

Electronic system design for recording the electrical response mimosa plant because of white light stimulus

Alberto Hernández Pérez, David Elías Viñas

*Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional,
Departamento de Ingeniería Eléctrica, Sección Bioelectrónica. Av. Instituto Politécnico
Nacional 2508, col. San Pedro Zacatenco. Delegación Gustavo A. Madero, México D.F. Código
Postal 07360. Apartado Postal 14-740, 07000 México, D.F.
Tel. +52 (55)57473800 Ext. 6203.
ahernandezpe@ipn.mx / delias@cinvestav.mx*

Abstract

We presented an electronic system for recording electrical response in a mimosa plant, due to white light stimuli is presented. For this, we designed and implemented electronic circuits responsible for converting the electrochemical activity of the mimosa plant into electrical energy, which is fitted with operational amplifiers and sent through an interface to a computer. The acquired information is stored in a text format file (*.txt) or Excel (*.xls, *.xlsx) and saved to a PC. In the case of the electronic record is put in charge of temperature sensors which monitor the same during the capture process and electrochemical electrodes that register electrical activity and signal converted in the environmental conditions to which the plant is subjected.

Keywords: electrical signals, Stimulus, electrochemical signal, interface, sensor.

Diseño de un sistema electrónico para registrar la respuesta eléctrica en la planta mimosa, debido a estímulos de luz blanca

Resumen

Se presenta un sistema electrónico para el registro de respuesta eléctrica en una planta mimosa, debido a estímulos de luz blanca. Para esto, se diseñaron e implementaron circuitos electrónicos encargados de convertir la actividad electroquímica de la planta mimosa en energía eléctrica, que es acondicionada con amplificadores operacionales y enviada a través de una interfaz a una computadora. La información adquirida se almacena en un archivo con formato de texto (*.txt) o Excel (*.xls, *.xlsx) y guardado en una PC. En la caja de registro se encuentra la electrónica encargada de acondicionar los sensores de temperatura que monitorean la misma durante el proceso de captura y electrodos que registran la actividad electroquímica y convierten en señal eléctrica de las condiciones ambientales a las que está sometida la planta.

Palabras clave: señales eléctricas, Estímulo, señal electroquímica, interfaz, sensor.

Introducción

Las plantas reúnen continuamente información de su medioambiente, obteniendo una gran variedad de respuestas biológicas; las células, tejido y órganos de la planta poseen la propiedad de poder excitarse ante la influencia de factores ambientales, sincronizando sus funciones biológicas en respuesta a su entorno. La sincronización de sus funciones internas está basada en los eventos externos vinculados con el fenómeno de excitabilidad de las células en la planta [1, 2]. La conducción de la excitación electroquímica es una propiedad fundamental de los organismos vivos, como un proceso rápido en la transmisión de señales a larga distancia desde el tejido de la planta hasta sus órganos [3, 7]. Las plantas responden a diferentes tipos de estrés bióticos como: animales, otras plantas, insectos, bacterias, hongos, virus, sales y potencial de agua [4]. En el estrés abiótico existen varios ejemplos: sequía, sales en el suelo, calor, frío, congelación, deficiencia en elementos minerales, viento, lesiones o heridas y estimulación mecánica causada por insectos o el hombre.

El objetivo es realizar un sistema electrónico que registre respuestas eléctricas en plantas debido a la actividad electroquímica que presenta en consecuencia de la estimulación por luz, el sistema debe operar en diferentes condiciones ambientales a las que es sometida la planta modelo y capaz de almacenarla en una PC. Las funciones de las plantas se explican mediante leyes físicas y químicas, donde las plantas son capaces de utilizar la energía solar, partiendo de sustancias inorgánicas y síntesis de moléculas orgánicas, para llegar a construir complejas estructuras en la formación de su cuerpo. Se explica como las mismas plantas llegan a utilizar su estructura endógena para reproducirse, y adaptarse a las condiciones ambientales [5]. Las plantas tienen mecanismos mediante los cuales son capaces de responder a las variaciones ambientales de luz optimizando su crecimiento y controlando gran variedad de procesos como la fotosíntesis, germinación y floración. La intensidad, duración, dirección y calidad espectral de luz pueden influir en todas estas respuestas, estas respuestas a la luz dependen por lo general de la longitud de onda. En la actualidad cuando se trabaja con experimentos enfocados con actividad eléctrica en plantas desde su crecimiento hasta su edad adulta, en este proceso se

encuentran expuestas a varios cambios que modifican su accionar endógeno y con ello su crecimiento [6, 7].

En este trabajo se desarrolla un sistema electrónico, capaz de registrar señales eléctricas en plantas, debido a estímulos luminosos, para encontrar la relación existente de la respuesta (señal eléctrica) y un estímulo luminoso [8], debido a la cantidad de energía lumínica que incide en las hojas de la planta a través de sus pigmentos llamados fotorreceptores. Para la captura de las señales eléctricas es necesario utilizar electrodos de diámetro menor a 100 veces al diámetro del tallo. Los electrodos usados para no afectar la planta son de tipo aguja con 0,05 mm de diámetro en su punta y de plata/cloruro de plata (Ag/AgCl), estos se encargan de registrar los cambios electroquímicos de las células convirtiéndola en señal eléctrica, el acondicionamiento se emplea con amplificadores operacionales los encargados del proceso de envío a través del sistema de adquisición de datos hacia la PC.

Desarrollo

El sistema electrónico que registra la actividad eléctrica en plantas cuando es sometida a estímulos, tiene una fuente de luz blanca de 590 luxes de intensidad, de 24 lúmenes (lm) de flujo luminoso y 140 grados de ángulo en apertura luminoso, los estímulos se presentan una vez para algunos registros y con una duración de 0,01 segundos y en otros casos con 2 pulsos de 0,01 segundos cada uno, cada vez que se realiza el estímulo de luz se hace una pausa de tiempo (20 min) para que la planta se estabilice a las condiciones ambientales y de obscuridad.

Para hacer el registro se utilizó una caja de acrílico negro de 5 mm de espesor (Figura 1), con la finalidad de tener la planta de estudio en un ambiente controlado sin la presencia de luz blanca externa y solo hacer la incidencia del estímulo de luz sobre la planta. En el compartimento de la parte superior se ubica la electrónica donde se procesan y acondiciona las señales que genera la planta después de un estímulo, y se llevan a cabo las conexiones de los electrodos para el registro de esta actividad eléctrica. Los electrodos usados en los experimentos son de plata/cloruro de plata (Ag/AgCl) normalmente utilizados para electro-

miografía, estos tienen una dimensión de 2,2 cm de largo, con 0,05 mm de diámetro en su punta, los electrodos son los encargados de registrar las señales biológicas debido a los estímulos de luz. Los registros de las señales biológicas se adecuan utilizando tres electrodos. El primer electrodo se emplea como electrodo referencia, colocado en el tallo de la planta cerca de las raíces, el segundo y tercer electrodo se usan para el registro de la señal, el registro se hace por medio de la diferencia entre los electrodos de la señal con respecto al electrodo referencia, que hace la función de tierra (Figura 3). Para la amplificación de la señal se utiliza el circuito mostrado (Figura 2), donde el amplificador de instrumentación es un INA128. La resistencia R_1 , se utiliza para definir la amplificación deseada, a través de la ecuación 1, donde G (Ec. 1) es la ganancia que tiene el amplificador.

$$G = 1 + \frac{50k\Omega}{R_1} \quad (1)$$

El operacional que se utiliza como retroalimentación en la Figura 2, funciona como corrector de basal, que presenta un tiempo de respuesta de 632 milisegundos que corresponde a 1,59 Hz y un CMRR (Relación de Rechazo de Modo Común) de 120dB.

La caja de registro cuenta con sensores de temperatura que la monitorean durante el desarrollo del estudio en la caja de acrílico (Figura 4).

El sensor de temperatura digital DS18B20 utilizado ofrece una salida de 9 a 12 bits en cada lectura, para representar los grados Celsius en las mediciones de temperatura programable; estableciendo un rango de temperaturas de medición. El DS18B20 se comunica a través de un bus "1-Wire" que requiere sólo una línea de datos y retorno, para la comunicación con un puerto de un microprocesador (Atmega16L). Tiene un rango de temperatura de -55°C a 125°C y tiene una precisión de $\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ en el rango de -10°C a 85°C . Se implementaron filtros activos tipo *butterworth* y configuración inversora presentando una amplificación en la señal de salida, respecto a la señal de entrada. Estos dispositivos UAF42AP son configurados como filtro pasa altas para eliminar señales inferiores a 0,05 Hz (Figura 5) y filtro notch para suprimir la señal de 60 Hz.

Para el registro de los estímulos luminosos, se utilizó un Medidor de Luz (Luxómetro) - *Am-*

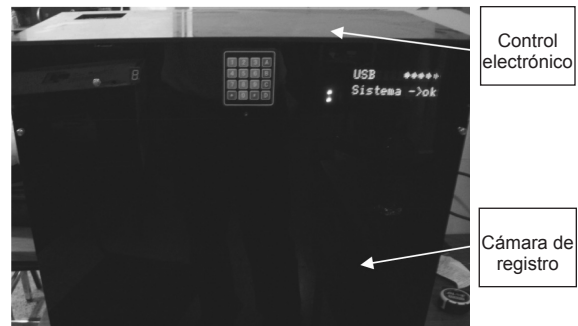


Figura 1. Caja de registro.

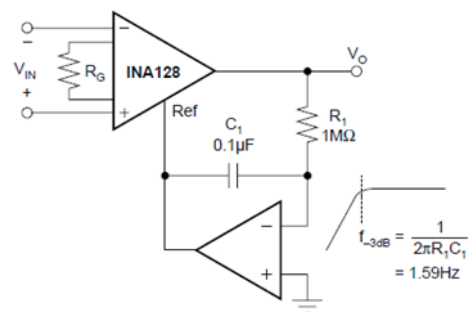


Figura 2. Amplificador de instrumentación.

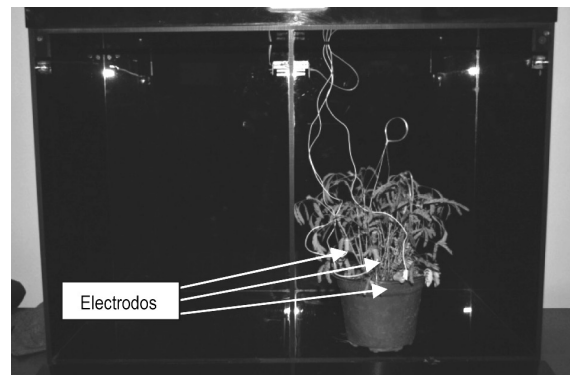


Figura 3. Colocación de electrodos.

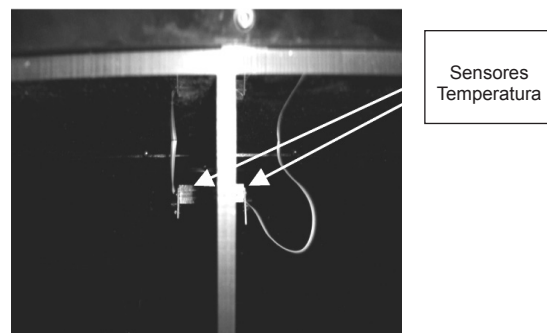


Figura 4. Sensores de temperatura.

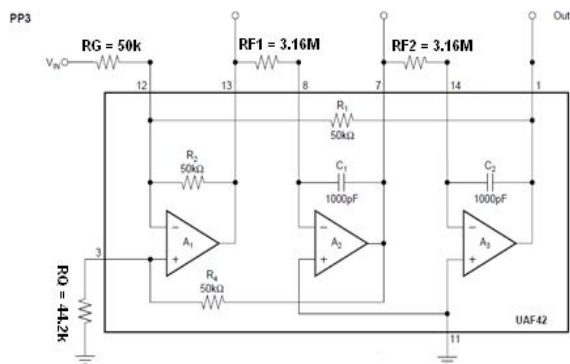


Figura 5. Filtro pasa altas.

probe LM-200LED, con rango de operación de 200 a 200000 luxes; con una precisión $\pm 3\%$; y memoria para registro de 99 lecturas.

Resultados

En la Figura 6, se muestra la señal registrada a través de los electrodos, cuando estos son insertados en el tallo de la planta. La señal que perciben los electrodos es debido al estrés que se genera en la planta, esto al colocar los electrodos, a este estímulo se le considera daño mecánico, el registro de esta señal se captura colocando los electrodos a una distancia de 5 cm entre cada uno de ellos (Figura 7), con una amplificación de 5; colocando el electrodo de referencia en la parte inferior del tallo, a una distancia de 3 cm a la tierra que sujeta la planta. Los resultados se observan en la Tabla 1.

En la Figura 8, se muestra la respuesta al estímulo de una fuente de luz blanca, esta tiene una intensidad de 590 luxes, colocando la fuente de luz a 2 cm de distancia de una hoja que está localizada en el mismo tallo donde se colocaron los electrodos, la temperatura durante el experimento se encuentra entre 25-27°C. La planta tiene una primer respuesta (etiqueta 2) a los 0,768 segundos de haber iniciado el estímulo y termina a 1,192 segundos, la amplitud es de 1,289 volts como máximo y -0,8521 volts como mínimo. El tiempo que tarda en iniciar la segunda respuesta (etiqueta 3) es de 5,264 segundos de iniciado el estímulo y termina a los 5,436 segundos, la amplitud es de 0,53 volts como máximo y -0,42 volts como mínimo. La tercer respuesta (etiqueta 4) inicia a 10,74 segundos y termina a 10,91 segundos, la amplitud es de 0,3644 volts y mínimo -0,2394

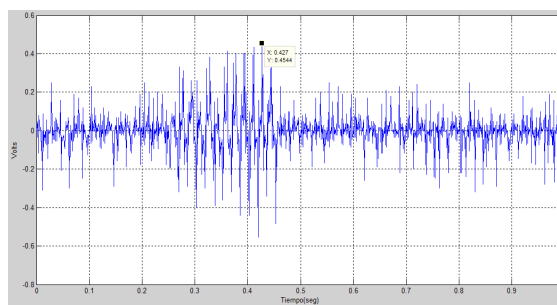


Figura 6. Respuesta a los electrodos.

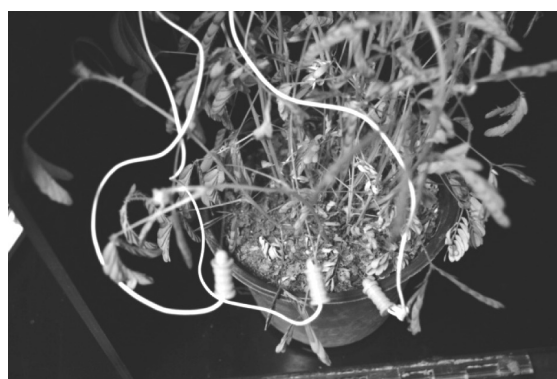


Figura 7. Distancia entre electrodos.

Tabla 1
Valores de respuesta a la inserción de electrodos

Tiempo de inicio de respuesta	0,255 s.
Tiempo final de respuesta	0,456 s.
Amplitud máxima	0,4544 V.
Amplitud mínima	-0,554 V.

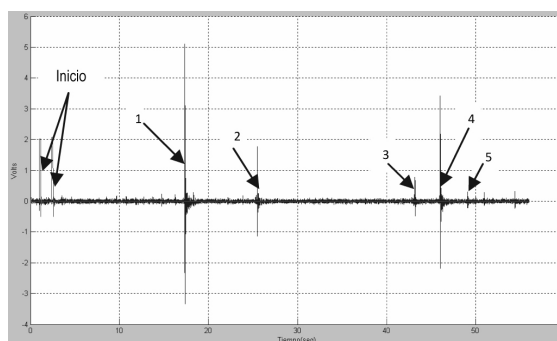


Figura 8. Estimulación con luz blanca, 590 luxes.

volts. Todos los tiempos fueron tomados una vez iniciado el estímulo.

En la Figura 9, se muestra la respuesta a los estímulos de una fuente de luz blanca con doble pulso de luz, esta tiene una intensidad de 590 luxes, la fuente de luz se coloca a 3 cm de distancia de una hoja que está localizada en el mismo tallo donde se colocaron los electrodos con una amplificación de 5, la temperatura durante este experimento se encuentra entre 25-27°C. La primera respuesta (etiqueta 1) es a 17,33 segundos de haber iniciado el primer estímulo y termina a 18,9 segundos, la amplitud es de 5,107 volts como máximo y -3,342 volts como mínimo. El tiempo que tarda en iniciar la segunda respuesta (etiqueta 2) es de 25,46 segundos y termina a los 26,2 segundos, La amplitud es de 1,767 volts como máximo y mínimo -1,144 volts. La tercer respuesta (etiqueta 3) inicia a los 43,17 segundos y termina a los 43,46 segundos, la amplitud es de 0,7792 volts y mínimo -0,4768 volts, la cuarta respuesta (etiqueta 4) inicia a los 46,01 segundos y termina a los 46,57 segundos, la amplitud es de 3,415 volts como máximo y -2,187 volts como mínimo, la quinta respuesta (etiqueta 5) inicia a los 49,08 segundos y termina a los 49,2 segundos, la amplitud es de 0,305volts y como mínimo -0,21 volts.

Discusión de resultados

En la actualidad existen diferentes formas de registrar las señales eléctricas con diferentes tipos de complejidad (Osciloscopios y tarjetas de adquisición de datos) lo cual implica un elevado costo, este sistema se desarrolla con un bajo costo en sus componentes, fácil utilización, y buena manipulación de la información durante y después de un estudio. En los resultados presentados observamos la respuesta que tiene el sistema electrónico en la captura de la señal eléctrica, debido a la estimulación de luz que se le hace, la respuesta eléctrica en la planta es de mayor cantidad de impulsos, cuando se presenta una doble estimulación de luz y a su vez el sistema electrónico registra varios impulsos eléctricos como consecuencia de un estímulo y estos se van atenuando conforme para el tiempo de haber hecho el estímulo. La operación de los sistemas de captura a través de osciloscopio genera desventaja, ya que estos al presentar la estimulación se captura en la memo-

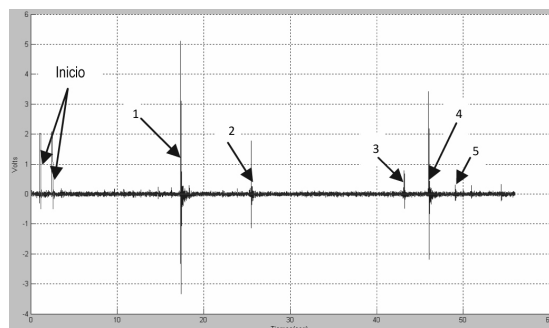


Figura 9. Estímulo con luz blanca implementando 2 pulsos de luz, 590 luxes.

ria interna del osciloscopio y después se procesa, lo que implica tiempo y complicaciones en los formatos que entrega los archivos con los resultados, en este sistema electrónico se puede hacer el proceso durante y al término de cada estudio y colocar las diferentes condiciones en las cuales se desarrollaron los experimentos, así como el formato del archivo a generar en cada experimento.

Conclusiones

La respuesta que generan las plantas hacia el sistema electrónico, se puede guardar con diferentes tipos de formatos al ser almacenada, esto tiene grandes ventajas para la visualización en diferentes plataformas de programación, tomando en cuenta que puede ver los datos por tiempos definidos por el usuario, siempre y cuando se encuentre la información en el archivo generado. Para el sistema de registro electrónico se capturan las señales en una tarjeta de bajo costo y programada a las necesidades del usuario, lo que genera una adecuación en las necesidades del usuario. Las señales que son registradas se pueden adecuar desde el sistema electrónico y compensar en la captura del archivo de adquisición. En los archivos que se generan se guardan los datos del registro, así como las condiciones de temperatura del experimento. Este prototipo da una versatilidad en cuanto a las necesidades de programación y almacenamiento de los datos.

Agradecimientos

Al Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional y al CONACYT por el apoyo proporcionado para el desarrollo de este proyecto.

Referencias

1. Bruce R., Johnson Robert A., Wyttenbach, Randy Wayne, and Ronald R., "Action Potentials in a Giant Algal Cell: A Comparative Approach to Mechanisms and Evolution of Excitability", *The Journal of Undergraduate Neuroscience Education*, June, fall 2002.
2. Barbara G. Pickaad, "Action potentials in higher plants", Biology Department, Washington University St. Louis, Missouri. *The Botanical Review*, Vol. 39, N° 2 (1973).
3. León Ramírez M. J. E., Xoconostle Cázares B., Ruiz Medrano R., "Comunicación intercelular a distancia a través del floema en plantas", *Ciencia al día Internacional*, Vol. 5, N° 2 (2004), 1-14.
4. Shu-Hsien HUNG¹, Chih-Wen YU², and Chin Ho LIN³, "Hydrogen peroxide functions as a stress signal in plants". *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, Vol. 46, 2005.
5. Audesirk T., Audesirk G., Byers E. B. "Biología Ciencia y Naturaleza", 1ª Edición, Pearson: Prentice Hall, 2004.
6. Jörg Fromm & Silke Lautner, "Electrical Signals and Their Physiological Significance in Plants", *Plant, Cell and Environment*, 2007.
7. Matthias R. Z., Heiko M., Axel M. F., Wilhelm B and Hubert H. F., "System Potentials, a Novel Electrical Long - Distance Apoplastic Signal in Plants, Induced by Wounding", *plant Physiology*, Vol. 149, (2009) 1593–1600.
8. Fraire Velázquez S., Rodríguez Guerra R. and Sánchez Calderón L. "Abiotic and Biotic Stress Response Crosstalk in Plants", *Unidad de Biología Experimental, Universidad Autónoma de Zacatecas*, 2011.

Recibido el 26 de Septiembre de 2013

En forma revisada el 27 de Octubre de 2014