

Detección de potenciales eléctricos celulares del cultivo de *Phaseolus Vulgaris* L.

Detection of cellular electric potentials of *Phaseolus Vulgaris* L. culture

Ramírez-Bautista, Julián Andres¹, Chaparro-Cárdenas, Silvia L.², Gamboa-Contreras, Wilson³
Fundación Universitaria de San Gil, Unisangil
Facultad de Ciencias Naturales e Ingeniería
San Gil, Colombia

jramirez@unisangil.edu.co
schaparro@unisangil.edu.co
wgamboa@unisangil.edu.co

Fecha de recepción: 18 de octubre de 2022
Fecha de aceptación: 02 de diciembre de 2022

Resumen — Ante las tendencias de modernización de las prácticas agrícolas que reduzcan el impacto ambiental y disminuyan los costos de producción, se han venido implementado técnicas para administrar y tratar áreas de cultivo, ajustándose a los márgenes que se establecen por el cambio climático y la degradación que está mostrando el planeta. En el estudio se analiza la señal electrofisiológica de la planta de fríjol (*Phaseolus vulgaris* L.) en entorno de laboratorio, con base en que las plantas se enfrentan a múltiples factores de estrés en su entorno natural, el cual puede ser monitoreado a través de su actividad bioeléctrica, donde el potencial eléctrico local es una respuesta inducida por cambios en los factores ambientales, como el suelo, el agua, entre otros. De esta forma se muestra la respuesta eléctrica de las plantas de fríjol ante estrés hídrico adquirida con diferente tipo de electrodo y considerando dos momentos de monitoreo en el que existieron tiempos de irrigación normal y de sequía, encontrando un aumento en el potencial de acción cuando existe falta de agua, lo que permitió marcar consideraciones para en estudios futuros correlacionarlas y extraer patrones de comportamiento.

Palabras clave— Electrofisiología vegetal, potenciales eléctricos, potenciales de acción, potenciales de variación, mediciones eléctricas de plantas.

Abstract - In view of the modernization trends of agricultural practices that reduce environmental impact and lower production costs, techniques have been implemented to manage and treat crop areas, adjusting to the margins established by climate change and the degradation that the planet is showing. The study analyzes the electrophysiological signal of the bean plant (*Phaseolus vulgaris* L.) in a laboratory environment, based on the fact that plants face multiple stress factors in their natural environment, which can be monitored through their bioelectrical activity, where the local electrical potential is a response induced by changes in environmental factors, such as soil, water, among others. In this way, the electrical response of bean plants to water stress acquired with different types of electrodes and considering two monitoring moments in which there were times of normal irrigation and drought, finding an increase in the action potential when there is a lack of water, which allowed us to mark considerations for future studies to correlate them and extract behavioral patterns.

Keywords - Vegetal electrophysiology, electric potentials, action potentials, variation potentials, plant electrical measurements.

¹ Doctor en Tecnología Avanzada; Docente – Investigador Unisangil.

² Doctora en Tecnología Avanzada; Investigadora Unisangil.

³ Magister en Gestión de la Ciencia, la Tecnología y la Innovación; Director Departamento de Investigación, Unisangil.

I. INTRODUCCIÓN

Es indiscutible que la población mundial va en aumento y las necesidades de producción de alimentos se hacen cada vez más grandes, según datos de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, por sus siglas en inglés) [1]. Esta producción debe ser de bajo costo y ecológicamente sostenible para la preservación del ambiente. La necesidad de productos agrícolas crecerá un 15 por ciento en los próximos 10 años, y para el caso de América Latina, en un 25 por ciento para el 2028, por lo que se espera que la producción agrícola se incremente [1].

El fríjol (*Phaseolus vulgaris L.*) es la leguminosa más consumida a nivel mundial, con gran relevancia nutricional debido al contenido de proteína y vitaminas del complejo B, hierro, calcio, potasio, fósforo [2]. La producción mundial de fríjol en el 2017 alcanzó un máximo histórico de 31,4 millones de toneladas [3]. En Colombia para el 2019 se contaba con un total de 92.412 hectáreas de fríjol, y una producción de 114.408 toneladas, resaltando a los departamentos de Santander y Huila con la mayor cantidad de área sembrada del país [4]. Este cultivo permite garantizar alimentación saludable y nutritiva a las comunidades que la producen y comercializan debido a sus calidades nutritivas históricamente probadas y su eventual facilidad para su cultivo en las condiciones y formas adecuadas.

La tecnología muestra un constante crecimiento y evolución. Los avances en hardware y software poseen la capacidad de brindar innovación y crecimiento en el sector agrícola. La agricultura de precisión está redefiniendo paradigmas apoyándose de las tecnologías emergentes y convergentes para aumentar la producción de cultivos ante el incremento de la población mundial y el aumento en los niveles de consumo, pero buscando aprovechar los recursos naturales disponibles ajustándose a los márgenes que se establecen debido a la degradación que está mostrando el planeta.

Dentro de las posibilidades que brindan los desarrollos tecnológicos actuales, está la detección de la actividad bioeléctrica que expresan las plantas cuando se enfrentan a los múltiples estreses en su entorno natural, convirtiéndolas en bio-sensores, útiles para conocer los requerimientos de los cultivos [5]. Esta excitabilidad se puede dar por dos tipos de estrés: abiótico (iónico, osmótico, químico, por temperatura, así como escasez de nutrientes), que afecta en gran medida el crecimiento y la productividad de las plantas; o biótico (virus, bacterias, hongos o herbívoros) que afecta casi un tercio de los cultivos. Las lesiones pueden variar desde marcas visibles hasta un crecimiento y rendimiento reducidos, hasta la muerte prematura de la planta. Los potenciales de acción en las plantas son portadores de información intra e intercelular durante cambios en las condiciones ambientales. Medir este tipo de actividad eléctrica no es fácil, ya que se tiene que considerar el tipo y la ubicación del electrodo, los potenciales

de referencia, la metodología de medición y correlacionar esta actividad de la planta con los eventos externos [5]. El potencial eléctrico intercelular se puede medir de forma invasiva o no invasiva, en la primera forma y como su nombre lo indica, se debe perforar con un electrodo delgado el tejido de la planta, sin embargo, como se causa daño en el tejido vegetal se debe esperar que el contacto electrodo-planta se estabilice, como ventaja se tiene una conexión estable y duradera por varios días. La forma no invasiva se realiza mediante la unión de un electrodo a la superficie de la planta, este método no causa daño en la planta por lo cual es preferido, pero su desventaja es que el contacto electrodo-planta es estable solo durante varias horas [6] [7] [8]. A través de las membranas de las células de las plantas a nivel de tejido y planta completa, existen potenciales eléctricos, producidos por soluciones electrolíticas como Ca^{2+} , K^+ , H^+ , Na^+ , y Cl^- [9]. Estas señales eléctricas en las plantas pueden ser un potencial eléctrico local (LEP), potencial de variación (VP), también llamados ondas lentas, potencial de acción (AP), potencial de acción espontánea (SAPS), transitorios de voltaje (VT) o picos de voltaje (VS), y actividad eléctrica rítmica (REA). Todas estas actividades eléctricas deben implicar cambios en el potencial de membrana, donde estas respuestas pueden ser causadas por diferentes estímulos. Para el caso presentado LEP es una respuesta inducida por cambios en los factores ambientales, como el suelo, el agua, la fertilidad del terreno, temperatura del aire y humedad, entre otros [10] [11] [12].

De esta manera, es necesario comprender el comportamiento de las plantas midiendo su actividad eléctrica ante cambios en los estímulos ambientales externos, y extraer la información necesaria que indique patrones de respuesta. El presente estudio, muestra la adquisición y visualización de señales electrofisiológicas de plantas de fríjol en entornos de laboratorio, bajo condiciones de estrés hídrico utilizando combinación de electrodos del tipo invasivo y no invasivo, obteniendo variación de la actividad eléctrica ante cambios en los niveles de irrigación. Los resultados pretenden ser una base para futuros estudios relacionados con la correlación entre las variaciones ambientales y de suelo con las señales eléctricas de las plantas en tiempo real.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron 5 plantas de fríjol variedad Calima tipo enredadera, en condiciones fisiológicas similares. Para la adquisición de actividad eléctrica se utilizó el esquema mostrado en la Figura 1a, compuesto por sensores MyoWare los cuales son comúnmente empleados en electromiografía de superficie, fabricados por Advancer Technologies [13]; un microcontrolador de 8 bits para la comunicación con la computadora; electrodos $Ag/AgCl$ de electromiografía superficial y electrodos fabricados a partir de cable de audífono (Figura 2).

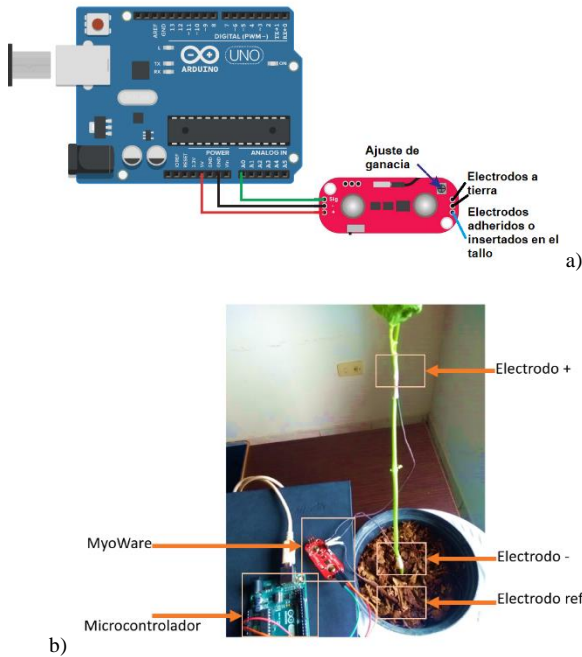


Fig. 1 Configuración utilizada para la adquisición de señales eléctricas de plantas. a) Esquema de montaje. b) Montaje utilizado en las pruebas experimentales

La información eléctrica de las plantas fue almacenada utilizando Realterm el cual es un terminal serial virtual y se graficó con ayuda de Excel, la figura 1b muestra el montaje utilizado en la experimentación.

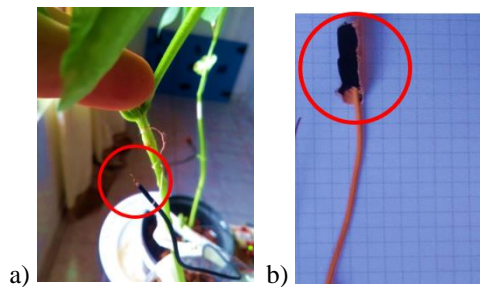


Fig. 2 Tipos de electrodo. a) Electrodo fabricado con cable de audífono. b) Electrodo de Ag/AgCl adaptado

Para conocer el comportamiento de la actividad eléctrica se realizaron dos etapas de experimentación, la primera empleó una ventana de tiempo de 9 días considerando días de irrigación normal y de sequía (Tabla 1). Y para comprobar el comportamiento se realizó una segunda prueba de 5 días teniendo en cuenta tiempos de irrigación y no irrigación, similares al primer experimento (Tabla 2). En ambas pruebas, se configuró el sensor Myoware en modo diferencial con una ganancia arbitraria determinada con base a la obtención de una lectura en voltios del potencial de acción generado por el espécimen. En relación al tipo de electrodo se analizó el comportamiento de electrodo adherido e insertado en medición extracelular.

TABLA 1. CONSIDERACIONES DEL EXPERIMENTO 1

Electrodo	Electrodo fabricado con cable (Adherido / Insertado) Adaptación de electrodo de Ag/AgCl (Adherido)
Estrés	3 días con agua, 5 sin agua, 1 día con agua
Adquisición de valores de actividad eléctrica	Cada segundo se toma una muestra, por 24 horas
Inicio/Fin	20:00 a 20:00

TABLA 2. CONSIDERACIONES DEL EXPERIMENTO 2

Electrodo	Adaptación de electrodo de Ag/AgCl (Adherido)
Estrés	3 días con agua, 2 sin agua
Adquisición de valores de actividad eléctrica	Cada segundo se toma una muestra, por 24 horas
Inicio/Fin	16:30 a 16:30

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A. Experimento con diferente electrodo

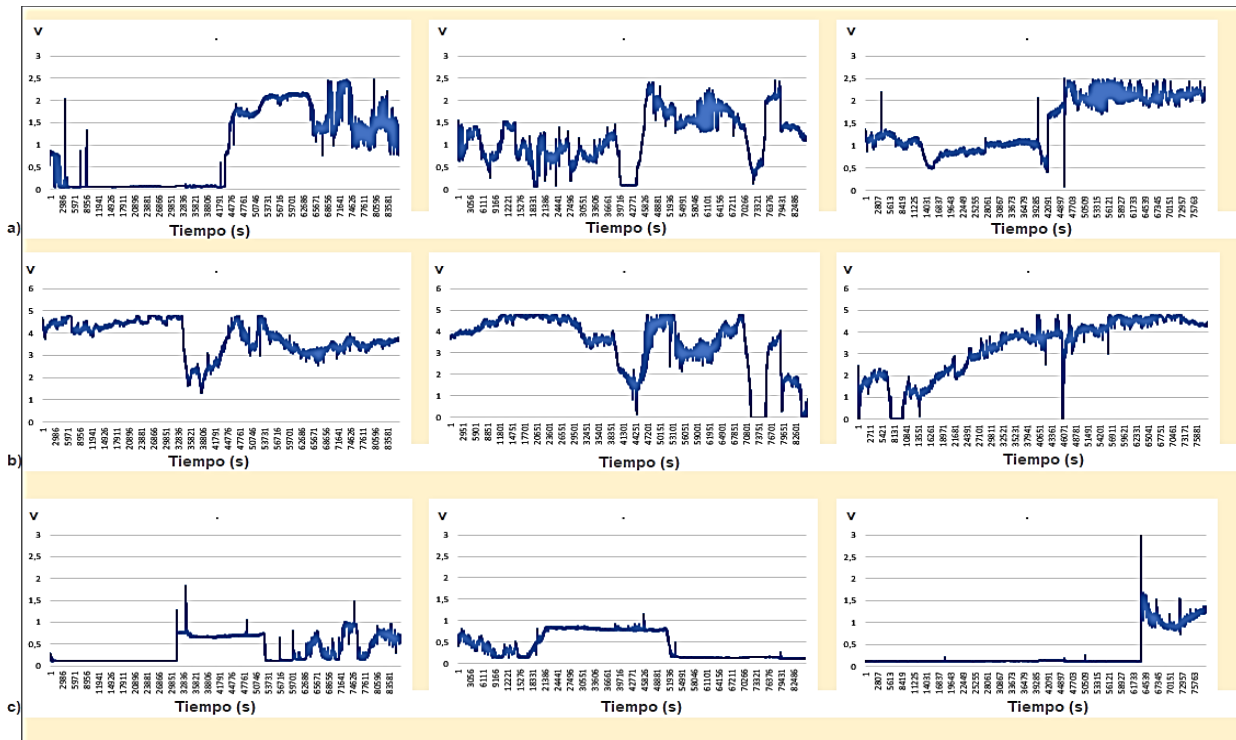
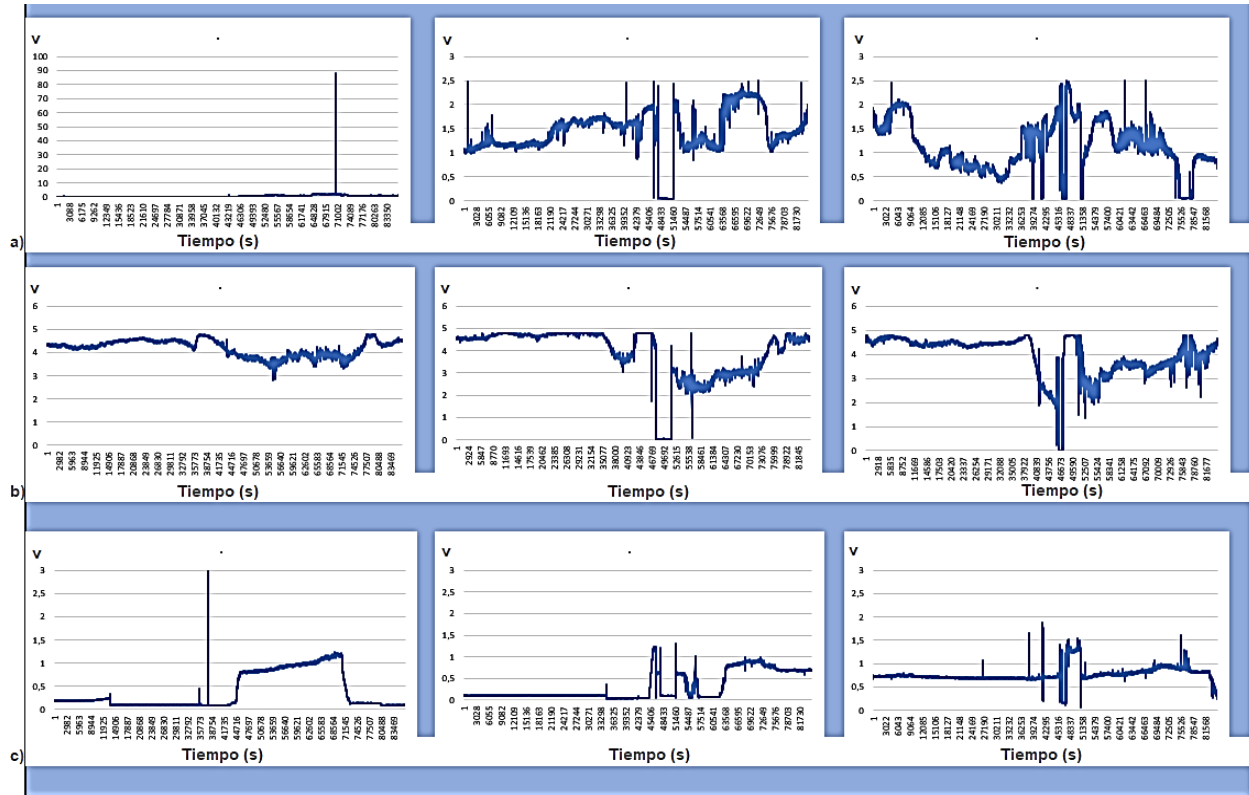
En el primer experimento se utilizó en un espécimen un electrodo fabricado con cable de audífono adherido al tallo, en otro espécimen un electrodo hecho con cable de audífono insertado en el tallo, y en el tercer espécimen un electrodo de Ag/AgCl adherido al tallo. Como se observa en la Figura 3.



Fig. 3 Montaje en plantas de fríjol.

Cabe aclarar que la cantidad de días y el número de datos por experimento se estimó considerando el comportamiento de los especímenes ante estrés hídrico.

Se adquirió un dato por segundo, teniendo un total de 86.400 muestras por día aproximadamente. La duración del experimento fue de 9 días, donde el último día no se tomaron los datos por 24 horas, sino por 12 horas, considerando que el potencial eléctrico ya había alcanzado la estabilidad esperada. Las figuras 4-6 muestran el comportamiento del potencial de acción de la planta ante estrés hídrico, las figuras con fondo azul indican día con irrigación y las figuras con fondo amarillo indican día sin irrigación.



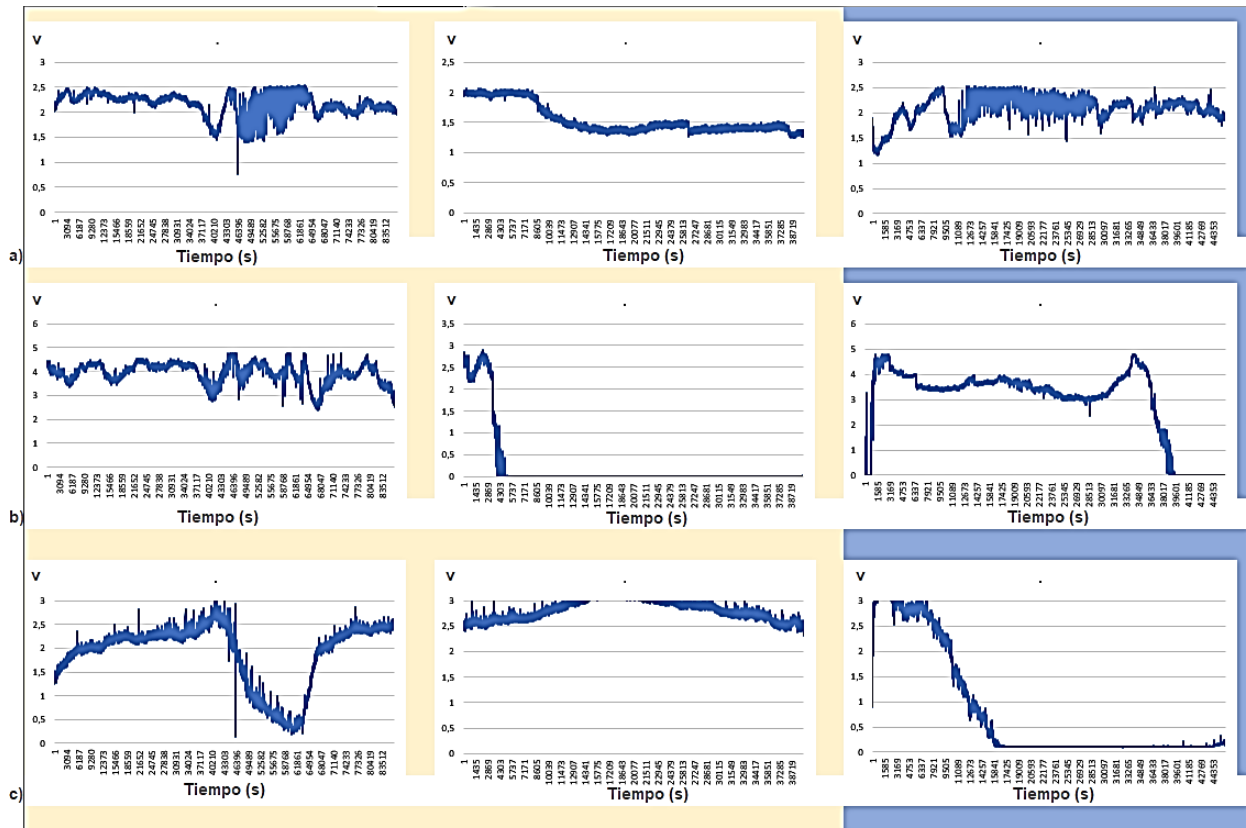


Fig. 6 Comportamiento sin irrigación y con irrigación, días 7 a 9. a) Electrodo fabricado adherido. b) Electrodo fabricado insertado. c) Electrodo de Ag/AgCl adherido.

Los electrodos fabricados con cable de audífono no proporcionaron una lectura clara del comportamiento, como se observa en la Figura 6a, ya que es muy susceptible al ruido externo entendido como mecánico o electromagnético, por ello solo se consideró el análisis del potencial de acción obtenido con el electrodo de $Ag/AgCl$. Considerando la línea de tiempo del experimento se observa que la señal eléctrica de la planta de fríjol en condiciones normales de irrigación se encuentra entre 0.1v a 0.9v, como se observa en la Figura 7.

De esta forma, se observa que 65.5 horas después de la última irrigación, aparece un aumento en la señal de voltaje (Figura 8).

Aproximadamente 100.16 horas después de la última irrigación se obtiene el pico máximo de señal de voltaje en 3.2V (Figura 9).

Y finalmente en el experimento, media hora después que se inicia un nuevo ciclo de muestra en el día 8, se irriga la planta. La irrigación se realizó aproximadamente a las 20:30 horas. Se puede observar que el nivel de señal eléctrica empieza a descender, hasta alcanzar el valor de reposo, aproximadamente 4 horas después (Figura 10).

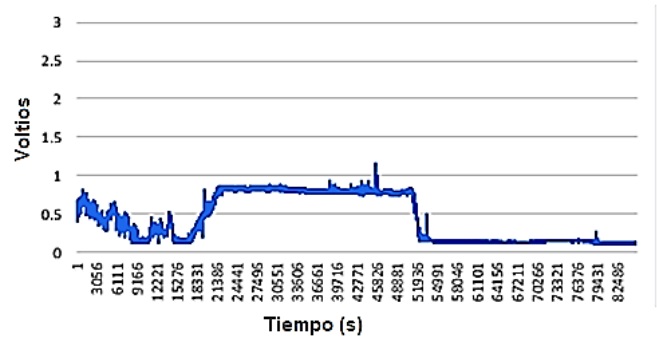


Fig. 7 Comportamiento de la señal eléctrica de la planta de fríjol con irrigación continua usando electrodo de $Ag/AgCl$

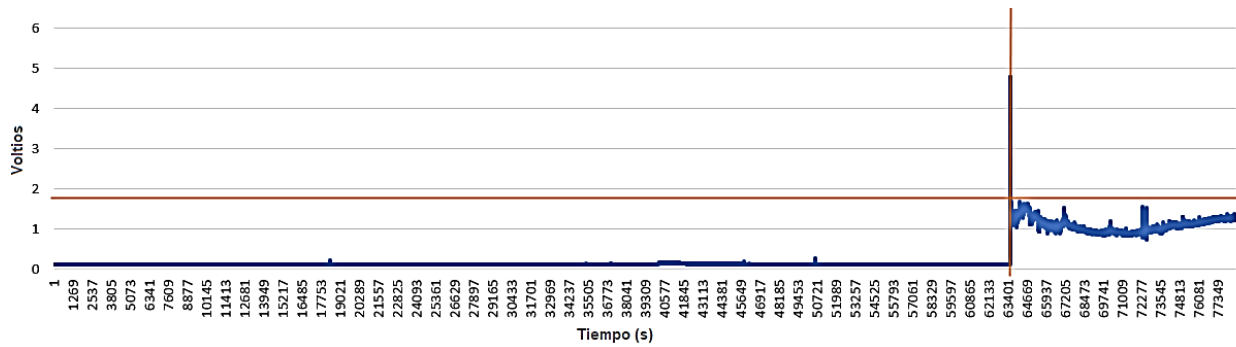


Fig. 8 Comportamiento de la señal eléctrica de la planta de fríjol ante estrés hídrico.

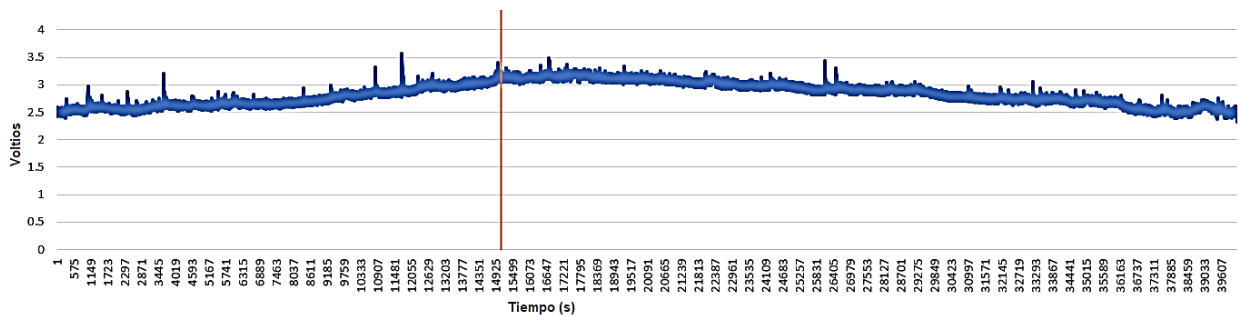


Fig. 9 Valor máximo de señal de voltaje ante estrés hídrico.

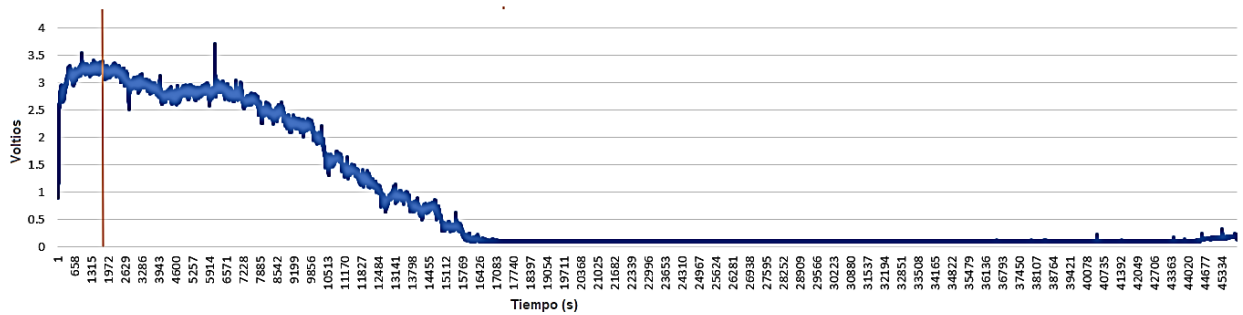


Fig. 10 Comportamiento de la actividad eléctrica de la planta del fríjol al iniciar nuevamente proceso de irrigación.

B. Experimento con electrodo de Ag/AgCl

Para confirmar las observaciones del experimento anterior, se realizó un segundo experimento con dos especímenes de la planta de estudio. El objetivo fue observar nuevamente el comportamiento del potencial eléctrico en condiciones de estrés hídrico.

En este experimento se utilizaron dos especímenes conectados de la misma manera con electrodos de *Ag/AgCl*, como se observa en la Figura 11. Donde fue posible observar un comportamiento eléctrico similar de las plantas, como se observa en las figuras 12 a la 14.



Fig. 11 Montaje utilizado en el segundo experimento utilizando electrodos *Ag/AgCl*.

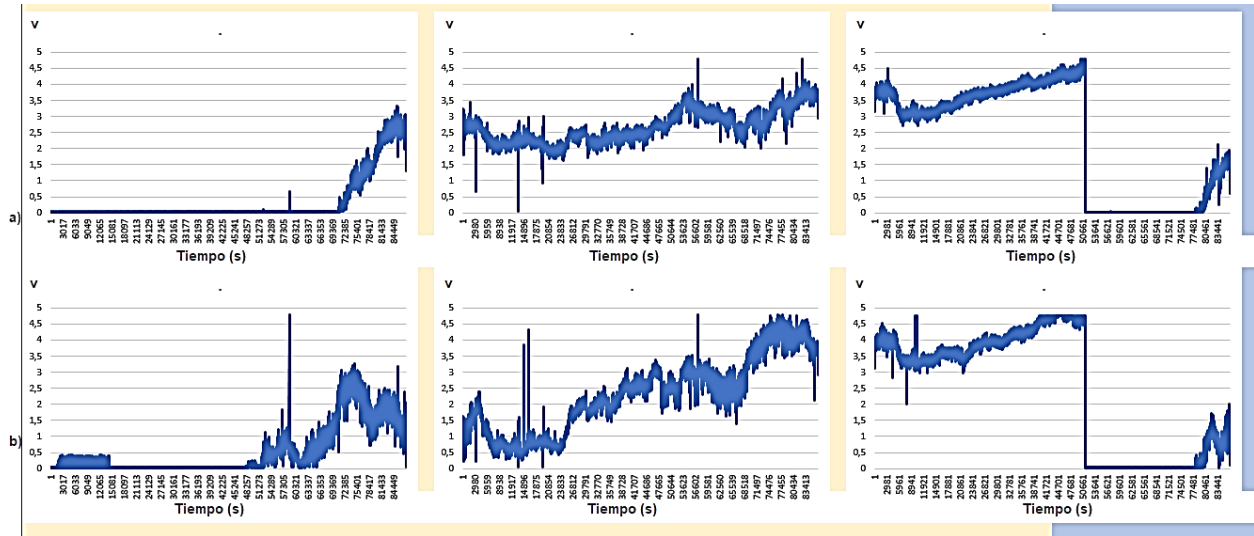


Fig. 12 Potencial de acción de plantas de fríjol ante estrés hídrico con electrodo Ag/AgCl, días 1 a 3. a) Especimen uno. b) Especimen dos.

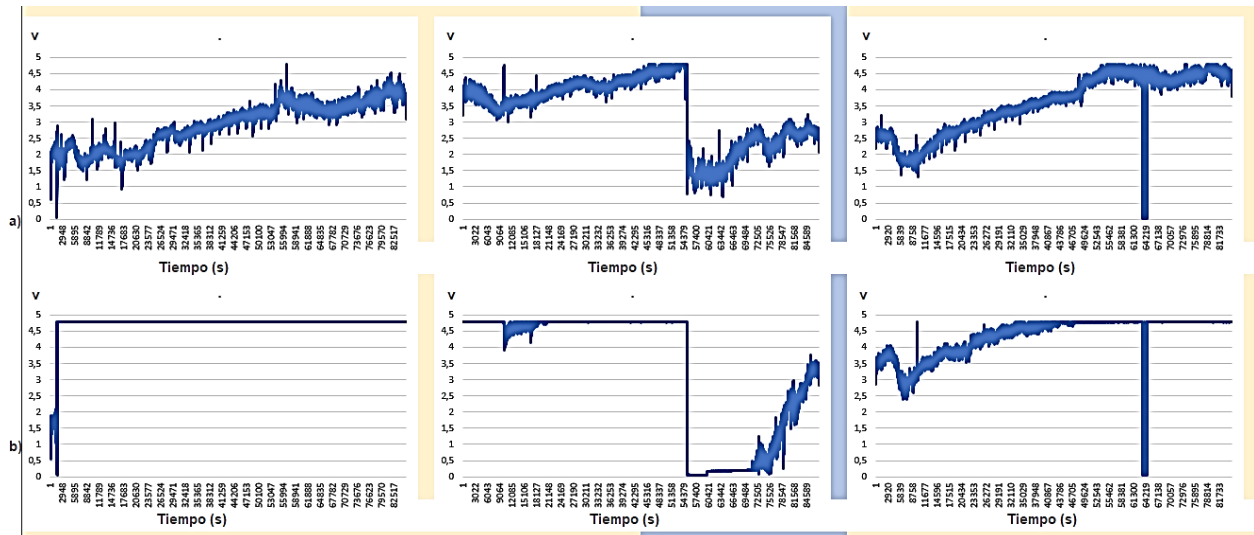


Fig. 13 Potencial de acción de plantas de fríjol ante estrés hídrico con electrodo Ag/AgCl, días 4 a 6. a) Especimen uno. b) Especimen dos.

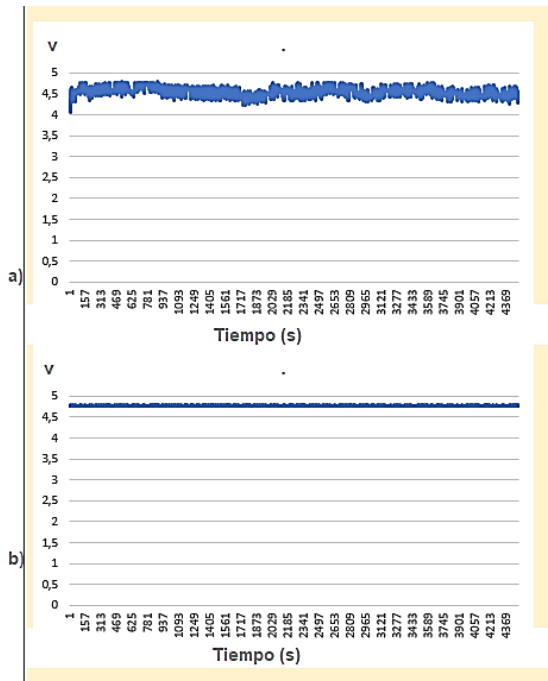


Fig. 14 Potencial de acción de plantas de fríjol ante estrés hídrico con electrodo Ag/AgCl, día 7. a) Espécimen uno. b) Espécimen dos.

La toma de datos diaria inició a las 16:30, cada gráfico de las figuras representa 24h de muestra.

El día anterior del inicio de la prueba no se irrigaron las plantas. Se observa que al finalizar la toma de muestra de las primeras 24h, con una diferencia de 6h entre ellas se empieza a observar aumento en la señal, lo que se cree es falta de agua. Entre las 45.5h y 47h se obtienen los valores máximos de potencial en los especímenes.

62h después del inicio de la prueba se irrigaron las plantas obteniendo una respuesta eléctrica casi de manera inmediata, ya que 1h después el potencial eléctrico decreció de manera rápida alcanzando su valor de reposo cercano a los 0v. Con un comportamiento similar, los dos especímenes iniciaron el incremento de potencial eléctrico 7.5h después de la irrigación, pero al alcanzar su valor máximo la cantidad de tiempo fue diferente en los especímenes, ya que el espécimen 1 (Figura 12. a) lo alcanzo 46h después mostrando un incremento constante, y el espécimen 2 (Figura 12. b) lo alcanzo 11 después de manera repentina.

El quinto día de muestra alrededor de las 8:00h se irrigaron las plantas, donde al igual que en la irrigación anterior, 1h después se observa decremento en el potencial eléctrico; el espécimen 1 no alcanza el valor de reposos, mientras el espécimen 2 si lo hace. Los valores máximos fueron alcanzados 22.5h en el espécimen 1 y 17h en el espécimen 2, después de la última irrigación.

En los experimentos realizados con plantas de fríjol variedad Calima tipo enredadera se encontraron dos aspectos fundamentales para los montajes.

El primero tiene que ver con el modo de conexión para adquirir las señales de potencial. Ya que para el caso en estudio se utilizó un sensor MyoWare, se realizaron pruebas con diferentes electrodos y modo de conexión como se detalló, en este sentido es muy importante tener en cuenta que si se sigue utilizando el sensor MyoWare los electrodos deben conectarse dos a tierra (Referencia y $M(-)$) y el otro (+) en el tallo 1 cm antes de la primera hoja. Si se conecta un electrodo a tierra, y segundo en el tallo (1cm antes del sustrato y 1 cm antes de la primera hoja) no es posible obtener señal.

El Segundo está relacionado con el electrodo a tierra, en la revisión de la literatura investigadores refieren el uso de diferentes compuestos para mejorar la conexión, en el caso presentado no se utilizó ninguno, pero fue evidente que la profundidad de inserción es fundamental. Si el electrodo es pequeño (cable < 3cm) y no se inserta los suficiente (<1cm) no se obtiene señal referente al potencial de acción de la planta. Cabe destacar que esta observación se hizo utilizando el sensor MyoWare.

Por otra parte, el comportamiento observado con estrés hídrico indica que después de irrigar las plantas, 0.5 horas después aproximadamente se empieza a observar un descenso en el nivel de potencial de acción, alcanzando el nivel estable entre 1 y 4 horas después. Existió una variabilidad en el tiempo de respuesta del potencial de acción, pero para conocer la respuesta, es necesario en estudios futuros medir la cantidad de agua que se aplica a la planta, así como las variables restantes medio ambientales (humedad, temperatura, CO₂, etc).

V. CONCLUSIONES

El estudio permitió comprobar la existencia de actividad eléctrica en las plantas de fríjol ante estrés hídrico. Evidenciando el aumento en el potencial de acción cuando existe falta de agua y alcanzando nivel inicial de voltaje cercano a 0v tiempo después de iniciar etapa de irrigación.

Los resultados demostraron la viabilidad de usar las plantas como Fito-sensores para monitorear y controlar sus requerimientos, mediante su actividad eléctrica detectable con dispositivos electrónicos.

Los resultados tienen la posibilidad de estar sujetos a sesgos, ya que no se consideraron variables externas como humedad relativa, humedad del sustrato, temperatura, material particulado, entre otros. Además la cantidad de agua en cada irrigación fue arbitraria. De esta forma se recomienda en estudios futuros considerar variables adicionales para

corroborar la información obtenida del comportamiento eléctrico de la planta ante estrés hídrico y descartar que este sea producto por la interacción con otro agente

VI. AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la fundación Universitaria de San Gil Unisangil por el apoyo en la realización de este trabajo, mediante el proyecto de convocatoria interna CI-03-2019.

REFERENCIAS

- [1] FAO, "FAO - Noticias: El aumento de la producción agrícola mantendrá bajos los precios de los alimentos la próxima década, pero persisten muchas incertidumbres." [Online]. Available: <http://www.fao.org/news/story/es/item/1201025/icode/>. [Accessed: 07-Aug-2019].
- [2] A. P. Tofiño-Rivera, I. J. Pastrana-Vargas, A. E. Melo-Ríos, S. Beebe, and R. Tofiño-Rivera, "Rendimiento, estabilidad fenotípica y contenido de micronutrientes de fríjol biofortificado en el Caribe seco colombiano," *Corpoica Cienc. y Tecnol. Agropecu.*, vol. 17, no. 3, p. 309, 2016, doi: 10.21930/rcta.vol17_num3_art:511.
- [3] D. de I. y E. E. y Sectorial, "Panorama Agroalimentario," *Dir. Evaluación y Evaluación Económica y Sect.*, pp. 0–39, 2015.
- [4] A. G. Volkov, *Plant Electrophysiology*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2012.
- [5] P. Ilík, V. Hlaváčková, P. Krchnák, and J. Naus, "A low-noise multi-channel device for the monitoring of systemic electrical signal propagation in plants," *Biol. Plant.*, vol. 54, no. 1, pp. 185–190, 2010, doi: 10.1007/s10535-010-0032-0.
- [6] B. Günsé, C. Poschenrieder, S. Rankl, P. Schröder, A. Rodrigo-Moreno, and J. Barceló, "A highly versatile and easily configurable system for plant electrophysiology," *MethodsX*, vol. 3, pp. 436–451, 2016, doi: 10.1016/j.mex.2016.05.007.
- [7] A. G. VOLKOV, J. C. FOSTER, T. A. ASHBY, R. K. WALKER, J. A. JOHNSON, and V. S. MARKIN, "Mimosa pudica : Electrical and mechanical stimulation of plant movements," *Plant. Cell Environ.*, vol. 33, no. 2, pp. 163–173, Feb. 2010, doi: 10.1111/j.1365-3040.2009.02066.x.
- [8] A. G. Volkov, "Green plants: electrochemical interfaces," *J. Electroanal. Chem.*, vol. 483, pp. 150–156, 2000, doi: S0022-0728(99)00497-0.
- [9] S. K. Chartterjee, "An Approach Towards Plant Electrical Signal Based External Stimuli Monitoring System," University of Southampton, 2017.
- [10] Z. Y. Wang *et al.*, "Monitoring system for electrical signals in plants in the greenhouse and its applications," *Biosyst. Eng.*, vol. 103, no. 1, pp. 1–11, 2009, doi: 10.1016/j.biosystemseng.2009.01.013.
- [11] A. G. Volkov, *Plant Electrophysiology Theory and Methods*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2006.
- [12] "Advancer Technologies, LLC: MyoWare Muscle Sensor." [Online]. Available: <http://www.advancertechnologies.com/p/myoware.html>. [Accessed: 19-May-2021].
- [13] C. M. LEACH, "Diurnal Electrical Potentials of PlantLeaves Under Natural Conditions," *Environ. Exp. Bot.*, vol. 27, no. 4, pp. 419–430, 1987.