



## Análisis de la Actividad Fotosintética de Plantas de Café Utilizando la Técnica Fotoacústica

F. Gordillo Delgado<sup>1</sup>, F. Zárate Rincón<sup>1</sup>, C. Mejía Morales<sup>1</sup>, L. Y. Rivera Puentes<sup>2</sup>, H. Ariza Calderón.

<sup>1</sup>Laboratorio de Optoelectrónica, Universidad del Quindío. Apdo. Postal 2639 Armenia

<sup>2</sup>Corporación para el desarrollo de la microbiotecnología y modalidades agropecuarias sostenibles (Biointegrados)

Recibido 22 de Oct. 2007; Aceptado 3 de Mar. 2008; Publicado en línea 15 de Abr. 2008

### Resumen

En la década del 50 empezó la tecnificación de los cultivos de café en Colombia debido a la alta demanda del grano en el mercado internacional, en la cual primó la utilización de fertilizantes de origen químico. Este proceso resultó ser insostenible a largo plazo por el costo de insumos y por los efectos nocivos que provoca al medio ambiente. Recientemente, algunas comunidades de pequeños productores han retomado las técnicas ancestrales de cultivo con el uso de fertilizantes orgánicos con el objetivo de proteger el medio ambiente e independizarse del comercio de fertilizantes y pesticidas. Este cambio necesita del acompañamiento de las ciencias naturales y sociales para agilizar el proceso de tal forma que sea rentable y eficiente. En esta dirección, es de mucho interés el estudio de la fotosíntesis, estrechamente relacionada con la aceptación de nutrientes. En este trabajo se usó la técnica fotoacústica, la cual permite medir procesos fotobáricos, para comparar la actividad fotosintética de plantas tratadas con biofertilizantes con la de aquellas en las cuales se usaron productos químicos.

**Palabras claves:** Fotoacústica, fertilizantes, fotosíntesis.

### Abstract

The use of coffee growing technical methods in Colombia began in fifties due to the high demand of the bean in the international market; this fact prioritized the chemical fertilizers utilization. This process turned out to be unsustainable by the chemical products economical costs and the environmental negative effects. Recently, some communities of small producers have retaken the ancestral cultivation techniques with the composting use in order to protect the soil and to obtain independence of the fertilizers and pesticides business. This change needs the support of natural and social sciences to make agile the process of such form that is profitable and efficient. In this way, the photosynthesis study is interesting what is linked with the acceptance of nutrients. In this work the photoacoustic technique was used to measure the photobaric processes, used in plants with biofertilizers and with chemical agents to compare the photosynthetic activity.

**Key Words:** photoacoustic, biofertilizers, photosynthesis.

© 2008 Revista Colombiana de Física. Todos los derechos reservados.

### 1. Introducción

La fotosíntesis es uno de los procesos más importantes y complejos que soportan la vida en el planeta. Las plantas realizan este proceso de transformación de la materia inorgánica en materia orgánica y al mismo tiempo convierten la energía solar en energía química. Este fenómeno ocurre en los cloroplastos, que son organelos presentes en las hojas, en algas o en tallos verdes. En los cloroplastos se

localizan las membranas tilacoidales que contienen pigmentos, principalmente clorofila a y b, agrupados en centros de reacción capaces de absorber energía lumínica en diferentes rangos de longitud de onda, abarcando el visible y parte del ultravioleta del espectro electromagnético. Luego de la excitación de estos centros de reacción se dan una serie de pasos térmicos que facilitan la transferencia de electrones evitando la recombinación de carga. Esto lleva a la polari-

zación de estos centros y de la misma membrana fotosintética, en donde luego se generan reacciones complejas de reducción y oxidación. Finalmente el resultado de este proceso en plantas mayores lleva a la fijación del carbono producto de la reducción química de dióxido de carbono y a la evolución de oxígeno desde la oxidación de agua. Las hojas poseen en su superficie pequeñas aberturas o estomas que tienen la capacidad de abrirse o cerrarse para dar paso a la entrada o salida de agua y gases como el dióxido de carbono y oxígeno [1].

En este trabajo el seguimiento de la actividad de fotosíntesis de colinos de cafeto, a los cuales se les aplicaron tratamientos de fertilización utilizando productos de origen sintético y microbiológico, se hizo utilizando la técnica fotoacústica [2]. Esta técnica se basa en los cambios de presión en una celda producidos por procesos de desexcitación no radiativos de la muestra causados por la absorción de luz pulsada periódicamente. Cuando la muestra presenta adicionalmente actividad fotoquímica, los cambios de presión debidos a la posible producción de gases son sumados a esta señal fototérmica. De esta forma la razón de evolución de oxígeno y la energía almacenada en forma de enlaces químicos en el proceso fotosintético pueden ser estudiados [3, 4]. Se hizo además un estudio morfológico de las hojas utilizando un microscopio óptico para observar fundamentalmente el estado de los estomas.

### 2. Materiales, Métodos y Experimentación

El análisis de la fotosíntesis se hizo en plantas de cafeto de 7 meses de edad (colinos), las cuales fueron agrupadas según el tipo de tratamiento. A un primer grupo se le aplicaron insumos químicos, a un segundo biofertilizantes y se tomó un grupo de control al cual únicamente se le suministró agua. El equipo de fotoacústica que se utilizó para hacer el seguimiento de la actividad fotosintética de las muestras consta de una lámpara de arco de Xenón de 1000 W, que emite un haz de luz blanca, la cual es dirigida hacia un monocromador Triax 190, que se encarga de seleccionar a la salida del mismo una longitud de onda. Esta luz monocromática se pulsa a través de un “chopper” mecánico y se hace incidir sobre un disco de hoja de 5mm de diámetro colocado en el interior de una celda fotoacústica cerrada. En su interior la celda tiene adaptado un micrófono que funciona como detector de los cambios de presión generados por el efecto fotoacústico y fotobárico ocurridos en la muestra, y produce un voltaje proporcional a la intensidad de la señal, el cual es amplificado a través de un “Lock-in”. Para observar la contribución debida a la evolución de oxígeno se saturó la fotosíntesis usando una luz de fondo no modulada proveniente de una lámpara halógena de Xenón de 250 W, la cual fue conducida hasta el envés de la hoja por una fibra óptica.

### 3. Resultados y discusión

Para frecuencias bajas de modulación de la luz incidente sobre hojas de plantas mayores, entre 10 y 100 Hz, los cambios de presión en la celda FA representados por el vector  $S$ , se deben principalmente a la señal fototérmica  $PT$ , a la evolución inmediata de oxígeno,  $O$ , y al almacenamiento de energía fotoquímica  $PL$  por la fijación de carbono a través

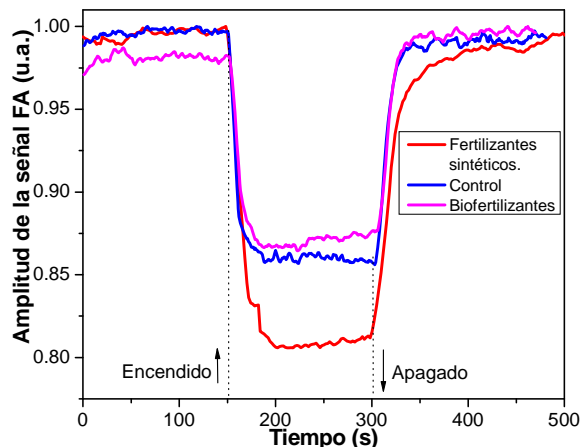


Fig.1 Curvas de evolución de oxígeno

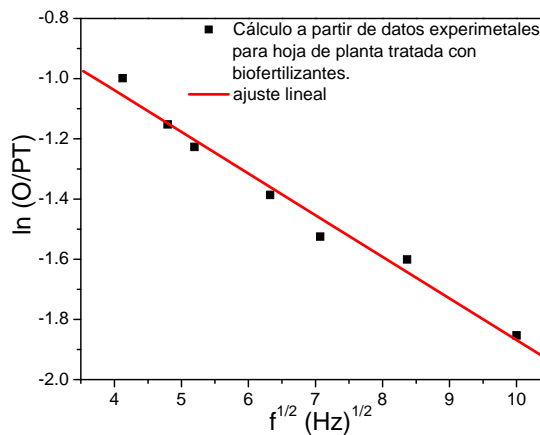


Fig.2 logaritmo natural de O sobre PT en función de la raíz de la frecuencia.

de una reacción enzimática retardada, de tal forma que se puede escribir:  $S=PT(I-PL)+O$ .

La adición de una fuerte luz blanca de fondo no modulada satura la fotosíntesis y genera un valor constante en la evolución de oxígeno, así que la señal fotoacústica resultante,  $S^+$ , es debida a la contribución fototérmica máxima,  $S^+=PT$ . De aquí, el cambio en la evolución de oxígeno, se puede obtener de la expresión:  $O=S-S^+(I-PL)$ . El valor de  $PL$  se puede hallar infiltrando con agua la hoja o aumentando la frecuencia de modulación (> 200 Hz), ya que de esta forma

disminuye la señal debida al cambio en la evolución de oxígeno.

De la solución de la ecuación de onda para la concentración de oxígeno producido se puede obtener la ecuación 1, donde  $D_o$  es la constante de difusión para el oxígeno,  $A$  es una constante que depende la muestra y la geometría de la celda FA, y  $D_{TH}$  es la difusividad térmica de la muestra [5, 6, 7].

$$\left| \frac{\bar{O}}{\bar{PT}} \right| = A \exp \left[ -\pi^{1/2} \left( 1/D_o^{1/2} - 1/D_{TH}^{1/2} \right) l f^{1/2} \right] \quad (1)$$

La señal FA obtenida de una de las hojas de café, utilizando una frecuencia de modulación de 17 Hz, se muestra en la Fig.1. La evolución periódica de oxígeno se registra luego de que se aplica luz de fondo no modulada durante un tiempo de aproximadamente 150 segundos, de tal forma que la señal decae hasta  $PT$ . La componente fotoquímica  $PL$  presente en la hoja es despreciable en comparación con las otras señales [3], por esta razón la información obtenida de la curva se puede utilizar para monitorear directamente la razón de evolución de oxígeno, cuya cuantificación se encuentra en la tabla 1. En la Fig. 2 se hizo el análisis del comportamiento de la razón  $OPT$  en función de la frecuencia teniendo en cuenta la ecuación 1. Considerando el valor de la distancia de difusión lineal,  $l$ , como 1  $\mu\text{m}$ , de acuerdo con un valor reportado para la hoja de tabaco [8]; y el valor de la difusividad térmica previamente medido a través de la técnica fotoacústica, de 0,0041  $\text{cm}^2/\text{s}$ , se estimó el valor de la constante de difusión de oxígeno en  $1,5 \times 10^{-6} \text{cm}^2/\text{s}$ . En las Fig.4, 5 y 6 se muestran unas de las microfotografías tomadas con un aumento de 40X de las cuales se obtuvo el conteo de estomas abiertos y cerrados por unidad de área. Estos valores que se muestran también la tabla 1, evidencian el estrés al que son sometidas las plantas a las cuales se les aplica fertilizantes sintéticos, pues a pesar de que la actividad fotosintética es más alta, el número total de estomas en sus hojas es menor, lo cual obliga a que en promedio se tenga igual proporción de estomas abiertos que cerrados.

#### 4. Conclusiones

Se hizo el seguimiento de la actividad fotosintética de colinos de café con diferente tipo de tratamiento de fertilización usando como herramienta la técnica fotoacústica. Las mediciones muestran que el porcentaje de la razón de evolución de oxígeno en las plantas tratadas con abonos sintéticos es más alto que el de las plantas tratadas con biofertilizantes, con el costo del estrés causado en la planta, el cual es evidenciado por la proporción entre el número de estomas abiertos y cerrados en cada caso. Los productos microbiológicos para la fertilización de café son una alternativa limpia y sostenible para este cultivo que puede ser validada por esta técnica a través del seguimiento de la actividad fotosintética considerando diferentes variables en el manejo de estos productos, como dosificación, frecuencia de aplicación y microorganismos seleccionados para la fabricación de los biofertilizantes.



Fig.3 Colinos de 3 meses (biopreparado y control)

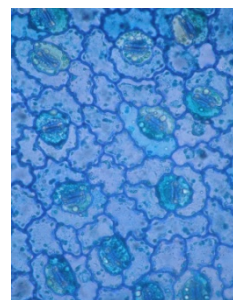


Fig.4 microfotografía de una hoja de planta tratada con biopreparados

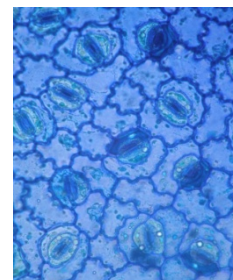


Fig.5 microfotografía de una hoja de planta tratada con fertilizantes sintéticos.

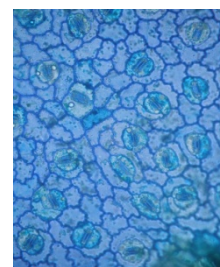


Fig.6 microfotografía de una hoja de planta de control.

#### Referencias

- [1] K. Baccon, Photosynthesis, Photobiochemistry and Photophysics, Kluwer Academic Publishers, 1-46 (2000).
- [2] A. Rosencwaig and A. Gersho, Journal of Apply Physics. 47, 64, (1976).
- [3] A. Mandelis, P. Hess, Life and Earth Sciences, published by SPIE Washington, 21-31 (1997).
- [4] C. Eyzaguirre, A. Valera. Tecnia, volumen 6, N 21, 29-31 (1996).
- [5] P. R. Barja, Estudo da indução fotossintética através da técnica fotoacústica: Efeitos de saturação e fotoinibição, Tese de mestrado em Física, Campinas (1996).

- [<sup>6</sup>] R. C. Mesquita, A. M. Mansanares, E. C. da Silva, P. R. Barja, L. C. M. Miranda, H. Vargas, *Instrumentation Science & Technology*, 34, 33-58 (2006).
- [<sup>7</sup>] I. Christov, D. Stefanov, T. Velinov, V. Goltsev, K. Georgieva, P. Abracheva, Y. Genova, N. Christov, *Journal of Plant Physiology*, 164, 1124-1133 (2007).
- [<sup>8</sup>] H. L. Gorton, S. K. Herbert, and T. C. Vogelmann. *Plant Physiology*; 132(3), 1529–1539 (2003).