales.

2.2. Descripción de la instalación

La instalación de OTCs, de 57x70 m de extensión, está situada a unos 8 Km de Andorra (Teruel; coordenadas 0° 30'50'' N, 40° 59'56'' W), en un área de restauración paisajística de minas de carbón a cielo abierto (ver fotografía 2.1). La instalación, situada a 700 m de altitud, dispone de:

- Cámaras de fumigación OTCs y equipos de ventilación y filtración
- Sistema de dosificación de SO₂ y O₃
- Sistema de muestreo y análisis de contaminantes del aire
- Sistema de control de dosificación y muestreo
- Sistema de medida de datos climáticos
- Sistema de riego por goteo
- Instalaciones auxiliares



Fotografía 2.1. Vista general de la instalación de cámaras OTC. El sistema incluye 15 cámaras abiertas sujetas a diversos tratamientos (AF, AF+SO₂, AF+O₃, AF+SO₂+O₃, ANF) y tres parcelas de aire ambiente.



Fotografía 2.2. Cámara abierta. El sistema de ventilación y filtración pueden apreciarse en su parte posterior.

Cámaras de fumigación OTCs y equipos de ventilación y filtración

El tipo de OTC utilizado es el diseño cilíndrico de Heagle *et al.* (1973) al que posteriormente se añadió un cono truncado en la parte superior (Hogsett *et al.*, 1985b) para evitar la excesiva incursión de aire ambiente en las cámaras.

Las cámaras, de 3m de diámetro y 2.9 m de altura incluyendo el cono truncado, tienen una estructura metálica de aluminio anodizado sobre la que se tensan dos láminas de PVC transparente: una lámina superior simple y una lámina inferior doble, con su parte interior agujereada con 300 orificios de 2.5 cm repartidos uniformemente. El plástico exterior se abre a un conducto que comunica con un equipo de ventilación y filtración (fotografía 2.2).

La cámara está sustentada sobre un anillo de hormigón con 8 tacos de 20x20cm a los que se ancla mediante pernos. Sobre esta base, se ha construido un anillo de ladrillo perforado de 150 mm de altura, relleno del círculo interior con grava de árido rodado para facilitar el drenaje de agua de las plantas.

El ventilador está construido en chapa de acero galvanizado. Es de tipo centrífugo con 2 CV de potencia y un caudal de unos 2400 m³/h, desarrollando una diferencia de presión total de 60 mm c.d.a. La unidad de ventilación está provista de un batería de filtros. Tras atravesar una compuerta de regulación manual y una malla metálica de retención de objetos gruesos, el aire pasa por diversos filtros de partículas y, finalmente, atraviesa un filtro de carbón activado. Periódicamente se mide el consumo eléctrico de los ventiladores, con objeto de detectar el posible ensuciamiento de los filtros de partículas.

El aire ambiente, una vez filtrado, arrastra en su caso el gas contaminante aportado mediante líneas de teflón al conducto de entrada de la cámara, inflando el plástico inferior y repartiéndose uniformemente en el interior de ésta. Siguiendo un flujo vertical, el aire se expulsa por la abertura superior de la cámara.

Se han construido también cámaras sin equipos de filtración ("aire no filtrado", ANF) y bases no cubiertas por cámaras ("parcelas de aire ambiente", AA) con el objeto de poder valorar el efecto de la propia cámara sobre las plantas.

Adecuándonos al diseño experimental que se detalla más adelante, se dispone de:

- 3 cámaras con AF
- 3 cámaras con aire filtrado (AF) con suministro de SO₂
- 3 cámaras con AF con suministro de O₃

- 3 cámaras con aire filtrado (AF) con suministro de SO₂ y de O₃
- 3 cámaras con aire no filtrado (ANF)
- 3 parcelas de aire ambiente (AA)

Sistema de dosificación de gases

Como se ha comentado anteriormente, se dispone de 9 cámaras con suministro de gases y 18 puntos de muestreo de aire a monitorizar. El sistema de dosificación consta de todos los elementos (botellas de suministro, líneas, manorreductores...) que permiten la dosificación controlada y automatizada de los gases hasta las cámaras. El diagrama de flujo de instrumentación se presenta en la figura 2.1.

Fuente de gases

Para el suministro de dióxido de azufre se parte de botella de SO₂ al 1% en N₂ y presión de 100 a 150 bar. Para conseguir una mayor autonomía del sistema se ha instalado una central Gloor de cambio automatizado con 2 botellas. Completan el sistema manorreductores de alta y de baja presión. Para el suministro de O₃ se parte de dos botellas de O₂ puro (botella de tipo 4.5) también con cambio automatizado y manorreductores de alta y baja presión. Se utiliza O₂ puro en lugar de aire ambiente para la producción de ozono mediante un generador Fischer OZ503 a fin de evitar la contaminación con compuestos de nitrógeno.

A partir de las fuentes de SO₂ y O₃ se ha instalado una conducción de teflón de 1/4" hasta 2 distribuidores de teflón de 1 entrada y 6 salidas que llegan hasta 12 controladores máxicos de caudal.

Controladores Máxicos de Caudal (MFCs)

Estos elementos son clave para la correcta dosificación de contaminantes, ya que su función es mantener el caudal de gas constante en función del valor comandado por el equipo de control. Existe también una línea para la evacuación del ozono producido en exceso que no se conduce a las cámaras. Antes de llegar a la atmósfera, se hace pasar por un catalizador OZM-120 que convierte el O₃ en O₂.

Aire comprimido

Los caudales de gases contaminantes a dosificar son relativamente pequeños (hasta 500 sccm), por lo que el sistema se ha dotado de aire comprimido que sirve de transporte hasta las cámaras, al tiempo que realiza una primera dilución del gas y minimiza el tiempo de respuesta del sistema. El aire utilizado está libre de humedad, contaminantes y aceites. Para ello se ha instalado un compresor Atlas Copco LE-7NC, un secador de aire Atlas Copco Compac-Air 1 y un filtro de carbón activado.

Colectores de salida y conducciones a las cámaras

Los colectores de salida a las cámaras están realizados en teflón y tienen hasta 4 racores de entrada y uno de salida. En ellos se produce la mezcla de el/los gases contaminantes procedentes de los MFCs y el aire de impulsión procedente del compresor, regulado por rotámetros individuales. De la salida de esos colectores parte un tubo de teflón de 1/4" sin empalmes que llega hasta la cámara correspondiente enterrado en zanja y protegido por un tubo de PVC corrugado.

Sistema de muestreo de aire

Además de mantener una atmósfera controlada en las cámaras donde dosificamos contaminante, es tarea fundamental del sistema realizar una medida de las concentraciones de los contaminantes alcanzadas en los 18 puntos de muestreo (15 cámaras y 3 parcelas ambiente). Esos valores son registrados por el sistema informático, permitiendo un análisis de los valores reales a los que se ha sometido a las plantas. Los gases a analizar son SO₂, O₃ y NO_x. El diagrama de flujo de instrumentación se presenta también en la figura 2.1.

Toma de muestra y conducciones

La toma de muestra se realiza por aspiración del aire de las cámaras con un tubo de teflón de 1/4". Se introduce en el centro de la cámara a través de un tubo metálico galvanizado situado verticalmente en forma de bastón. El tubo permite la regulación de la altura de la toma de muestra al nivel del dosel de las plantas.

Los 18 tubos procedentes de las cámaras van enterrados en zanja, llegando a través de un sistema de arquetas hasta un armario de instrumentación donde se encuentran dos conjuntos de 9 válvulas de tres vías cada uno.

Sistema de Multiplexado de muestra y Bombas

La misión de esta parte del sistema es enviar la muestra procedente de cada una de las cámaras hasta los analizadores, garantizando una circulación continua de aire por

las conducciones de las 9 cámaras para disminuir las posibles condensaciones de gases en los conductos y el tiempo de respuesta del sistema.

Como el número de puntos de muestreo es elevado, cada grupo de 9 cámaras es analizado por un conjunto de analizadores de SO₂, O₃ y NO_x. Las muestras de cada grupo son multiplexadas en el tiempo de manera secuencial y enviadas a su correspondiente grupo de analizadores. Cada punto de muestreo se analiza durante 6 minutos, de los cuales sólo se promedian los 2 últimos minutos. Los 6 minutos restantes de cada hora se emplean en muestrear aire ambiente que pasa por un filtro de carbón activado ó aire ambiente del compartimento de instrumentación destinado a fumigaciones, a fin de controlar posibles fugas del sistema. Las válvulas de 3 vías son las encargadas de distribuir el aire de muestra, bien a análisis mediante una microbomba de vacío, bien a evacuación a la atmósfera libre.

Analizadores de gases

Como se ha señalado, se dispone de dos grupos de analizadores de gases. Cada grupo está formado por un analizador de SO₂ TECO 43A, un analizador de Ozono Dasibi 1008-RS y un analizador de NO_x Dasibi 2108. Estos equipos disponen de una salida en tensión proporcional a la concentración de medida. Las ocho señales en tensión van hasta un ordenador de control que, mediante una tarjeta A/D, lee y registra el valor de la medida.

Sistema de control de dosificación y muestreo

Todos los elementos que componen los sistemas de dosificación y de muestreo están controlados por los tres elementos que conforman el sistema de control: ordenador PC compatible, autómata programable (PLC) Siemens S5.95U y cuadro de control y mando (CCM).

El sistema controla los siguientes elementos: compresor de aire, bombas de aspiración y muestreo, electroválvulas de tres vías, MFCs, señales de medida de analizadores de gases y calibración de cero y span para analizadores de gases.

El PLC controla las señales Todo/Nada del proceso y está conectado al PC mediante un canal de comunicación RS232. El PC soporta la interfase con el usuario y su *software* soporta la funcionalidad de todo el sistema impartiendo las órdenes necesarias al autómata. Dispone de un Sistema Operativo Multitarea Windows NT así como de un *software* específicamente diseñado para este Proyecto por DEINSA. El CCM dispone de los elementos de actuación primarios y secundarios, así como de los

elementos de protección (térmicos y fusibles). Además, la instalación cuenta con un Sistema de Alimentación Ininterrumpida y un Estabilizador de Tensión.

Las modificaciones del diseño inicial elaborado por la autora, con objeto de mejorar la funcionalidad del sistema así como el Proyecto de Ingeniería, *software*, suministro y montaje de los materiales, con excepción de los analizadores de gases y del generador de ozono, han sido realizados por la firma especializada DEINSA.

Medida de parámetros climáticos

A lo largo de la experimentación se midieron en continuo la temperatura y humedad relativa del aire, la temperatura del subsuelo y la radiación fotosintéticamente activa (PAR) en 6 estaciones de medida instaladas en 5 cámaras de diferentes tratamientos y en una parcela ambiente, a fin de evaluar también el efecto que tiene la cámara en sí y conocer las condiciones que pueden afectar al crecimiento de las plantas.

Cada estación consta de: un sensor de temperatura y humedad relativa del aire Vaisala HPM35AC Campbell, un sensor de temperatura de subsuelo Campbell 107 y un sensor de PAR (Radiación Fotosintéticamente Activa) Skye SKP215.

Las señales de los sensores se almacenan en un data-logger Campbell CR10 con Multiplexor AM416 y cable RS232 a ordenador con software de la misma firma PC200 para adquisición de datos en tiempo real. Los datos son recogidos cada 30s, realizando promedios horarios y conservando los valores máximos y mínimos diarios de cada parámetro.

Se dispone además de un medidor del contenido volumétrico de agua en el suelo Imko-Trime FM con sonda de 160 mm de profundidad. La medida está basada en la técnica TDR (*Time-Domain-Reflectometry*), método indirecto de la humedad que utiliza el tiempo de tránsito de pulsos electromagnéticos para determinar la constante dieléctrica. En materiales porosos como el suelo dicha constante está relacionada, fundamentalmente, con el contenido de agua. El rango de medida del instrumento se halla entre 0 y 70 % en volumen. Como la densidad del suelo puede afectar a las medidas, se realizó una calibración previa para nuestro sustrato. El contenido volumétrico de agua (o humedad volumétrica) indica la relación entre el volumen de agua de una muestra y el volumen total de la muestra; está relacionado con la humedad gravimétrica a través de la proporción entre la densidad del material y la densidad del agua.

Sistema de riego por goteo

El cultivo de las plantas se realizó en macetas dentro de las cámaras. La irrigación se efectuó por medio de un sistema de riego por goteo que consta de dos motobombas, un filtro de arena, un filtro de anillas y un programador de tiempo de riego Nelson 8425 con su correspondiente electroválvula. Cada cámara y parcela ambiente se ha provisto de una tubería de polietileno en círculo con la posibilidad de riego de 50 macetas mediante goteros autocompensantes de 4 l/h, microtubo y lanceta. El volumen total de agua suministrada en cada episodio se controla mediante un contador de agua. Se comprobó en diversas ocasiones a lo largo de la experimentación que todas las plantas recibieran la misma cantidad de agua en cada episodio de riego.

Instalaciones auxiliares

Los equipos de instrumentación mencionados anteriormente están alojados en compartimentos de dos cabinas prefabricadas con aislamiento de poliestireno y aire acondicionado (fotografía 2.1):

- compartimento de monitorización: en esta sala se encuentra un armario con el cuadro eléctrico, así como 3 racks que contienen el autómata, el cuadro de control y mando, los analizadores de gases, el S.A.I. y el estabilizador de tensión.

- compartimento de dosificación, donde se encuentran dos racks que alojan: rotámetros de aire de impulsión, rotámetros de muestra, electroválvulas de tres vías y de corte, MFCs y su alimentación eléctrica, distribuidores y colectores de gases.

- compartimento de gases: en esta sala se encuentran las botellas de gases de consumo, el sistema de manorreducción y conmutación, las bombas de muestreo y el secador del aire comprimido.

Otros equipos, como las bombas de aspiración y el compresor, están alojados en cabinas prefabricadas sin aislamiento. Además, se dispuso un depósito de agua de 50.000 l de capacidad fabricado en hormigón armado y una caseta de transformación, donde se albergan dos transformadores de 20 y 50 kVA, parte de sistema de riego (motobombas, filtros, programador, electroválvulas y contador de agua) y los armarios eléctricos.

El cableado eléctrico y las tuberías de agua se conducen hasta las cámaras mediante una red de zanjas y arquetas. Independientemente de esa red, otro sistema de zanjas y arquetas distribuye los tubos de teflón a las cámaras y desde éstas a los compartimentos correspondientes.

2.3. Diseño experimental

La experimentación comenzó el 29/02/96 y fue desarrollada en dos fases: en la primera de ellas, entre marzo de 1996 y enero de 1997, solamente se suministró SO₂. Los tratamientos a los que se sometieron las plantas consistieron en:

- aire filtrado con carbón activado (tratamiento "AF"), con concentraciones de contaminantes por debajo de los niveles ambientales.

- aire filtrado al que se añade SO₂ hasta alcanzar una concentración nominal de 20 ppb (nl·l⁻¹) (tratamiento "SO₂"). Se parte de aire filtrado con objeto de reducir la concentración de contaminantes diferentes a los de interés en ese tratamiento.

En la segunda fase de la experimentación, entre enero y octubre de 1997, al diseño anterior se añadió ozono completando un diseño factorial con dos factores (SO₂ y O₃) y dos niveles para cada gas contaminante: concentraciones por debajo de los niveles del aire ambiente (aire filtrado, "AF"), y concentraciones por encima de ésta (20 ppb para el SO₂, 1.3 veces la concentración de O₃ en el aire ambiente durante 8 horas diurnas). Por tanto, se dispuso de cuatro tratamientos: AF, SO₂, O₃ y SO₂+O₃

Se han registrado niveles de O₃ similares a los escogidos en condiciones naturales en otros lugares de la Península Ibérica como el Delta del Ebro (Reinert et al., 1992; Gimeno *et al.*, 1995; Elvira, 1996). Además, era intención alcanzar a lo largo de la experimentación una AOT40 de 10 ppm·h, nivel crítico propuesto para la protección de los bosques europeos. En el caso de los niveles de SO₂ escogidos, aunque superiores, están en el entorno de los niveles críticos del contaminante para bosques europeos (para ambos contaminantes, ver más detalles en el apartado "Introducción" del capítulo 3).

Las concentraciones de gases se expresan frecuentemente en fracciones volumétricas como ppb (unidad en que las expresamos en este trabajo) o ppm (1 ppm=1000 ppb). Las concentraciones en volumen se pueden convertir a concentraciones en masa (como por ejemplo µg·m⁻³), de uso habitual en reglamentaciones legales. En esa conversión se han de tener en cuenta las condiciones de presión y temperatura según la formulación:

$$1 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3} = ((8.32 \times 10^{-2} T)/(M \times P)) \text{ ppb}$$

(T = temperatura en grados Kelvin; M = peso molecular; P = presión en bar).

También se contó a lo largo de la experimentación con cámaras con aire no filtrado (tratamiento "ANF") y parcelas sin cámara (tratamiento con aire ambiente, "AA") para la valoración del efecto cámara, aunque su estudio se centró fundamentalmente en 1996. El experimento se llevó a cabo con un diseño de bloques al

azar, con 3 réplicas por cada tratamiento (en total 15 cámaras y 3 AA). La distribución de las cámaras en los diversos tratamientos se muestra en la figura 2.2.

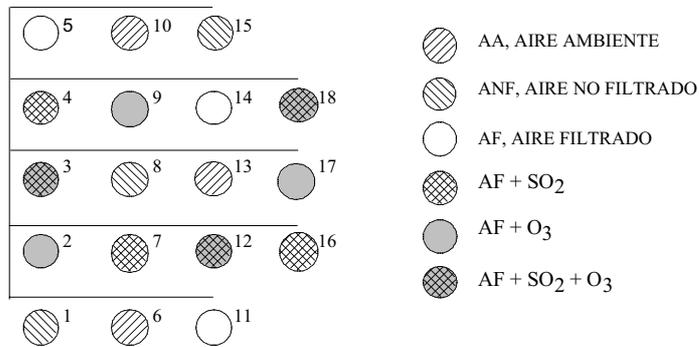


Figura 2.2. Distribución de las OTC por tratamientos.

2.4. Material vegetal y sustrato

En cada cámara se dispusieron 45 individuos de *Pinus halepensis* (por tanto 135 por tratamiento con un total de 810 pinos). Las plantas fueron adquiridas en un vivero de las proximidades en "forest-pot" de 200 cm³, donde habían germinado en otoño de 1993. Los pinos se transplantaron a bolsas de PVC de 2 l en Mayo de 1995 y finalmente a macetas de PVC de 15x15x33 cm. El sustrato empleado es una mezcla de turba+arena en proporción 2:1 V/V a la que se añadió 3 kg/m³ de abono de liberación lenta Osmocote Plus, siguiendo las indicaciones agronómicas de las casas comerciales del producto para proporcionar un buen nivel nutritivo a las plantas. Las propiedades fisicoquímicas del sustrato se muestran en la tabla 2.1. El análisis fue realizado por el laboratorio de suelos del CREAM. El sustrato se irrigó durante la experimentación mediante riego por goteo conforme a las necesidades de las plantas de manera que el agua no fue un factor limitante, a excepción de un subgrupo de individuos sometidos a estrés hídrico durante el verano (ver capítulo 7.2).

Con estos elementos se llevó a cabo por tanto una experimentación con un sustrato estandarizado que pudiera ser fácilmente repetible en posteriores experimentaciones y condiciones de partida no limitantes en cuanto a agua y nutrientes. Sobre este diseño se propondrían posteriores variaciones experimentales con objetivos diferentes a los del presente estudio.

Tabla 2.1. Características químicas y físicas del suelo empleado en el experimento.

pH	agua	7.66
	KCl	7.39
CO ₃ ²⁻ (%)		64.9
C _{org} (%)		3.6
Materia orgánica (%)		6.22
N _t (%)		0.09
P _{extraíble} (mg/kg)		12.37
Bases de cambio (meq/100g)	Na	0.81
	K	0.075
	Mg	2.58
	Ca	42.3
Capacidad de intercambio catiónico (meq/100 g)		4.33
Elementos gruesos (%)		24.3
Granulometría (%)	Arena gruesa	47.7
	Arena fina	37.8
	Limo fino	5.3
	Arcilla	9.3
Clase textural		Francoarenoso

2.5. Tratamiento estadístico general

Se consideró cada cámara como una unidad experimental, de manera que para cada variable y muestreo se partió de los valores promedio de cada cámara. Por tanto, en general el tamaño de muestra fue $n=3$. Cuando el objetivo fue determinar el efecto del SO_2 y del O_3 y su posible interacción, el tratamiento estadístico consistió en un análisis de la varianza de dos factores (SO_2 y O_3) con interacción. En el caso de observarse una interacción significativa entre ambos factores, se procedió a un análisis de la mínima diferencia significativa (LSD) calculada para el nivel del 5 %, con objeto de determinar las diferencias significativas entre los tratamientos. Cuando se compararon solamente el SO_2 con el AF o el AA con el ANF, durante el primer año de experimentación, se empleó el test de la t-Student. En los casos en que se estudió el comportamiento de las mismas unidades experimentales a lo largo del tiempo, se realizó un test ANOVA con medidas repetidas, con la finalidad de valorar posibles tendencias de variación. En los resultados de cada capítulo se señalan las diferencias significativas para $p<0.01$, $p<0.05$ y para $p<0.10$.

La normalidad de las distribuciones y la homogeneidad de las varianzas fueron comprobadas mediante el test de Kolmogorov-Smirnov y el de Levene, respectivamente. El tratamiento estadístico se realizó íntegramente mediante el programa estadístico SPSS para Windows. Las excepciones a este tratamiento estadístico se detallan en el apartado de “Material y métodos” de los capítulos correspondientes.

Previamente al inicio de la experimentación se realizó un muestreo sobre la población inicial, de 810 plantas, con la medida de concentración foliar de nutrientes y de pigmentos, fluorescencia, diámetro y altura de los individuos. No se observaron diferencias significativas en función de los tratamientos a los que fueron asignados posteriormente.