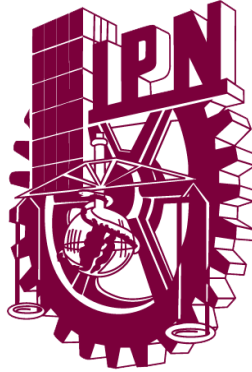


**INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL  
CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIA APLICADA Y  
TECNOLOGÍA AVANZADA UNIDAD LEGARIA**



**“LA ESPECTROSCOPIA FOTOACUSTICA EN EL ESTUDIO DEL EFECTO DE LA IRRADIACION  
SONICA EN LA ACTIVIDAD FOTOSINTETICA DE PLANTAS DE LIRIO ACUATICO.”**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
**MAESTRO EN TECNOLOGÍA AVANZADA**

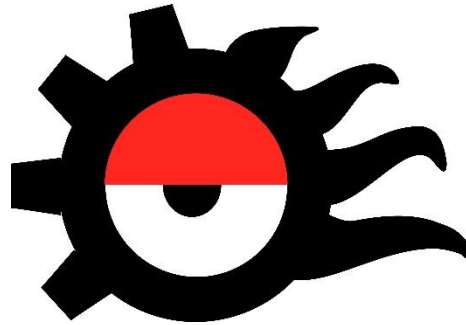
PRESENTA

**ROJAS MARROQUIN ALEJANDRO**

CIUDAD DE MÉXICO

JULIO, 2017

**INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL  
CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIA APLICADA Y  
TECNOLOGÍA AVANZADA UNIDAD LEGARIA**



**CICATA LEGARIA**

**“LA ESPECTROSCOPIA FOTOACUSTICA EN EL ESTUDIO DEL EFECTO DE LA IRRADIACION  
SONICA EN LA ACTIVIDAD FOTOSINTETICA DE PLANTAS DE LIRIO ACUATICO.”**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
**MAESTRO EN TECNOLOGIA AVANZADA**

PRESENTA

**ROJAS MARROQUIN ALEJANDRO**

CIUDAD DE MEXICO

JULIO, 2017



**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**  
**SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**

**CARTA CESIÓN DE DERECHOS**

En la Ciudad de México el día 05 del mes Junio del año 2017, el (la) que suscribe Alejandro Rojas Marroquin alumno (a) del Programa de Maestría en Tecnología Avanzada con número de registro B150274, adscrito a el Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada Unidad Legaria CICATA-Legaria, manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección de Dr. José Antonio Calderón Arenas y del Dr. José Bruno Rojas Trigos y cede los derechos del trabajo intitulado La espectroscopía fotoacústica en el estudio del efecto de la irradiación sónica en la actividad fotosintética de plantas de lirio acuático, al Instituto Politécnico Nacional para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección marroquin-m@hotmail.com, calder62@hotmail.com riosebruno@yahoo.com.mx. Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

---

Alejandro Rojas Marroquin



# INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

## ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de México siendo las 13:00 horas del día 05 del mes de Junio del 2017 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de la Tesis, designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de CICATA-Legaria para examinar la tesis titulada:

"LA ESPECTROSCOPIA FOTOACÚSTICA EN EL ESTUDIO DEL EFECTO DE LA IRRADIACIÓN SÓNICA EN LA ACTIVIDAD FOTOSINTÉTICA DE PLANTAS DE LIRIO ACUÁTICO."

Presentada por el alumno:

ROJAS  
Apellido paterno

MARROQUIN  
Apellido materno

ALEJANDRO  
Nombre(s)

Con registro: 

B	1	5	0	2	7	4
---	---	---	---	---	---	---

aspirante de:

Maestría en Tecnología Avanzada

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron **APROBAR LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

### LA COMISIÓN REVISORA

Directores de tesis

\_\_\_\_\_  
Dr. José Antonio Calderón Arenas

\_\_\_\_\_  
Dr. Ernesto Marín Moares

\_\_\_\_\_  
Dr. José Bruno Rojas Trigos

\_\_\_\_\_  
Dr. José Guzmán Mendoza

\_\_\_\_\_  
Dr. Uriel Nogal Luis

PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES

\_\_\_\_\_  
Dra. Mónica Rosalía Jaime Fonseca



---

## Agradecimientos

Un agradecimiento especial, al Dr. José Antonio Calderón Arenas por permitirme ser parte de este gran proyecto, así como sus sabios consejos y su gran experiencia que me ha compartido constantemente durante todo este tiempo, y todo su apoyo que me brindo con paciencia para concluir con esta etapa de mis estudios.

Al Dr. José Bruno Rojas Trigós por su gran apoyo y orientación que me dedico durante este tiempo, así como sus conocimientos y empeño brindado para la culminación de este proyecto.

A la M. en T. A. Jennifer Calderón Duarte y al Dr. Uriel Nogal Luis, por su invaluable ayuda para culminar este proyecto, así como su preciada amistad.

A mis padres, mis hermanos y a toda mi familia por haberme apoyado y compartir conmigo siempre gratos momentos.

A todos mis compañeros y amigos que me han acompañado durante esta etapa de mi vida y por permitirme compartir con ellos tantos buenos momentos.

A CONACYT, por el apoyo financiero, con el cual, se me ha permitido estudiar la Maestría en Tecnología Avanzada en el Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada (CICATA-Legaria) del Instituto Politécnico Nacional (IPN)

---

## Dedicatoria

*“A mis padres por su cariño y por todo el apoyo que siempre me han brindado, sin los cuales no hubiera sido capaz de alcanzar este logro, así como un infinito agradecimiento por sus cuidados y constante motivación a cumplir mis metas.”*

---

## Resumen

Se reporta el efecto de la irradiación sónica de 4 kHz en la fotosíntesis, intercambio de gases y estructura de plantas de lirio acuático variando intensidades (20 - 35 W) y tiempos de exposición (1 - 7 h).

Se diseñó e implemento un recinto cerrado acústicamente aislado para llevar a cabo las irradiaciones sobre las plantas, forrada en el interior con espuma acústica y equipada con soportes para los transductores y conectores para el generador sónico.

La longitud de difusión térmica en las hojas de lirio fue determinada, primero midiendo el espesor promedio de las hojas, obteniendo como resultado 536  $\mu\text{m}$ , y mediante el valor de difusividad térmica reportado para las plantas verdes se calculó  $\mu$  (48-74  $\mu\text{m}$ ) para frecuencias de 7 a 17 Hz.

Los resultados de los espectros obtenidos mediante la EFA para las muestras irradiadas a 4 kHz y potencias de 20, 25, 30 y 35 W, muestran, en general, una disminución en la intensidad de las bandas características de las clorofilas *a* y *b*, así como de los carotenos.

Para la potencia de irradiación de 35 W se observa de los espectros de la EFA una disminución de la intensidad en las bandas de absorción de los pigmentos, en los primeros días posteriores a la irradiación, sin embargo, aparece una recuperación en las mediciones realizadas a los 9 y 12 días, alcanzando intensidades superiores a las del lirio sin irradiar.

El análisis mediante la técnica fotoacústica resuelta en tiempo de las muestras irradiadas a 4 kHz y una potencia de 30 W, variando el tiempo de exposición de 1 a 7 h, muestran una significativa disminución de ambas contribuciones fotobárica y fototérmica al paso de los días posteriores a la irradiación, en particular, a los 12 días.

Para complementar estos resultados, se realizó la medición de la transpiración mediante el sistema Li-Cor del lirio irradiado a 4 kHz y 30 W, variando el tiempo de exposición de 1 a 7 h, en donde se encontró una disminución notable en la tasa de transpiración de las hojas, posterior a la irradiación.

El monitoreo de la evolución de la estructura de las plantas muestra un deterioro físico al paso de los días posteriores a la irradiación, en congruencia con los resultados obtenidos mediante la técnica fotoacústica y el sistema Li-Cor.

---

## Abstract

The effect of 4 kHz sonic irradiation on photosynthesis, gas exchange and structure of aquatic hyacinth plants varying intensities (20 - 35 W) and exposure times (1 - 7 h) is reported.

An acoustically insulated enclosure was designed and implemented to carry out the irradiations on the plants, which was lined inside with acoustic foam and equipped with transducer supports and connectors for the sonic generator.

The thermal diffusion length in the hyacinth leaves was determined, first by measuring the average leaf thickness, resulting in 536  $\mu\text{m}$  and by the thermal diffusivity value reported for green plants,  $\mu$  (48-74  $\mu\text{m}$ ) was calculate for frequencies of 7 to 17 Hz.

The results of the spectra obtained by the Photoacoustic Spectroscopy (PAS) for samples irradiated at 4 kHz and powers of 20, 25, 30 and 35 W, show, in general, a decrease in the intensity of the characteristic bands of chlorophyll a and b, as well as of the carotenes.

For the irradiation power of 35 W, a reduction of the intensity in the absorption bands of the pigments is observed from the PAS spectra in the first days after irradiation, however, a recovery appears in the measurements made at 9 and 12 days, reaching intensities higher than those of non-irradiated hyacinth.

The time-resolved photoacoustic analysis of samples irradiated at 4 kHz and a power of 30 W, varying the exposure time from 1 to 7 hours, show a significant decrease in both photobaric and photothermal contributions over the course of the days following irradiation, in particular at 12 days.

To complement these results, the transpiration measurement was performed using the Li-Cor system of the irradiated hyacinth at 4 kHz and 30 W, varying the exposure time from 1 to 7 hours, where a significant decrease in the rate of Transpiration of the leaves, after irradiation, was obtained.

The monitoring of the evolution of the structure of plants shows a physical deterioration to the passing of the days after irradiation, in accordance with the results obtained by the photoacoustic technique and Li-Cor system.



---

# Contenido

RESUMEN.....	VII
ABSTRACT.....	VIII
I. INTRODUCCIÓN.....	1
ANTECEDENTES.....	1
A. EL LIRIO ACUÁTICO Y SU PROBLEMÁTICA.....	1
B. MECANISMOS PARA EL CONTROL DEL LIRIO ACUÁTICO.....	4
C. RESULTADOS DE LA IRRADIACIÓN SÓNICA Y ULTRASÓNICA EN PLANTAS ACUÁTICAS Y HONGOS. ....	6
D. LA TÉCNICA FOTOACÚSTICA EN EL ESTUDIO DE LA FOTOSÍNTESIS EN PLANTAS.....	7
ESTADO DEL ARTE .....	10
A. LA TÉCNICA FOTOACÚSTICA EN EL ESTUDIO DEL EFECTO DE LA IRRADIACIÓN SÓNICA Y ULTRASÓNICA EN LIRIO ACUÁTICO. ....	10
DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA .....	13
JUSTIFICACIÓN .....	13
OBJETIVO GENERAL .....	14
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	14
DESCRIPCIÓN DEL CONTENIDO DE CADA CAPITULO .....	15
II. FUNDAMENTOS TEÓRICOS .....	16
A. EL PROCESO DE FOTOSÍNTESIS EN PLANTAS ACUÁTICAS.....	16
B. ESPECTROSCOPIA FOTOACÚSTICA .....	19
C. LA TÉCNICA DE ESPECTROSCOPIA FOTOACÚSTICA .....	21

---

D. LA TÉCNICA DE SEPARACIÓN DE LA FASE .....	26
E. EFECTO FOTOACÚSTICO RESUELTO EN TIEMPO Y CONTRIBUCIÓN FOTOBÁRICA .....	28
<b>III. MONITOREO DEL EFECTO DEL ULTRASONIDO EN LA ACTIVIDAD FOTOSINTÉTICA DEL LIRIO ACUÁTICO MEDIANTE LA TÉCNICA DE ESPECTROSCOPÍA FOTOACÚSTICA Y LA TÉCNICA DE SEPARACIÓN DE LA FASE .....</b>	<b>31</b>
A. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL .....	31
B. RESULTADOS .....	36
C. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS.....	48
<b>IV. ESTUDIO DE LA CONTRIBUCIÓN FOTOTÉRMICA Y FOTOBÁRICA EN LA SEÑAL FOTOACÚSTICA EN PLANTAS DE LIRIO ACUÁTICO IRRADIADAS CON FRECUENCIAS SÓNICAS.....</b>	<b>53</b>
A. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL .....	53
B. RESULTADOS .....	55
C. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS.....	65
<b>V. CONCLUSIONES.....</b>	<b>68</b>
<b>REFERENCIAS.....</b>	<b>70</b>

---

# Índice de imágenes

FIGURA 1. LIRIO ACUÁTICO ( <i>EICHHORNIA CRASSIPES</i> ). .....	2
FIGURA 2. PLANTAS FLOTANTES (TOMADA DEL SITIO DE INTERNET <a href="http://thewatergardenshop.com">THEWATERGARDENSHOP.COM</a> ). .....	3
FIGURA 3. MÉTODO MECÁNICO (DRAGAS) PARA EL CONTROL DE LIRIO ACUÁTICO. (TOMADA DEL SITIO DE INTERNET: <a href="http://www.hobbykwekers.nl">HTTP://WWW.HOBBYKWEKERS.NL</a> ) .....	5
FIGURA 4. CASTAÑA DE AGUA ( <i>TRAPA NATANS L.</i> ). A) PECIOLO UNA MUESTRA TRATADA CON IRRADIACIONES. B) PECIOLO DE UNA PLANTA NO TRATADA. (TOMADA DE: WU & WU 2007) .....	7
FIGURA 5. ESPECTRO DE EXCITACIÓN FOTOACÚSTICA DE UNA HOJA VERDE DE RÁBANO (FRECUENCIA DE MODULACIÓN 20 Hz, NORMALIZADO A 540nm), SIN DCMU Y CON DCMU AÑADIDO (A): 20 MM, (B): 0,1 MM DEL INHIBIDOR DE FOTOSÍNTESIS DCMU (TOMADA DE: BUSCHMAN, PREHN & LICHTENTHALER 1984) .....	8
FIGURA 6. ESPECTRO DE ABSORCIÓN ÓPTICO DE PLANTAS DE LIRIO ACUÁTICO IRRADIADO Y SIN IRRADIAR. (TOMADA DE: CARDONA 2009) .....	11
FIGURA 7. CONTRIBUCIÓN DE LA SEÑAL FOTOBÁRICA Y FOTOTÉRMICA DE LA SEÑAL FOTOACÚSTICA DE LIRIO ACUÁTICO ANTES Y DESPUÉS DE HABER SIDO EXPUESTOS A IRRADIACIÓN ULTRASÓNICA. (TOMADA DE: CALDERÓN ET AL 2014) .....	12
FIGURA 8 EL CLOROPLASTO. (TOMADA DEL SITIO DE INTERNET: <a href="http://www.biografiasyvidas.com">HTTP://WWW.BIOGRAFIASYVIDAS.COM</a> ) .....	16
FIGURA 9. BIOQUÍMICA DE LA FIJACIÓN DEL CO <sub>2</sub> EN PLANTAS C <sub>4</sub> . (TOMADA DE: CAMBIOCLIMATICOENERGIA.BLOGSPOT.MX/) .....	17
FIGURA 10. FOTOFOSFORILACIÓN. FUENTE: (CURTIS, BARNES, SCHNEK, & MASSARINI, 2008). .....	18
FIGURA 11. CONVERSIÓN ENERGÉTICA (TOMADA DE SPIKE 2006). .....	19
FIGURA 12. EL FOTÓFONO. (TOMADA DE: SPIKE 2006). .....	20
FIGURA 13. EFECTOS GENERADOS POR LA INCIDENCIA PULSADA DE UN HAZ DE LUZ (TOMADA DEL SITIO DE INTERNET <a href="http://www.mda.cinvestav.mx">HTTP://WWW.MDA.CINVESTAV.MX</a> ) .....	20
FIGURA 14. ESQUEMA DE LA TÉCNICA DE ESPECTROSCOPIA FOTOACÚSTICA. (A) LÁMPARA. (B) MONOCROMADOR. (C) MODULADOR (CHOPPER). (D) CELDA FOTOACÚSTICA. (E) AMPLIFICADOR LOCK-IN. (F) PC .....	22
FIGURA 15. LÁMPARA QTH 66885 (SPECTRA PHYSICS). .....	23
FIGURA 16. MONOCROMADOR CORNERSTONE 130 Y CONTROLADOR. ....	24
FIGURA 17. CHOPPER DE 6 ASPAS Y CONTROLADOR SR340 STANFORD RESEARCH. ....	24
FIGURA 18. CELDA FOTOACÚSTICA MTEC 300. ....	25
FIGURA 19. AMPLIFICADOR LOCK-IN SR850. ....	26
FIGURA 20. SEÑAL FOTOACÚSTICA A UNA FASE EXPRESADA COMO UNA FUNCIÓN DE LAS COMPONENTES DE FASE S <sub>0</sub> Y CUADRATURA S <sub>90</sub> . ....	27
FIGURA 21. ANGULO DE SEPARACIÓN $\Phi$ ENTRE DOS VECTORES DE LONGITUD S <sub>A</sub> Y S <sub>B</sub> . ....	28
FIGURA 22. DISEÑO EXPERIMENTAL DE MEDICIÓN DE LA TFA-T PARA MONITOREO DE LA TASA FOTOSINTÉTICA. (1) LÁMPARA DE XENÓN, (2) CHOPPER, (3) MONOCROMADOR, (4) CÁMARA FA CON LA MUESTRA, (5) INTERFACE, (6) FILTRO IR DE AGUA, (7) AMPLIFICADOR LOCK-IN, (8) COMPUTADOR, (9) GRÁFICO, (10) FUENTE DE LUZ CONTINUA. ....	29

FIGURA 23. RESPUESTA FOTOBÁRICA EN LA AMPLITUD DE LA SEÑAL FA DE LIRIO ACUÁTICO. (CALDERÓN Y CARDONA, 2008). .....	30
FIGURA 24. PLANTAS DE LIRIO ACUÁTICO EN CONSERVACIÓN EN EL ACUARIO-INVERNADERO IMPLEMENTADO. ....	32
FIGURA 25. CONFIGURACIÓN DEL SISTEMA DE IRRADIACIÓN. A) FUENTE CD; B) CIRCUITO; C) AMPLIFICADOR; D) FUENTE CA; E) SOFTWARE DE CONTROL DE FRECUENCIA; F) ESTUDIO DE IRRADIACIÓN; G) TRANSDUCTORES; H) LIRIO ACUÁTICO .....	33
FIGURA 26. MUESTRA DE LA HOJA DE LIRIO ACUÁTICO. A) CORTE DE LA HOJA. B) COLOCACIÓN EN EL PORTAMUESTRAS DE LA CELDA. ....	34
FIGURA 27. SISTEMA DE ESPECTROSCOPIA FOTOACÚSTICA UTILIZADO EN EL LABORATORIO. ....	35
FIGURA 28. SELECCIÓN DE PUNTOS EN LA HOJA DE LIRIO ACUÁTICO PARA LA MEDIDA DE ESPESOR PROMEDIO. ....	38
FIGURA 29. ESPECTROS DE EXCITACIÓN FOTOACÚSTICA DE LIRIO ACUÁTICO NO IRRADIADO A DISTINTAS FRECUENCIAS DE MODULACIÓN. — 7 Hz; — 9 Hz; — 11 Hz; — 13 Hz; — 15 Hz; — 17 Hz. ....	39
FIGURA 30. ESPECTROS DE EXCITACIÓN FOTOACÚSTICA DE LIRIO ACUÁTICO NO IRRADIADO E IRRADIADO A 4kHz Y 20W, Y A 1, 3, 6, 9 Y 12 DÍAS DESPUÉS DE LA IRRADIACIÓN. — LIRIO NO IRRADIADO; — Día 01; — Día 03; — Día 06; — Día 09; — Día 12. ....	40
FIGURA 31. LIRIO IRRADIADO A 4kHz – 20W, INMEDIATAMENTE DESPUÉS DE LA IRRADIACIÓN. ....	41
FIGURA 32. LIRIO IRRADIADO A 4kHz – 20W, 12 DÍAS DESPUÉS DE LA IRRADIACIÓN. ....	41
FIGURA 33. ESPECTROS DE EXCITACIÓN FOTOACÚSTICA DE LIRIO ACUÁTICO NO IRRADIADO E IRRADIADO A 4 kHz Y 25 W, Y A 1, 3, 6, 9 Y 12 DÍAS DESPUÉS DE LA IRRADIACIÓN. — LIRIO NO IRRADIADO; — Día 01; — Día 03; — Día 06; — Día 09; — Día 12. ....	42
FIGURA 34. LIRIO IRRADIADO A 4kHz – 25W, INMEDIATAMENTE DESPUÉS DE LA IRRADIACIÓN. ....	43
FIGURA 35. LIRIO IRRADIADO A 4kHz – 25W, 12 DÍAS DESPUÉS DE LA IRRADIACIÓN. ....	43
FIGURA 36. ESPECTROS DE EXCITACIÓN FOTOACÚSTICA DE LIRIO ACUÁTICO NO IRRADIADO E IRRADIADO A 4 kHz Y 30 W, Y A 1, 3, 6, 9 Y 12 DÍAS DESPUÉS DE LA IRRADIACIÓN. — LIRIO NO IRRADIADO; — Día 01; — Día 03; — Día 06; — Día 09; — Día 12. ....	44
FIGURA 37. LIRIO IRRADIADO A 4kHz – 30W, INMEDIATAMENTE DESPUÉS DE LA IRRADIACIÓN. ....	45
FIGURA 38. LIRIO IRRADIADO A 4kHz – 30W, 12 DÍAS DESPUÉS DE LA IRRADIACIÓN. ....	45
FIGURA 39. ESPECTROS DE EXCITACIÓN FOTOACÚSTICA DE LIRIO ACUÁTICO NO IRRADIADO E IRRADIADO A 4 kHz Y 35 W, Y A 1, 3, 6, 9 Y 12 DÍAS DESPUÉS DE LA IRRADIACIÓN. — LIRIO NO IRRADIADO; — Día 01; — Día 03; — Día 06; — Día 09; — Día 12. ....	46
FIGURA 40. LIRIO IRRADIADO A 4kHz – 35W, INMEDIATAMENTE DESPUÉS DE LA IRRADIACIÓN. ....	47
FIGURA 41. LIRIO IRRADIADO A 4kHz – 35W, 12 DÍAS DESPUÉS DE LA IRRADIACIÓN. ....	47
FIGURA 42. ESPECTRO DE EXCITACIÓN FOTOACÚSTICA DE UNA MUESTRA DE LIRIO ACUÁTICO NO IRRADIADO, EMPLEANDO 13 Hz DE FRECUENCIA DE MODULACIÓN. ....	48
FIGURA 43. ESPECTRO DE ABSORCIÓN DE LOS PRINCIPALES PIGMENTOS FOTOSINTÉTICOS. ....	49
FIGURA 44. ÁNGULOS DE SEPARACIÓN ENTRE SA Y SB PARA LA TÉCNICA DE SEPARACIÓN DE LAS FASES. ....	50
FIGURA 45. SEPARACIÓN DE FASES DEL ESPECTRO DE UNA MUESTRA DE LIRIO ACUÁTICO NO IRRADIADO, EMPLEANDO 13 Hz DE FRECUENCIA DE MODULACIÓN. ....	51
FIGURA 46. SEPARACIÓN DE FASES DEL ESPECTRO DE UNA MUESTRA DE LIRIO ACUÁTICO IRRADIADO A 4 kHz Y 30 W, DESPUÉS DE 12 DÍAS DESPUÉS DE LA IRRADIACIÓN. ....	52
FIGURA 47. ESQUEMA DE LA TÉCNICA DE ESPECTROSCOPIA FOTOACÚSTICA RESUELTA EN TIEMPO. ....	54

FIGURA 48. CELDA FOTO ACÚSTICA ABIERTA: (A) FIBRA ÓPTICA BIFURCADA, (B) VENTANA DE CUARZO, (C) CÁMARA FOTOACÚSTICA, (D) DETECTOR ACÚSTICO, (E) MUESTRA DE LIRIO, (F) SOPORTE DE VIDRIO, (G) RESPUESTA FOTOTÉRMICA Y FOTOBÁRICA (H) VÁLVULA DE ESCAPE. ....	55
FIGURA 49. CONTRIBUCIÓN FOTOBÁRICA Y FOTOTÉRMICA DE LA SEÑAL PA, MEDIDA EN FUNCIÓN DE TIEMPO PARA HOJAS DE LIRIO ACUÁTICO ANTES, 1 Y 12 DÍAS DESPUÉS DE HABER SIDO IRRADIADO A UNA FRECUENCIA DE 4 KHZ Y 5 W DE POTENCIA DURANTE 1 H. — LIRIO NO IRRADIADO; — Día 01; — Día 12.....	56
FIGURA 50. LIRIO ACUÁTICO ANTES DE LA IRRADIACIÓN A 1 H, EMPLEANDO UNA FRECUENCIA DE 4KHZ Y 30W DE POTENCIA. ....	57
FIGURA 51. LIRIO ACUÁTICO 12 DÍAS DESPUES DE LA IRRADIACIÓN A 1 H, EMPLEANDO UNA FRECUENCIA DE 4KHZ Y 30W DE POTENCIA. ....	58
FIGURA 52. CONTRIBUCIÓN FOTOBÁRICA Y FOTOTÉRMICA DE LA SEÑAL PA, MEDIDA EN FUNCIÓN DE TIEMPO PARA HOJAS DE LIRIO ACUÁTICO ANTES, 1 Y 12 DÍAS DESPUÉS DE HABER SIDO IRRADIADO A UNA FRECUENCIA DE 4 KHZ Y 5 W DE POTENCIA DURANTE 3 H. — LIRIO NO IRRADIADO; — Día 01; — Día 12.....	59
FIGURA 53. LIRIO ACUÁTICO ANTES DE LA IRRADIACIÓN A 1 H, EMPLEANDO UNA FRECUENCIA DE 4KHZ Y 30W DE POTENCIA. ....	60
FIGURA 54. LIRIO ACUÁTICO 12 DÍAS DESPUÉS DE LA IRRADIACIÓN A 3 H, EMPLEANDO UNA FRECUENCIA DE 4KHZ Y 30W DE POTENCIA. ....	60
FIGURA 55. CONTRIBUCIÓN FOTOBÁRICA Y FOTOTÉRMICA DE LA SEÑAL PA, MEDIDA EN FUNCIÓN DE TIEMPO PARA HOJAS DE LIRIO ACUÁTICO ANTES, 1 Y 12 DÍAS DESPUÉS DE HABER SIDO IRRADIADO A UNA FRECUENCIA DE 4 KHZ Y 5 W DE POTENCIA DURANTE 5 H. — LIRIO NO IRRADIADO; — Día 01; — Día 12.....	61
FIGURA 56. LIRIO ACUÁTICO ANTES DE LA IRRADIACIÓN 5 H, EMPLEANDO UNA FRECUENCIA DE 4KHZ Y 30W DE POTENCIA. ....	62
FIGURA 57. LIRIO ACUÁTICO 12 DÍAS DESPUÉS DE LA IRRADIACIÓN A 5 H, EMPLEANDO UNA FRECUENCIA DE 4KHZ Y 30W DE POTENCIA. ....	62
FIGURA 58. CONTRIBUCIÓN FOTOBÁRICA Y FOTOTÉRMICA DE LA SEÑAL PA, MEDIDA EN FUNCIÓN DE TIEMPO PARA HOJAS DE LIRIO ACUÁTICO ANTES, 1 Y 12 DÍAS DESPUÉS DE HABER SIDO IRRADIADO A UNA FRECUENCIA DE 4 KHZ Y 5 W DE POTENCIA DURANTE 5 H. — LIRIO NO IRRADIADO; — Día 01; — Día 12.....	63
FIGURA 59. LIRIO ACUÁTICO ANTES DE LA IRRADIACIÓN A 7 H, EMPLEANDO UNA FRECUENCIA DE 4KHZ Y 30W DE POTENCIA. ....	64
FIGURA 60. LIRIO ACUÁTICO 12 DÍAS DESPUÉS DE LA IRRADIACIÓN A 7 H, EMPLEANDO UNA FRECUENCIA DE 4KHZ Y 30W DE POTENCIA. ....	64
FIGURA 61. EL ESTOMA Y SUS COMPONENTES. (OBTENIDO DE LA PÁGINA EN INTERNET: <a href="http://ANATOMIAVEGETAL.WEEBLY.COM">HTTP://ANATOMIAVEGETAL.WEEBLY.COM</a> ).....	65
FIGURA 62. MICROGRAFÍA DE LA ESTOMA DE LIRIO ACUÁTICO. A) LIRIO ACUÁTICO NO IRRADIADO. B) LIRIO ACUÁTICO IRRADIADO A 17 KHZ. (TOMADA DE: CARDONA 2009) .....	66
FIGURA 63. TASA DE TRANSPIRACIÓN DE LAS HOJAS DE LIRIO ACUÁTICO NO IRRADIADO E IRRADIADO EN EL BARRIDO DE 10, 20, 30, 40 Y 50 W A UNA FRECUENCIA DE 17 KHZ .....	67

# I. Introducción

La necesidad de preservar y proteger el medio ambiente se ha convertido en una prioridad para el hombre durante las últimas décadas. Uno de los principales ecosistemas afectados por la contaminación son los cuerpos de agua a nivel mundial, los cuales, pueden ser perjudicados por distintos tipos de contaminación. Una forma importante, es la contaminación biológica, en la cual, intervienen distintos tipos de organismos vivos que provocan un desequilibrio natural al ambiente, entre los cuales, se destacan las malezas.

Dentro de las malezas más peligrosas a nivel mundial se encuentra el Jacinto de agua o lirio acuático, debido a las problemáticas ambientales, sociales y económicas que conlleva la infestación de los ecosistemas acuáticos con esta planta.

## Antecedentes

### a. El lirio acuático y su problemática

Uno de los principales tipos de contaminación biológica en los cuerpos de agua en México es ocasionado por especies de plantas acuáticas introducidas desde otros países (Bonilla-Barbosa 2013). El aumento de la población de estos seres, presenta cierta complejidad para su control natural, ocasionando que estas se conviertan en una maleza. En particular, el lirio acuático (*Eichhornia crassipes*), también conocido como Jacinto de agua (Figura 1), se ha convertido en los últimos años en una de las malezas más problemáticas a nivel mundial (Cohen & Carlton 1995).

En México, el lirio acuático se distribuye con amplitud principalmente en los cuerpos de agua dulce, desarrollándose en una gran diversidad de hábitats dulceacuícolas, localizados a nivel del mar y hasta los 2,250 metros de altitud (Miranda & Lot 1999); y de acuerdo con Villaseñor y Espinosa (Villaseñor & Espinoza 1998), esta planta se distribuye en más de veinte estados en el país.



Figura 1. Lirio acuático (*Eichhornia crassipes*).

En individuos adultos, el Jacinto de agua posee peciolo alargados que sobresalen de la superficie, de los cuales surgen grandes hojas delgadas en forma de roseta. Su raíz presenta varias ramificaciones secundarias y el tamaño de esta puede alcanzar hasta los 100 centímetros (González 1996). Se trata de una especie proveniente de Sudamérica, específicamente de la región amazónica brasileña, y pertenece a la familia *Pontederiaceae*, la cual es capaz de generar una gran cantidad de biomasa en poco tiempo a causa de la alta tasa fotosintética que pueden alcanzar.

Esta planta muestra, además, una rápida adaptación a diferentes hábitats y un sistema en el cual las raíces no necesitan estar sujetas al sustrato para obtener sus nutrientes (ver Figura 2), consiguiéndolos directamente del agua. Esto ocasiona que las corrientes de agua o del viento permitan la dispersión de las plantas, provocando una mayor propagación en los cuerpos de agua. Cohen y Carlton (Cohen & Carlton 1995), reportan que es capaz de reproducirse asexualmente por la separación de varios miembros de un racimo, de los cuales, cada uno se desarrolla en una planta separada.

La infestación de los cuerpos de agua con esta maleza, presenta una diversidad de consecuencias desfavorables, tanto ambientales como sociales y económicas.

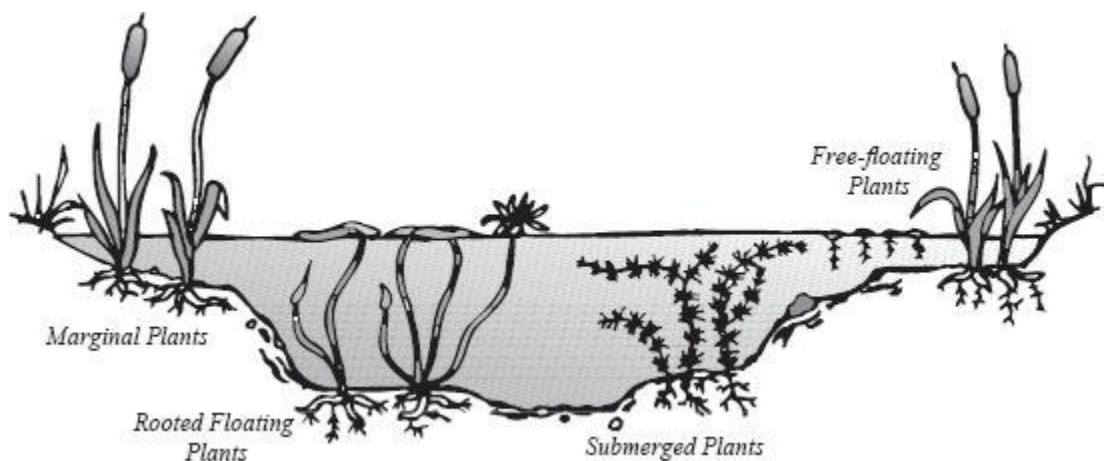


Figura 2. Plantas Flotantes (Tomada del sitio de internet [thewatergardenshop.com](http://thewatergardenshop.com)).

En cuanto a su impacto ambiental, su proliferación provoca el aumento significativo de la evapotranspiración en su entorno, y de acuerdo a estudios realizados por Quiroz (Quiroz-Flores et al 2008) y Ramil (Ramil-Rego et al 2015), el agua evaporada es tres veces mayor en un cuerpo de agua infestado con lirio acuático, a diferencia de cuando no había presencia de esta planta. Otra consecuencia importante es la eutrofización, debido a la incapacidad del paso de la luz solar y el inadecuado flujo de oxígeno por la presencia de estas plantas. Además de esto, Quiroz encontró que la temperatura disminuye algunos grados cuando los cuerpos de agua son infestados con lirio acuático, lo cual es atribuido a la radiación solar que absorben las plantas impidiendo que lleguen hasta la superficie del agua (Quiroz-Flores et al 2008). Por otro lado, la invasión de mantos acuíferos por el lirio acuático también promueve la generación de vectores transmisores de enfermedades a las poblaciones aledañas a los cuerpos de agua (CANEI 2010).

En cuerpos de agua en donde se desarrollan actividades económicas, la infestación con estas plantas ocasiona principalmente la obstrucción de la navegación de las embarcaciones (dedicadas al comercio y transporte), así como afectaciones en la pesca debido al desplazamiento de especies endémicas, ocasionado por cambios fisicoquímicos en el agua debidos a la presencia de esta maleza. Entre los principales cambios fisicoquímicos reportados (Quiroz-Flores et al 2008) se encuentran la disminución de la disponibilidad de nutrientes en el agua, y modificaciones en el flujo de gases en el agua (como el oxígeno) principalmente.



---

Para combatir estas infestaciones con lirio acuático y los impactos negativos que su presencia provoca al ambiente se han empleado distintos métodos de control, los cuales no han conseguido ser totalmente efectivos, económicamente viables o amigables con el medio ambiente.

b. Mecanismos para el control del lirio acuático

De acuerdo con Miranda y Lot (Miranda & Lot 1999) el lirio acuático es una de las malezas o plantas invasoras con una mayor problemática para su exterminación en los acuíferos utilizados por el hombre. Diferentes métodos han sido utilizados con el fin de controlar esta maleza, entre los cuales se destacan técnicas mecánicas (como la draga mecánica) y el uso de químicos y métodos biológicos, los cuales siguen siendo hasta ahora ineficientes, económicamente costosos o perjudiciales al medio ambiente.

El método mecánico más empleado, para la eliminación del lirio acuático ha sido la recolección de las plantas, ya bien mecanizada o manual (Figura 3). Cohen y Carlton (Cohen & Carlton 1995) reportan que en algunas zonas la eliminación del Jacinto utilizando la recolección mecánica puede ser un problema, por lo tanto, se convierte en un método caro. Además, se debe tomar en consideración el rápido nacimiento de nuevas plantas, por tanto, la recolección de las plantas debe realizarse periódicamente, lo que ocasiona el incremento en los costos.



*Figura 3. Método mecánico (dragas) para el control de lirio acuático. (Tomada del sitio de internet: <http://www.hobbykwekers.nl>)*

El uso de sustancias químicas y agentes biológicos son métodos que se han reportado para la erradicación de esta maleza. En general, el uso de químicos es en tanto complejo, ya que se requiere conocer las especies endémicas del lugar y su compatibilidad a soportar los herbicidas y los cambios químicos que estos provocan en el agua al ser introducidos. Se reporta que, en 1982, el Senado de California, para controlar el Jacinto de agua, creó barreras para contener a grandes masas de plantas flotantes de los canales de navegación y aplicar los herbicidas Weedar (Ácido 2,4-diclorofenoxiacético), Diquat (9,10-Dihidro-8a, 10a-diazoniafenantreno dibromuro) y Rodeo (Glifosato) lo cual significaba un costo anual muy elevado (Cohen & Carlton 1995).

El Instituto Mexicano de la tecnología del Agua, reporta que el método biológico para el control del lirio debe utilizarse en combinación con algún otro método, ya que sus resultados son lentos, y es útil solo como sistema para mantener el equilibrio del volumen de la maleza, una vez utilizado otro método (IMTA 1989).

---

c. Resultados de la irradiación sónica y ultrasónica en plantas acuáticas y hongos.

En el intento de estudiar los efectos de la irradiación en algunas malezas, principalmente organismos fotosintéticos acuáticos y terrestres, como hongos, se han realizado estudios desde hace ya algunos años; sin embargo, existe una cantidad limitada de información acerca de este tema en la literatura.

En 1928, Harvey y su equipo (Harvey & Loomis 1928) sometieron muestras de Elodea (*Egeria densa*) a vibraciones ultrasónicas mediante un oscilador de 75 W. Observaron, mediante el uso del microscopio, un desorden y rupturas de estructuras celulares en la planta acuática sometida a una irradiación de 400 kHz. Ellos atribuyeron este efecto a mecanismos no térmicos, ya que la temperatura de la hoja nunca excedió 30 °C durante la irradiación.

Mientras que, en 1979, Miller D. (Miller 1979) reportó que con la exposición moderada (por ejemplo, de 1 a 10 W/cm<sup>2</sup> durante varios minutos) de Elodea (*Egeria densa*) a irradiaciones, empleando frecuencias en un intervalo de 0.8 a 2.3 MHz, se pueden encontrar efectos biológicos importantes, como anomalías cromosómicas, muerte celular, destrucción de las estructuras celulares, y reducción de las tasas de crecimiento. Mencionan además la injerencia de algunos mecanismos no térmicos, tales como la cavitación, que a menudo son sugeridos como responsables de los efectos observados.

Años más tarde, Mei-Yin Wu y J. Wu (Wu & Wu 2007), llevaron a cabo irradiaciones ultrasónicas en castaña de agua (*Trapa natans* L.), la cual se considera como una maleza acuática nociva ya que su crecimiento agresivo, por lo general, resulta en una cobertura completa de la superficie del agua con hojas flotantes. Emplearon transductores sumergidos y colocados directamente hacia las castañas de agua, usando frecuencias de irradiación ultrasónicas de 20 kHz, 100 kHz, 500 kHz, 1 MHz y 2 MHz, causando daños sustanciales a las células vegetales y tejidos de los pecíolos irradiados. Observaron también que las frecuencias de 20 kHz causaron el daño celular más significativo, después de 10 segundos de exposición al campo de radiación. La tasa de mortalidad de las plantas castaña de agua, irradiadas con ultrasonido dirigido directamente a la planta, fue del 97% a causa del grave daño observado.

---

a.



b.



Figura 4. Castaña de Agua (*Trapa natans* L.). A) Peciole una muestra tratada con irradiaciones. B) Peciole de una planta no tratada. (Tomada de: Wu & Wu 2007)

d. La técnica fotoacústica en el estudio de la fotosíntesis en plantas.

Un método eficiente y confiable para analizar la salud de los organismos fotosintéticos es a través del comportamiento de su actividad fotosintética. Buschman y colaboradores (Buschman Prehn & Lichtenthaler 1984) describen las técnicas fotoacústicas como un conjunto de métodos capaces de permitir la caracterización y análisis de sustancias y materiales opacos, tales como polvos, sólidos, geles, suspensiones y tejidos como hojas y piel, siendo insensible esta técnica a fenómenos de dispersión de la luz. También mencionan que estas técnicas nos permiten llevar a cabo estudios de las propiedades ópticas y térmicas de las muestras, y proveer de información acerca de los estados de excitación de moléculas. Estas características hacen que las técnicas fotoacústicas sean apropiadas para el estudio de material biológico *in vivo*. Las técnicas fotoacústicas en material vegetal se han utilizado desde 1976 para la caracterización espectroscópica, la detección de los pigmentos del fitoplancton, y para el estudio de la actividad fotosintética de algunas plantas (Buschman, Prehn & Lichtenthaler 1984).

Uno de los principales usos de las técnicas fotoacústicas es la obtención de los espectros de absorción, proporcionales a la señal fotoacústica en relación a la longitud de onda de la luz de excitación. Estos espectros corresponden a los espectros de absorción medidos por técnicas convencionales de espectroscopía de absorbancia espectral.

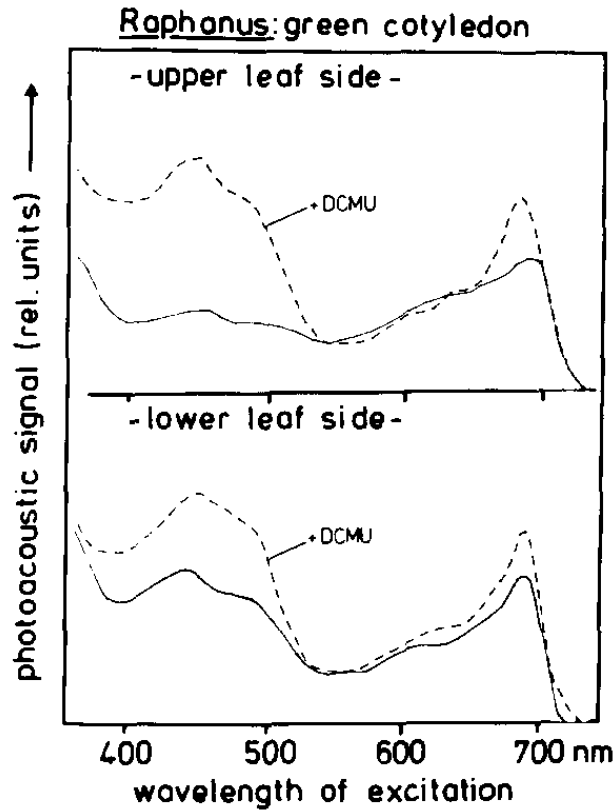


Figura 5. Espectro de excitación fotoacústica de una hoja verde de Rábano (frecuencia de modulación 20 Hz, normalizado a 540nm), sin DCMU y con DCMU añadido (a): 20 mM, (b): 0,1 mM del inhibidor de fotosíntesis DCMU (Tomada de: Buschman, Prehn & Lichtenthaler 1984)

Los pigmentos vegetales se pueden detectar por la técnica fotoacústica aplicada directamente en las hojas. En el trabajo anteriormente mencionado, Buschman (Buschman, Prehn & Lichtenthaler 1984) obtuvieron los espectros de excitación fotoacústica (ver Figura 5) de ambos lados de una hoja del cotiledón totalmente verde de Rábano (*Raphanus*). Fue empleada una modulación de frecuencia de 20 Hz y normalizada a una longitud de onda de 540 nm. Las hojas del rábano fueron estudiadas con y sin el inhibidor DCMU (Diurón, 3-(3,4-diclorofenil)-1,1 dimetilurea). Ellos demuestran que la inhibición de una muestra fotosintéticamente activa se puede lograr mediante la incubación con inhibidores de fotosíntesis, tales como DCMU.

---

Por otra parte, una forma de analizar la evolución del oxígeno fotosintético, se puede utilizar una saturación de luz blanca (modulada), que ilumina la muestra durante la medición. La luz blanca satura los centros de reacción y convierte la luz de excitación modulada aplicada exclusivamente en calor y fluorescencia (Bults et al 1981).

En esta dirección, Bults y compañía (Bults et al 1981) determinaron el efecto de la incidencia de luz de fondo blanca en la señal fotoacústica de una hoja de *Nicotiana tabacum*, la cual fue medida a frecuencias de modulación de 425, 150 y 15 Hz de frecuencia y una longitud de onda de 680 nm (14 W/m). En las hojas fotosintéticamente activas, la luz blanca inducida provocó un aumento de la señal fotoacústica (efecto positivo) solo en las frecuencias de modulación superiores a 200 Hz. En la modulación de frecuencias más bajas, se observó una disminución de la señal fotoacústica (efecto negativo). En este trabajo mencionan que la evolución pulsada de oxígeno debido a las frecuencias de modulación, se presenta como contribución a la señal fotoacústica.

---

## Estado del Arte

a. La técnica fotoacústica en el estudio del efecto de la irradiación sónica y ultrasónica en lirio acuático.

Con la finalidad de estudiar el efecto las irradiaciones en plantas de lirio acuático, actualmente se han estado realizando investigaciones implementando la técnica de Espectroscopia Fotoacústica (EFA) que permite obtener espectros de absorción de la actividad fotosintética de las plantas.

Estudios realizados en 2008 por Cardona (Cardona et al 2008) demuestran el efecto fotosintético de plantas de lirio acuático en una celda fotoacústica cerrada. Utilizando la técnica fotoacústica resuelta en tiempo (TFA-t) consiguieron monitorear el proceso de fotosíntesis en plantas, mediante mediciones *in situ*, no invasivas y no destructivas. Sugieren por lo tanto el uso de esta metodología para estudios de control de esta planta acuática.

En 2009, A. Cardona en su tesis (Cardona 2009) determinó mediante EFA una disminución en la amplitud de las bandas de absorción centradas en 450 y 665 nm, características de los pigmentos fotosintético como las clorofilas *a* y *b*, como se muestra en la Figura 6, una vez sometida la planta a radiación ultrasónica, a una frecuencia de 17 kHz con una densidad de potencia igual a  $1.5 \text{ mW/cm}^2$ , durante un tiempo de 4.30 horas. Además de demostrar un daño notable en algunos componentes de la planta, los cuales tienen gran importancia en la actividad fotosintética.

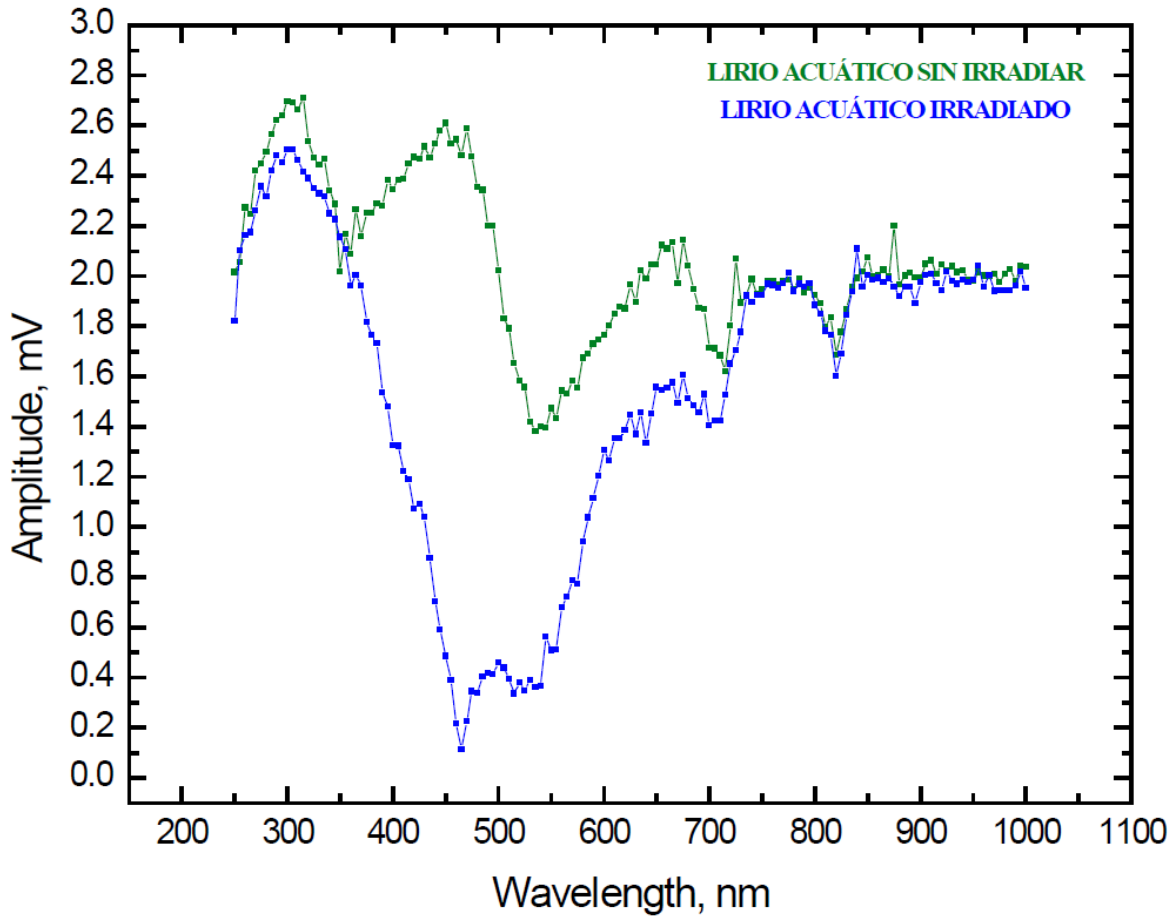


Figura 6. Espectro de absorción óptica de plantas de lirio acuático irradiado y sin irradiar. (Tomada de: Cardona 2009)

Un par de años más tarde, Calderón y colaboradores (Calderón et al 2014) observaron el daño causado por la cavitación inducida en la estructura acuosa de la planta lirio acuático, mediante la TFA-*t*, una disminución en la actividad fotosintética del lirio acuático, a través de las contribuciones fotobárica y fototérmica de la señal de fotoacústica, en hojas del lirio después de haber sido expuestos a irradiación ultrasónica durante 1 hora utilizando 17 kHz y 1.5 mW/cm<sup>2</sup>. Se observó una disminución en la generación de oxígeno fotosintético principalmente 25.5 horas después de la irradiación (ver Figura 7).



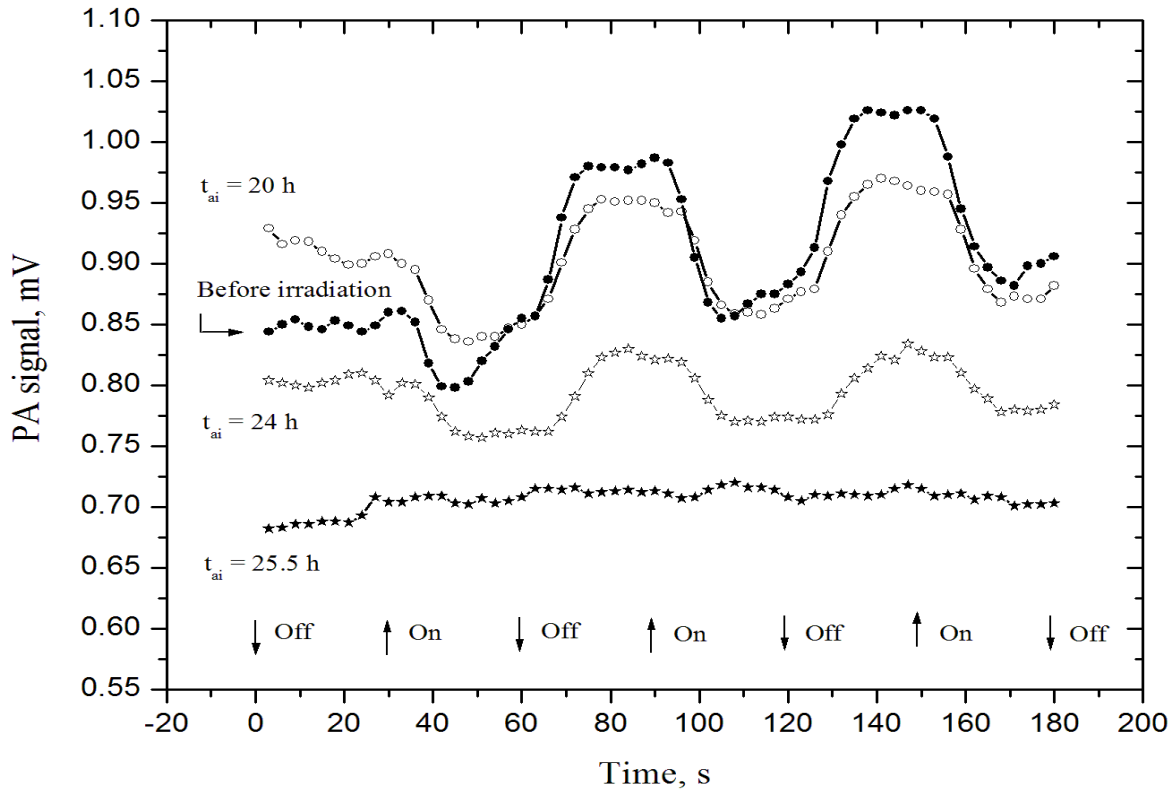


Figura 7. Contribución de la señal fotobárica y fototérmica de la señal fotoacústica de lirio acuático antes y después de haber sido expuestos a irradiación ultrasónica. (Tomada de: Calderón et al 2014)

En 2015, Jeniffer Calderón (Calderón 2015), llevo a cabo irradiación a plantas de lirio acuático, utilizando diferentes frecuencias en la zona audible y ultrasónica. Utilizó el sistema Li-COR 6400XT para el monitoreo de algunas variables de relacionadas con la transpiración y la fluorescencia de las plantas, antes y después de la exposición a la irradiación. Se evidenció la inhibición de la actividad fotosintética de las plantas de lirio acuático varios días después de la exposición a las irradiaciones, así como una disminución significativa de la tasa de transpiración, la cual ella atribuye posiblemente al fenómeno de la cavitación.

Además, con el fin de analizar el efecto de las irradiaciones sobre la actividad fotosintética, obtuvo los espectros de absorción ópticos en el rango visible (longitudes de ondas donde se ubican los pigmentos fotosintéticos) mediante la Técnica de Espectroscopia Fotoacústica, antes y después de la irradiación. Los mejores resultados los consiguió para una irradiación a la frecuencia sónica de 5 kHz y en el umbral inferior ultrasónico de 17 kHz, y para potencias entre 20 y 30 W.

---

## Descripción del problema

Debido a la insuficiente información existente sobre algún método eficiente y económico para el control de malezas en cuerpos de agua, las cuales, se han convertido en un serio problema que afecta a las sociedades y actividades económicas, se ha propuesto un método que ha demostrado afectar el proceso fotosintético y el mecanismo de intercambio de gases de plantas de lirio acuático, empleando el uso de irradiaciones sónicas y ultrasónicas.

Esta metodología ha sido estudiada anteriormente por diferentes autores, sin embargo, hasta ahora solo se cuenta con pocos reportes acerca de los daños generados al lirio acuático para frecuencias sónicas de 4 Khz. Debido a resultados positivos a esta frecuencia surge la propuesta de estudiar los efectos de la irradiación en el lirio acuático para obtener información acerca de las condiciones de irradiación (frecuencia, potencia y tiempo de exposición) que intensifiquen la generación de daños a estas plantas.

## Justificación

Uno de los principales problemas de contaminación de los cuerpos de agua en todo el mundo, ha sido a causa de las infestaciones con lirio acuático, las cuales, tienen como consecuencia que se vean afectadas una diversidad de actividades económicas en los sitios ocupados por esta maleza, así también, los efectos negativos provocados al medio ambiente como el aumento de la evapotranspiración, la eutrofización de los cuerpos de agua y propagación de vectores transmisores de enfermedades. Por lo tanto, existe la necesidad de implementar una metodología efectiva y de bajo costo con los parámetros óptimos de frecuencia, intensidad y tiempos de exposición, que permitan controlar y/o erradicar este tipo de amenazas.

Este trabajo aporta resultados que pueden contribuir a la implementación de un método, que mediante el uso de irradiación sónica, permita producir el fenómeno de la cavitación en las estructuras acuosas de las plantas de lirio acuático y con esto, producir efectos y posibles daños en su actividad fotosintética y/o el mecanismo de intercambio de gases, que inhiban el desarrollo de las plantas.

---

## Objetivo General

Generación de conocimiento sobre el efecto de la irradiación sónica (frecuencias, intensidades y tiempos de exposición), para inducir cavitación en las estructuras acuosas de las plantas de lirio acuático, así como de los daños producidos en las estructuras celulares y en el proceso fotosintético, con el fin de inhibir su desarrollo y propagación.

## Objetivos Específicos

- 1) Configuración y aplicación de generadores sónicos con intensidades y rangos de frecuencia útiles en el estudio del efecto de la irradiación en plantas.
- 2) Determinación de los niveles de intensidad, intervalos de frecuencias y tiempos de exposición característicos de la irradiación sónica que induzcan y magnifiquen el fenómeno de cavitación en medios acuosos, en particular que provoquen rupturas y daños en las estructuras celulares en plantas de lirio acuático, fundamentalmente en los cloroplastos para inhibir su desarrollo y propagación.
- 3) Monitoreo de los cambios estructurales en las plantas del lirio acuático por efecto de la irradiación sónica con diversos valores de frecuencias, intensidades y tiempos de exposición.
- 4) Configuración y aplicación de la técnica fotoacústica, resuelta en tiempo, en el monitoreo del efecto de las irradiaciones sónicas en la evolución de la respuesta fototérmica y fotobárica de las plantas de lirio acuático.
- 5) Configuración de la técnica de Espectroscopía Fotoacústica, y su aplicación en el estudio del efecto de las irradiaciones sónicas en los espectros de absorción óptico de las plantas de lirio acuático.
- 6) Separación espectral de las bandas de absorción de los pigmentos fotosintéticos obtenidos mediante espectroscopía fotoacústica aplicando la técnica de separación de la fase.

---

## Descripción del contenido de cada capítulo

El presente trabajo consta de 4 capítulos, los cuales se encuentran estructurados de la siguiente manera: El Capítulo II, presenta una revisión de conceptos que servirán como para el desarrollo de la parte experimental del trabajo, como son principalmente, el proceso de fotosíntesis, la Técnica Fotoacústica y la técnica de separación de fases y el efecto fotoacústica resuelto en tiempo.

El Capítulo III describe el esquema de medición y el análisis mediante Espectroscopía Fotoacústica (EFA) y la Técnica de la Separación de la Fase (TSF) de los espectros de absorción de los pigmentos fotosintéticos, para el monitoreo de los efectos causados por las irradiaciones a las estructuras encargadas de la captación de luz y con importancia en el proceso fotosintético.

En el Capítulo IV se presenta esquema de medición y el análisis mediante Técnica Fotoacústica resuelta en tiempo (TFA-*t*), la cual nos permite realizar mediciones *in situ*, no invasivas y no destructivas a las hojas de lirio acuático, con la finalidad de realizar seguimiento de las de evolución de oxígeno mediante las contribuciones fototérmica y fotobárica a la señal fotoacústica de muestras de lirio acuático irradiadas.

El capítulo V presenta las conclusiones del presente trabajo.

---

## II. Fundamentos Teóricos

### a. El proceso de fotosíntesis en plantas acuáticas

El principal objetivo de la fotosíntesis es la producción de energía necesaria para el desarrollo físico de la planta. El proceso global consiste en la oxidación del agua (eliminación de electrones con liberación de oxígeno como subproducto) y la reducción de  $\text{CO}_2$  para la formación de compuestos orgánicos como carbohidratos (Salisbury & Ross 1994).

En este proceso la energía del sol es absorbida inicialmente por los pigmentos de la planta (Taiz & Zeiger 2006) para sintetizar compuestos orgánicos. Estos pigmentos consisten principalmente en las clorofilas a y b, los cuales absorben radiación en longitudes de onda entre 400 y 700 nm y se encuentran dentro del cloroplasto. A partir de la síntesis de algunos componentes como el  $\text{CO}_2$  atmosférico, el agua y los nutrientes del medio en el que se encuentra se utilizan para mantener los propios tejidos de la planta, para mantener las reservas de carbohidratos o para formar nuevos tejidos y crecer (Gracia 2015).

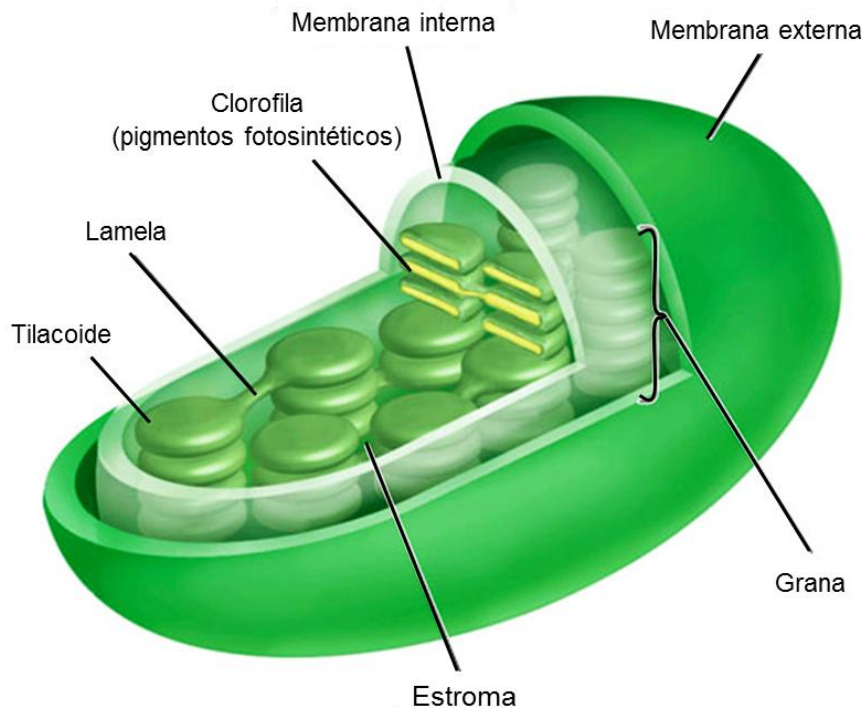


Figura 8 El Cloroplasto. (Tomada del sitio de internet: <http://www.biografiasyvidas.com>)

El cloroplasto es el orgánulo celular en el que tienen lugar las reacciones bioquímicas asociadas con la fotosíntesis (Gracia 2015). La estructura de la hoja permite mantener los conjuntos de cloroplastos que captan la luz, mediante Fotosistemas. Además, la hoja regula la difusión de  $\text{CO}_2$  entre el aire exterior y las células del mesófilo, a través de los estomas.

El lirio acuático es capaz de realizar fotosíntesis C4 (Ramil-Rego et al 2014) la cual, es la más común en las malezas, le permite generar una gran cantidad de biomasa, debido a las altas tasas fotosintéticas que pueden lograr.

En el caso de plantas que realizan fotosíntesis tipo C4, existe un nivel adicional de regulación, ya que la fotosíntesis se lleva a cabo en dos diferentes tipos celulares, las células de mesófilo y las del parénquima vascular (Furbank & Taylor 1995).

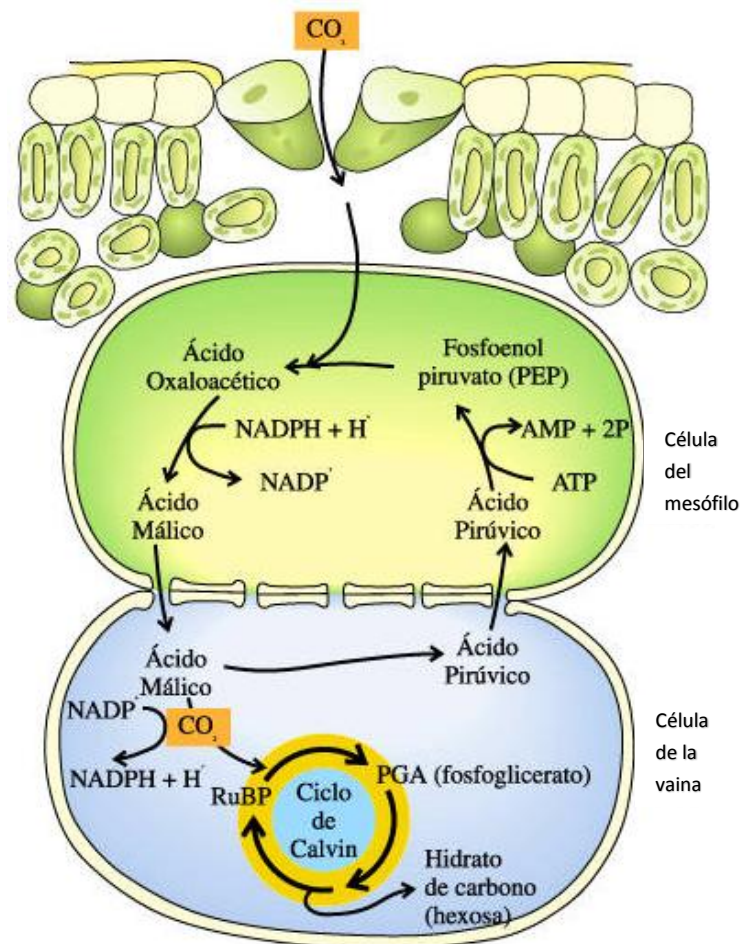


Figura 9. Bioquímica de la fijación del  $\text{CO}_2$  en plantas C4. (Tomada de: [cambioclimaticoenergia.blogspot.mx/](http://cambioclimaticoenergia.blogspot.mx/))

La mayor parte de los pigmentos presentes en la hoja se organizan como una antena captadora de luz que transfiere la energía a un centro de reacción donde se inician las transformaciones químicas que conducen al almacenamiento de la energía captada en enlaces químicos (Gracia 2015).

En plantas superiores encontramos dos fotosistemas (fotosistemas I y II), cada uno de los cuales contiene tanto pigmentos (clorofilas y carotenos) como una serie de proteínas características, capaces de transferir electrones. Estos fotosistemas no se encuentran distribuidos en forma fortuita, sino que, en general, guardan una localización específica; así, el fotosistema I se encuentra mayoritariamente en las regiones no apiladas de los tilacoides estromales, mientras que el fotosistema II, en la grana (Jiménez 2003).

El fotosistema II es rico en clorofila *b* (Casierra-Posada 2012), mientras que la clorofila *a*, se encuentra en ambos Fotosistemas. Los carotenos protegen las células y los tejidos de los radicales altamente oxidantes y del oxígeno singlete, mediante su actividad antioxidante. Estos pigmentos cumplen también la función de ser colectores de fotones y actúan también como pigmentos accesorios en los fotosistemas (Johnson et al 1993).

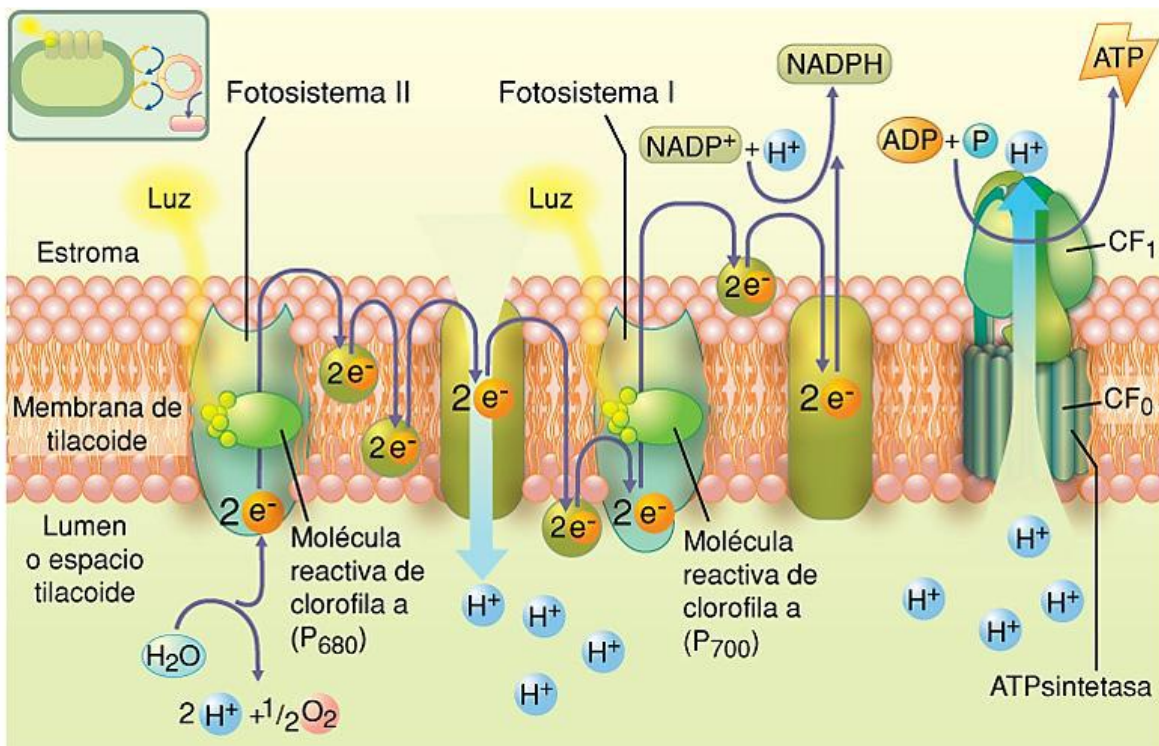


Figura 10. Fotosíntesis. Fuente: (Curtis, Barnes, Schnek, & Massarini, 2008).

## b. Espectroscopia fotoacústica

El efecto fototérmico (FT) es un tipo de conversión de energía que se produce por el calentamiento de una muestra y su entorno debido a la absorción de la radiación electromagnética (Tam 1989). Las técnicas fototérmicas se basan en la incidencia de un haz modulado sobre una muestra, generando en su interior variaciones periódicas de temperatura denominadas ondas térmicas, las cuales pueden ser detectadas por distintos transductores como micrófonos, piroeléctricos, piezoeléctricos, detectores infrarrojos, entre otros (Cedeño 2013), los cuales determinan el tipo de técnica fototérmica a emplear. Las ondas térmicas generadas en estas técnicas, generalmente, son las que contienen la información necesaria para caracterizar el material (Martínez 2014).

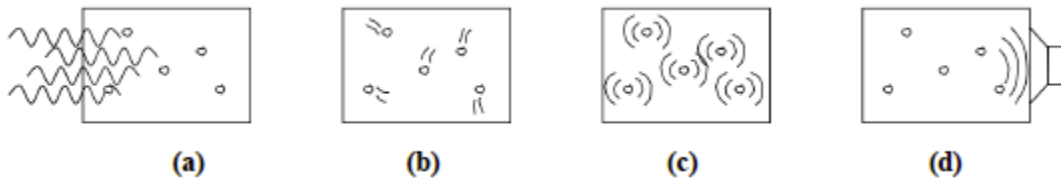


Figura 11. Conversión energética: (a) La luz modulada incidente es absorbida por la muestra, (b) las moléculas constituyentes son así térmicamente excitadas, (c) el flujo de calor periódico que se difunde desde la muestra hacia el gas circundante genera variaciones de presión en este, (d) las cuales son detectadas por un sensor acústico que las transforma a una señal eléctrica. Las características de las variaciones de presión dependen de las propiedades de la muestra y son útiles para determinar la composición, la concentración y las propiedades termofísicas (Tomada de Spike 2006).

El efecto fotoacústico, de acuerdo a Spike (Spike 2006), fue descubierto por primera vez por Alexander Graham Bell en su búsqueda de un medio de comunicación inalámbrica. La campana tuvo éxito en la transmisión de sonido con un invento que llamó la "fotófono", lo que lleva a una señal vocal con un haz de luz solar que se refleja en un espejo vocalmente modulado. El sonido podría ser recuperado con un receptor de teléfono normal conectado a una célula de selenio iluminado por la luz. Bell publicó los resultados en una presentación ante la Asociación Americana para el Avance de la Ciencia en 1880. Los láseres proporcionan luz de alta intensidad a una frecuencia sintonizable, lo que permitió un aumento de la amplitud del sonido y sensibilidad. Con este fin, las técnicas fotoacústicas fueron capaces de ser aplicadas a través de una amplia gama de campos. Por ejemplo, algunas de las primeras mediciones físicas de la destrucción del ozono debido a la emisión de óxido nítrico.



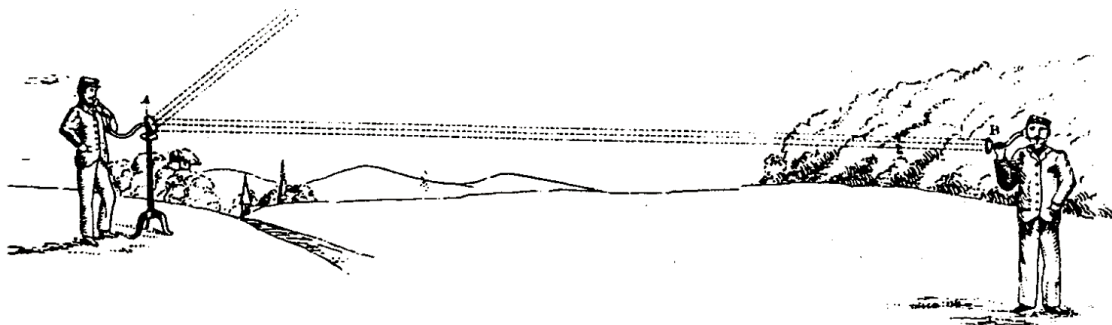


Figura 12. El fotófono. (Tomada de: Spike 2006).

El efecto fotoacústico consiste en conversión de la energía luminosa en ondas acústicas debido a la absorción y excitación térmica localizada (Spike 2006). Cuando un haz modulado de luz incide sobre una muestra de la materia, este es absorbido y la energía se transforma en calor mediante procesos de desexcitación no radiativos. Este calor hace que las ondas de sonido detectables debido a la variación de la presión en el medio circundante. Con la invención del micrófono y el láser, el efecto fotoacústica tomó nueva vida como una herramienta importante en el análisis espectroscópico y se sigue aplicando en un número creciente de campos.

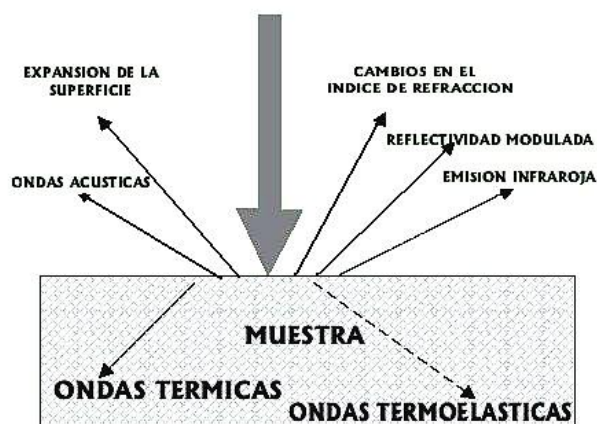


Figura 13. Efectos generados por la incidencia pulsada de un haz de luz (Tomada del sitio de internet <http://www.mda.cinvestav.mx>).

La fotosíntesis siempre está acompañada por una emisión térmica (Buschmann, Prehn & Lichtenthaler 1983), ya que no toda la luz absorbida in vivo por las clorofilas es utilizada

---

para la conservación de la energía fotosintética por la conversión fotoquímica, cierta parte de esta energía absorbida se convierte en calor el cual es emitido por la materia. Los fundamentos de la técnica fotoacústica (TFA) están basados en estas emisiones de calor y la generación de oxígeno por la excitación de la moléculas fotosintéticas.

### c. La Técnica de Espectroscopía Fotoacústica

Todos los cuerpos que se encuentran a temperatura por encima del cero absoluto emiten radiación térmica en la banda infrarroja del espectro (Riveiro & Solla 2016). La radiación térmica proviene del movimiento de los átomos y moléculas que componen la materia y el principal factor de influencia a la velocidad de estos es la temperatura.

A pesar de que cualquier material puede calentarse hasta la incandescencia, algunos requieren menor energía que otros, cuando el elemento se encuentra a cierta temperatura, genera una luz de un color característico, el cual, al pasar a través de un espectroscopio, la radiación se separa en las longitudes de onda consecutivas para formar una imagen o espectro (Godínez 2006). Estos espectros han tenido gran importancia en las investigaciones científicas, pues el espectro de un elemento es tan individual como las huellas digitales.

La técnica fotoacústica es el resultado de un proceso de transformación de energía luminosa en térmica, y de esta en energía acústica (Godínez 2006). El fenómeno que da origen a las técnicas fototérmicas, es en cual, la energía luminosa incide de manera periódica sobre la muestra del material a estudiar, en donde parte de esta luz es absorbida y una parte es transformada en calor como resultado de procesos de desexcitación atómica y molecular. Después de la incidencia, el material se calienta como resultado de la absorción de radiación modulada y este calor se transmite a una capa de gas adyacente a la superficie de la muestra. Esta capa de gas se calienta entonces periódicamente, expandiéndose y contrayéndose, actuando como un pistón sobre el resto del gas contenido en la celda (Godínez 2006). Generándose así una onda acústica o cambios de presión que pueden ser detectados con un micrófono.

La detección fotoacústica es una técnica muy importante dentro de la ciencia fototérmica. Esta detecta la variación de ondas acústicas generadas por diferentes mecanismos fototérmicos como el calentamiento del gas en la capa adyacente a la región calentada por un haz de luz, el calentamiento periódico de la superficie de una muestra, la evaporación de material volátil, la vibración en muestras de películas delgadas y el cambio en los gases.

Un sistema de detección fotoacústica está constituido, en general, por una fuente de luz (no necesariamente monocromática ni coherente), un modulador de la señal luminosa (en este caso se utiliza el modulador mecánico), además de un monocromador, una celda fotoacústica, un amplificador Lock-in, y una computadora personal para el almacenamiento y procesamiento de los datos que son adquiridos con una tarjeta electrónica GPIB (Bus de datos de propósito general), la cual es controlada gracias al desarrollo de un instrumento virtual (software de control).

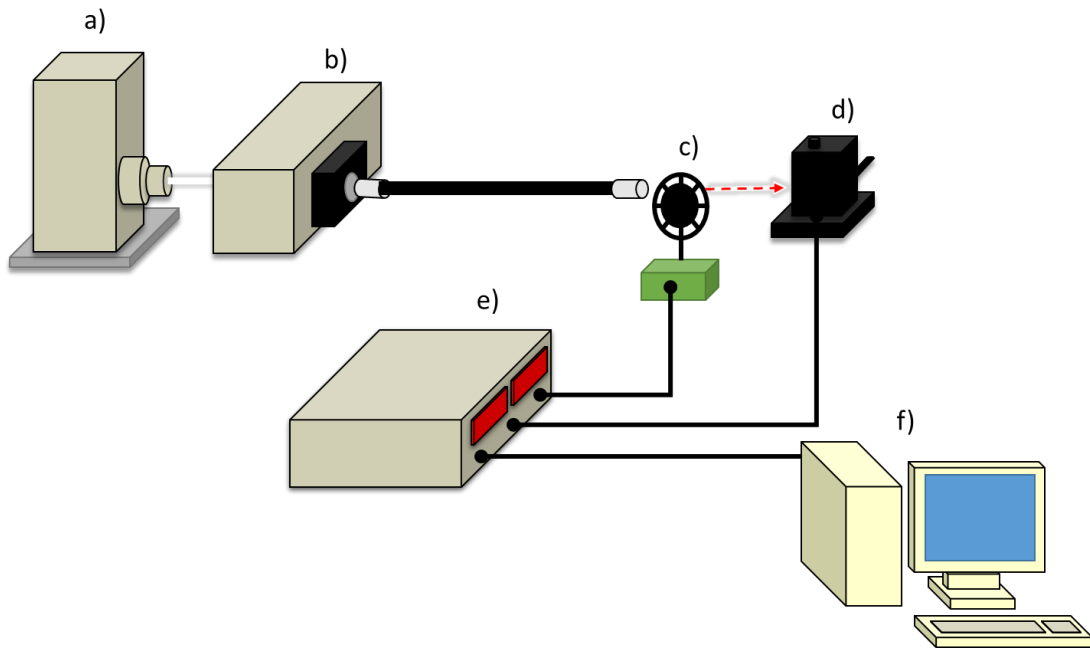


Figura 14. Esquema de la técnica de Espectroscopia Fotoacústica. (a) Lámpara. (b) Monocromador. (c) Modulador (Chopper). (d) Celda fotoacústica. (e) Amplificador Lock-in. (f) PC

El sistema empleado está constituido por una lámpara QTH modelo 66885 de Spectra-Physics (Ver Figura 15) que tiene un rango de potencia de 600 - 1000 W y un rango útil de longitud de onda de 240 a 2700 nm. El sistema de iluminación (housing) incluye un condensador de silicio fundido de dos elementos F/1 para un haz de salida colimado de 1.9 pulgadas (48 mm) de diámetro en la salida. Esta lámpara se encarga de generar y emitir luz blanca continua hacia un monocromador, capaz de dispersar la luz.



*Figura 15. Lámpara QTH 66885 (Spectra Physics).*

La luz blanca se hace pasar por el monocromador con red de difracción el cual es controlado para seleccionar la longitud de onda deseada a la salida. Los monocromadores presentan un color negro en su interior para evitar que la luz no deseada entre en la red de difracción y sea atenuada. Hay que considerar que también el uso de una red de filtros que permiten únicamente el paso de la frecuencia de luz seleccionada para evitar que en la salida aparezcan los armónicos de la onda elegida, que son haces de luz que son emitidos en el mismo ángulo pero con frecuencias diferentes a la seleccionada.

En este estudio fue empleado un monocromador Oriel Cornerstone 130 (Ver Figura 16), el cual incluye dos rejillas y un obturador incorporado. La configuración óptica está diseñada para garantizar un alto rendimiento y alta resolución. Este monocromador está optimizado para proporcionar un excelente rechazo de la luz parásita y reducir al mínimo las aberraciones.

El control del monocromador se puede realizar de dos maneras, una puede ser de forma local y otra remota. Mediante el control local el usuario puede establecer de forma directa la longitud de onda deseada.



Figura 16. Monocromador Cornerstone 130 y controlador.

El haz de luz monocromático es interrumpido periódicamente por un modulador mecánico “chopper” a una frecuencia predeterminado por el usuario. El modulador mecánico es el encargado de interrumpir la luz que se obtiene a la salida del monocromador, a una frecuencia determinada, la cual sirve de referencia al amplificador de Lock-in para filtrar la señal que se está obteniendo de la muestra. En este caso se utilizó un controlador de chopper óptico SR540 de Stanford Research Systems, Inc., el cual es capaz de trabajar en un rango de 4 Hz hasta 3.7 kHz, además se empleó un disco de 6 aspas y 4” de diámetro.



Figura 17. Chopper de 6 aspas y controlador SR340 Stanford Research.

---

Entonces el haz de luz monocromático y modulado se transmite a través de una fibra óptica hasta la celda fotoacústica, en donde es colocada la muestra a investigar.

Como resultado de la absorción de radiación modulada, el material se calienta, transmitiéndose el calor a una capa de gas adyacente a la superficie iluminada de la muestra. Esta capa de gas se calienta entonces periódicamente, expandiéndose y contrayéndose, y actuando como un pistón sobre el resto del gas contenido en la celda. Se genera así una onda acústica o de presión que puede ser detectada con un micrófono colocado también dentro de la celda.

La celda fotoacústica es el sistema que permite detectar la onda sonora producida por la absorción de la luz de la muestra y la cual es detectada por un micrófono, el cual transforma esta señal acústica en una señal eléctrica que es enviada al amplificador Lock-In. En este caso se utilizó una celda fotoacústica MTEC 300, la cual presenta de sensibilidad de 65 mV/Pa y un rango de frecuencia 5 Hz hasta 20 kHz.



*Figura 18. Celda Fotoacústica MTEC 300.*

Esta acústica es convertida a una señal eléctrica y es enviada en la entrada del amplificador Lock-in. El amplificador Lock-in nos permite medir señales muy pequeñas de CA (variables en el tiempo), desde algunos nV y es capaz de discriminar la señal del ruido. El modelo empleado en este sistema es el SR850 de Stanford Research Systems, Inc. (Ver Figura 19), el cual se encarga de amplificar la señal que corresponda con la frecuencia de la señal de referencia que proporciona el modular mecánico y una vez obtenida esta señal, se envía a la computadora para ser analizados los datos por medio de un programa de análisis científico de datos.



Figura 19. Amplificador Lock-In SR850.

#### d. La técnica de separación de la Fase

Cuando el espectro de absorción de algún elemento es debido únicamente a la superposición de dos centros absorbentes A y B con bandas de absorción en diferentes longitudes de onda, entonces es posible utilizar la técnica de la separación de la fase.

La técnica de separación de la fase, es una metodología de análisis numérico que permite separar las contribuciones individuales de dos centros componentes en un espectro de absorción efectivo, a partir de la amplitud y la fase de la señal obtenida mediante la EFA, obtenida para una sola frecuencia de modulación.

Estos centros absorbentes se encuentran asociados con tiempos de relajación no radiativos, a una frecuencia de modulación fija y la señal fotoacústica es el resultado de las contribuciones de estos dos centros componentes (Nogal 2012).

El calor que se genera por la incidencia de la energía en estos centros de absorción se difunde en un tiempo finito hasta la superficie de la muestra (interface muestra - aire) y se genera la señal acústica. Este tiempo de retardo es una función del coeficiente de absorción óptico, el tiempo de relajación no radiativo (tiempo que toma el centro en generar el calor) y el tiempo de difusión térmica de la muestra. En el caso especial de segregación espacial de componentes A y B, como en muestras de capas, habrá una contribución del tiempo de retraso entre las señales que salen de A y B debido a la diferencia en los correspondientes tiempos de difusión térmica para que el calor alcance la superficie de la muestra. Para el

caso de una distribución homogénea espacialmente de los centros de absorción, el tiempo de retraso, si hay, entre las señales de A y B pueden ser atribuidas principalmente a las diferencias en los tiempos de relajación no radiativos característicos y de estos centros. Esta diferencia en el tiempo que el calor toma en alcanzar la cámara de gas de la celda FA produce un corrimiento de fase entre las dos señales.

La señal FA se representa por medio del vector donde  $S$  es la amplitud y  $\phi$  el ángulo de fase de la señal FA. Las componentes “en fase” y “en cuadratura” de están dadas, respectivamente por las expresiones (1) y (2).

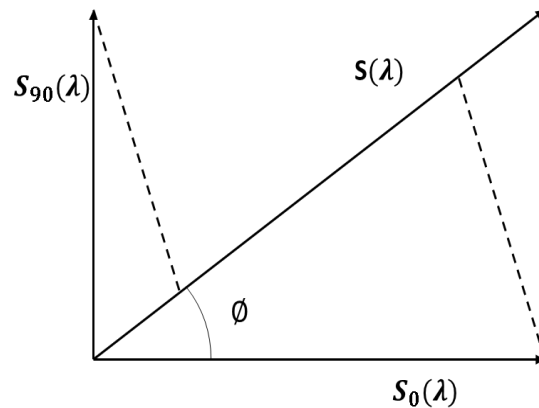


Figura 20. Señal fotoacústica a una fase expresada como una función de las componentes de fase  $S_0$  y cuadratura  $S_{90}$ .

$$S_0(\lambda) = S(\lambda) \cdot \cos \phi \quad (1)$$

$$S_{90}(\lambda) = S(\lambda) \cdot \text{sen } \phi \quad (2)$$

Multiplicando la expresión (1) por  $\cos \phi$ , y la expresión (2) por  $\text{sen } \phi$  y sumando miembro a miembro, se obtiene a continuación la siguiente expresión para la señal  $S$ :

$$S(\lambda) = S_0(\lambda) \cos \phi + S_{90}(\lambda) \text{sen } \phi \quad (3)$$

Esto es, la señal  $S$  es la suma de las componentes de  $S_0$  y  $S_{90}$  en la dirección de  $\phi$ . Además, para una  $\phi^*$  dada, (3) proporciona la magnitud de la señal en la dirección  $\phi^*$ :

$$S_{\phi^*}(\lambda) = S_0(\lambda) \cos \phi^* + S_{90}(\lambda) \text{sen } \phi^* \quad (4)$$



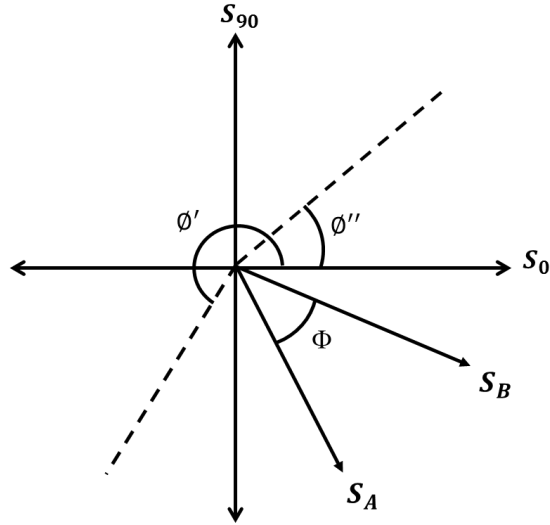


Figura 21. Angulo de separación  $\Phi$  entre dos vectores de longitud  $S_A$  y  $S_B$ .

Sí la muestra tiene dos centros absorbentes A y B con bandas de absorción en las longitudes de onda  $\lambda_A$  y  $\lambda_B$ , respectivamente, la señal FA es el resultado de las contribuciones de estos dos centros componentes.

La señal observada S puede ser vista como la resultante de dos vectores (cuyas longitudes  $S_A$  y  $S_B$  corresponden a las señales de A y B, respectivamente) con un ángulo  $\phi$  entre ellos.

Usando los datos experimentales para  $S_0(\lambda)$  y  $S_{90}(\lambda)$  llevando a cabo la variación de la fase con la ayuda de una computadora, buscamos aquellos ángulos para que sólo uno de las componentes A o B esté presente en el espectro calculado. Si en se produce únicamente la señal  $S_A$ , la señal  $S_B$  está a  $90^\circ$  entonces, análogamente, si en aislamos la señal  $S_B$ , la señal  $S_A$  está en la fase. Así la señal será la suma de los dos vectores y que están desfasados entre sí. De este modo podemos aislar los ángulos de los espectros individuales de los componentes A y B.

#### e. Efecto fotoacústico resuelto en tiempo y contribución fotobárica

En la TFA se pueden tener, en general, tres tipos de esquemas de medición que dependen del parámetro físico que se hace variar para determinar la señal FA como una función de este parámetro (Cardona 2008).

En el primero de estos esquemas, se hace variar la frecuencia de modulación de la fuente luminosa (técnica fotoacústica resuelta en frecuencia, o TFA- $f$ ) que, mediante el análisis de la amplitud y la fase de la señal FA medida, permite determinar parámetros de transporte de calor así como tiempos de relajación, entre otras. En el segundo esquema, se mantiene constante la frecuencia de modulación y se utiliza la variación de la longitud de onda de la fuente de luz incidente sobre la muestra; entonces tratamos con la técnica fotoacústica resuelta en longitud de onda, también denominada Espectroscopia Fotoacústica (EFA), con el fin de obtener los espectros de absorción óptica. Por último, se tiene aquél en el cual se mantienen constantes tanto la frecuencia de modulación como la fuente de radiación (longitud de onda e intensidad), siendo el tiempo de exposición el parámetro que varía. Este último esquema se conoce como la técnica fotoacústica resuelta en tiempo (TFA- $t$ ). Esta técnica permite estudiar, entre otras cosas, la evolución de oxígeno fotosintético y el almacenamiento de energía en plantas (Cardona 2008).

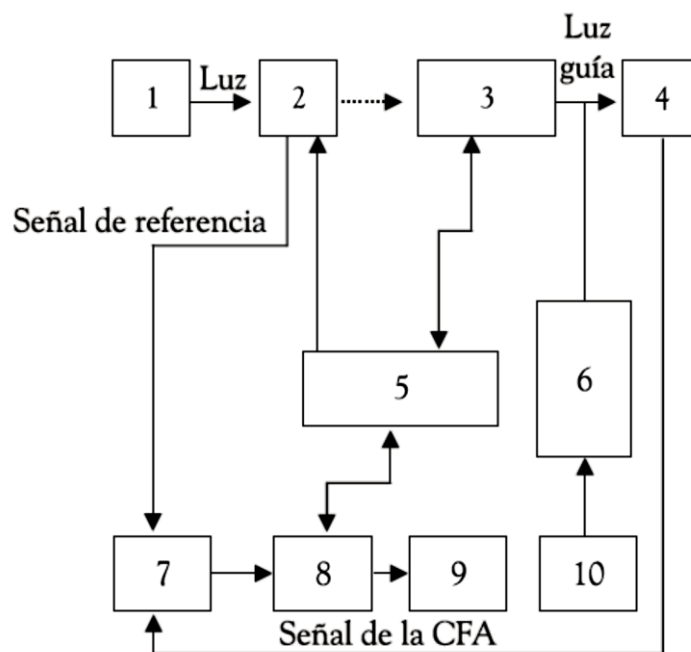


Figura 22. Diseño experimental de medición de la TFA- $t$  para monitoreo de la tasa fotosintética. (1) Lámpara de xenón, (2) chopper, (3) monocromador, (4) cámara FA con la muestra, (5) interface, (6) filtro IR de agua, (7) amplificador Lock-in, (8) computador, (9) gráfico, (10) fuente de luz continua.

El diseño experimental de la TFA- $t$  para la medición de la fotosíntesis en plantas se presenta en la Figura 22. En él, un haz de luz blanca continua (proveniente de una lámpara de xenón) pasa por un modulador mecánico (chopper), cuya señal sirve de referencia para el amplificador sincrónico (o amplificador Lock-in); posteriormente, el haz modulado emergente se hace pasar por un monocromador, seleccionando la longitud de onda a la que

se desea irradiar. Así, la luz modulada se hace incidir sobre la celda FA donde previamente se ha colocado la muestra. Por otro lado, un haz de la luz blanca continua incide directamente sobre la celda FA. Ambos haces de luz inciden simultáneamente sobre la muestra vía una fibra óptica bifurcada. La señal obtenida de la celda FA, es leída por el amplificador Lock-in, el cual filtra las señales que no se encuentren a la frecuencia de referencia, amplificando la señal proveniente de la celda FA. Finalmente, la amplitud y fase de la señal son almacenadas en un computador, en función del tiempo de exposición.

En el caso de la hoja de una planta, además de la respuesta fototérmica descrita anteriormente, se presenta la respuesta fotobárica, originada por la emisión de oxígeno modulado por la hoja al incidir en ella el haz de luz modulada. La incidencia de un haz continuo de luz blanca satura los centros de reacción de los cloroplastos; una vez que se suspende la luz blanca se lleva a cabo el proceso fotosintético en la planta, generando y liberando  $O_2$  de manera modulada dentro de la celda fotoacústica, causando un cambio de presión, el cual es conocido como la respuesta fotobárica (Ver Figura 23).

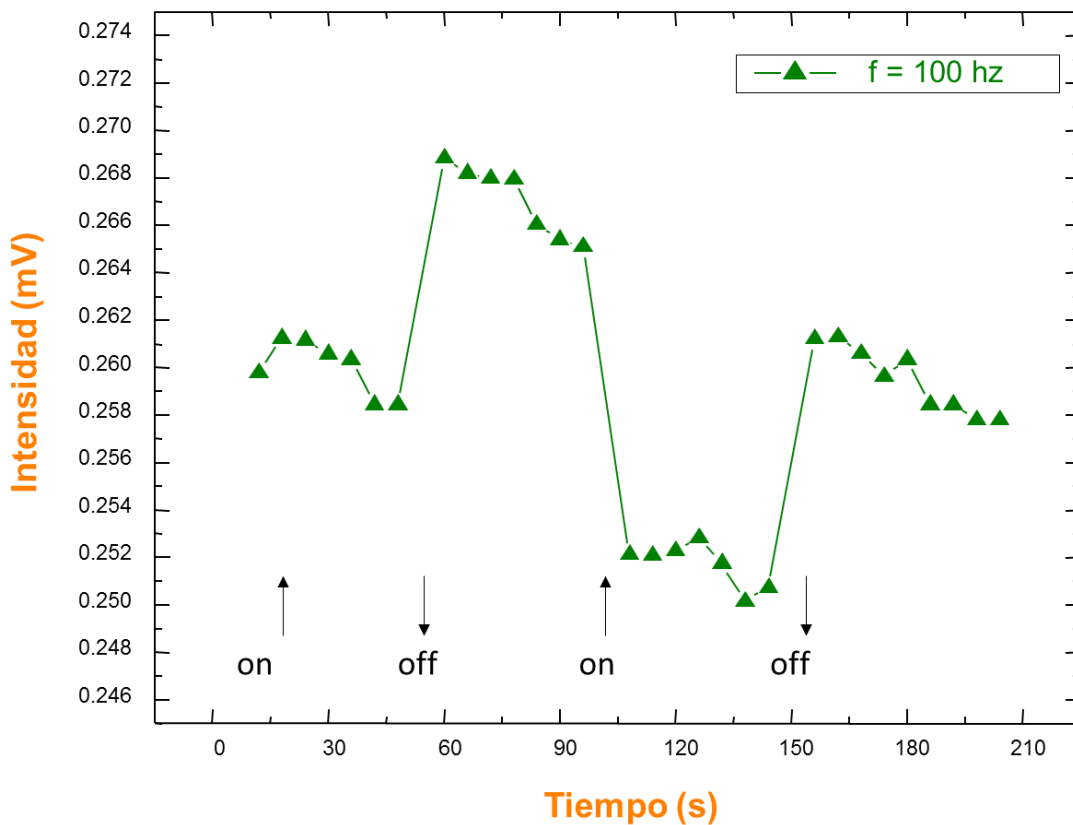


Figura 23. Respuesta fotobárica en la amplitud de la señal FA de lirio acuático. (Calderón y Cardona, 2008).

---

### III. Monitoreo del efecto del ultrasonido en la actividad fotosintética del lirio acuático mediante la técnica de Espectroscopía Fotoacústica y la técnica de separación de la fase

#### a. Procedimiento experimental

Los parámetros de conservación de las plantas de lirio Acuático utilizado para este trabajo se mantuvieron bajo control mediante del uso de un acuario-invernadero, él cuál fue implementado para mantener y controlar en condiciones óptimas similares a los que presentan en el lugar de su extracción que fueron los canales de Xochimilco, en la Ciudad de México. Uno de estos parámetros es la cantidad de luz recibida en el acuario invernadero a la intemperie, que en promedio registró un valor de 1000 lux durante el mediodía, que indica una iluminación adecuada para el desarrollo de la planta. La temperatura del agua en el acuario fue de 28 °C y fue controlada a través del uso de un termostato automático totalmente sumergido en el acuario invernadero.

Además, fue utilizada agua extraída directamente de los canales del embarcadero Caltongo en Xochimilco, Ciudad de México, y como sustrato se empleó suelo para macetas con el fin de asemejar las condiciones del agua del acuario y que estas no se convirtieran en un factor de inhibición para el desarrollo de esta planta. También se empleó un flujo y sistema de filtrado constante del agua, que permitiera obtener la ventilación y flujo de oxígeno exigidos por las raíces de las plantas. La Figura 24 muestra una imagen de las condiciones de conservación de las plantas de lirio Acuático.



*Figura 24. Plantas de lirio acuático en conservación en el acuario-invernadero implementado.*

Una vez adaptadas las plantas al sistema de control, se procedió a llevar a cabo la irradiación a las mismas. Para llevar a cabo las irradiaciones a las muestras de lirio, se seleccionó un conjunto de plantas del acuario-invernadero con las mejores condiciones de adaptación, con un promedio de 5 a 7 hojas por irradiación, previamente etiquetadas en contenedores individuales utilizando condiciones de conservación similares a las del grupo control. Las muestras de plantas de lirio acuático fueron expuestas a irradiación mediante un sistema de generación de sonido capaz de permitir la variación de frecuencia y potencia de las ondas acústicas. Las exposiciones a irradiación se llevaron a cabo en periodos de 5 horas, utilizando una frecuencia de 4 kHz, siguiendo los resultados reportados por J. Calderón (Calderón 2015) donde encuentran los mayores efectos en muestras de lirio al irradiar con esta frecuencia en la gama sónica.

Para llevar a cabo las irradiaciones a las muestras de lirio acuático, se elaboró un recinto de irradiación con madera comprimida de aproximadamente 2 cm de grosor para cuatro caras del mismo y una tapa desmontable y por otro lado, una placa de acrílico con un grosor de 3 cm aproximadamente, en la cara superior, con el fin de poder observar el correcto funcionamiento en el interior, cuando se esté irradiando con la tapa cerrada. Este recinto cuenta con una altura de 150 cm de alto, 109 cm de ancho y 66 cm de profundidad, el cual es un espacio adecuado para una realizar una cómoda manipulación de las muestras y transductores en su interior.

Dentro del recinto se utilizó un recubrimiento de espuma de poliuretano absorbente acústico de tipo ondulado, con un espesor de 35 mm de base a cresta, con la finalidad de atenuar el sonido generado por la irradiación, hacia el exterior. La presentación de esta espuma acústica cuenta con un Coeficiente de Reducción de Sonido (N. R. C.) igual a 0.50, es decir, se absorbe el 50% del sonido que llega a las paredes.

El sistema de irradiación consiste de diferentes componentes eléctricos y electrónicos como se muestra en la Figura 25. Cuenta con un circuito receptor de la señal DAQ (esta es obtenida del software instalado en la PC) el cual es capaz de procesar la información y enviarla al circuito, con la finalidad de ser utilizada para acoplar la señal del software con el amplificador de audio.

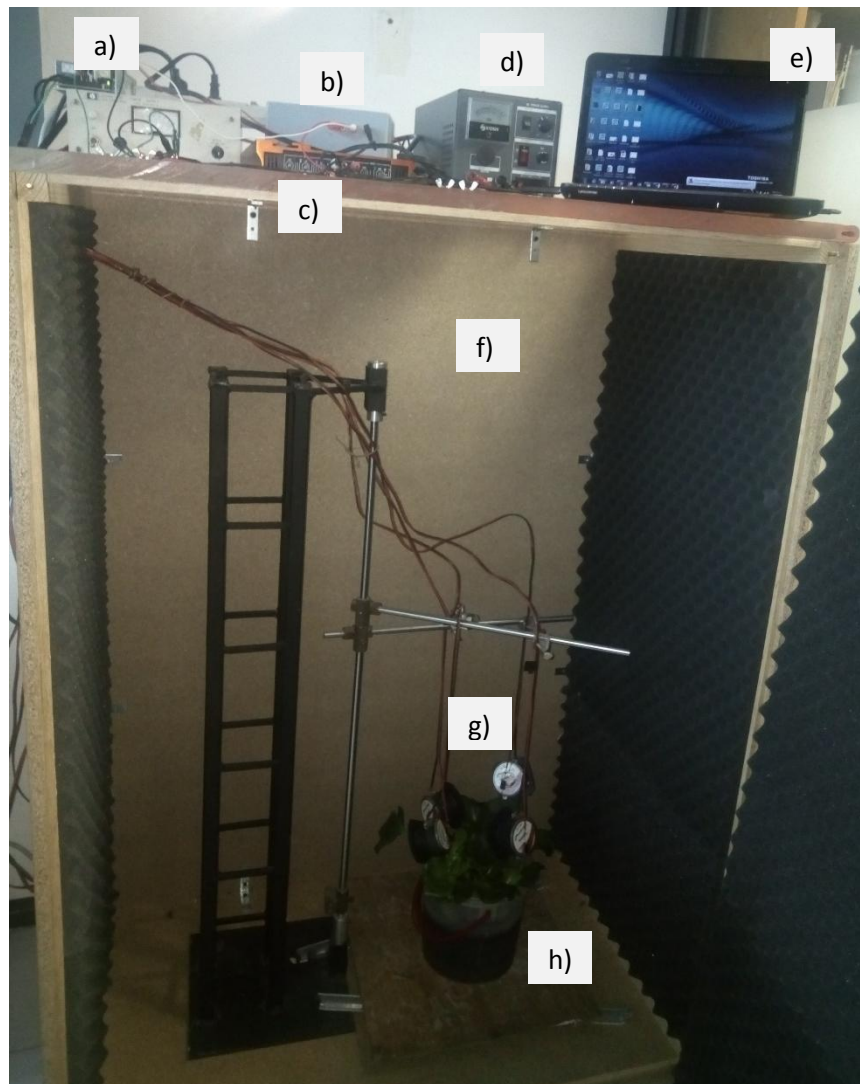


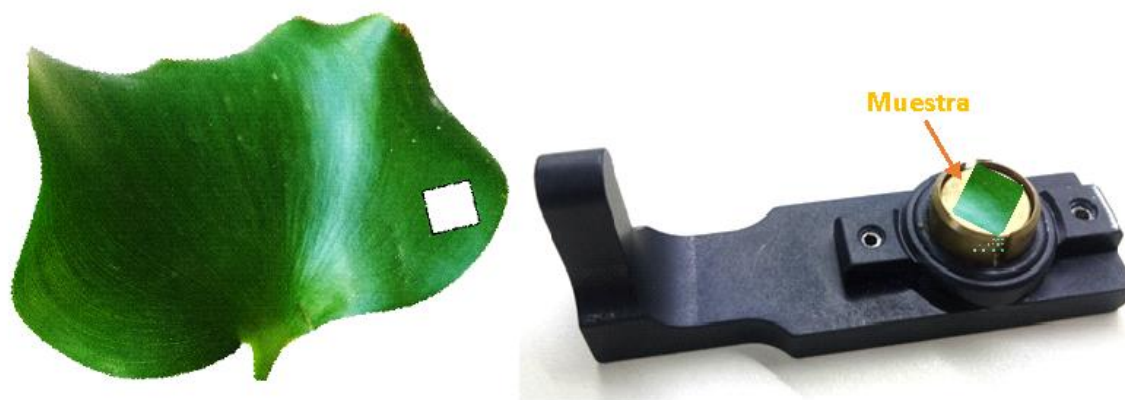
Figura 25. Configuración del sistema de irradiación. a) Fuente CD; b) Circuito; c) Amplificador; d) Fuente CA; e) Software de control de frecuencia; f) Estudio de Irradiación; g) Transductores; h) lirio acuático

---

Fue utilizado un amplificador de audio de la marca Dub Megaudio 2400 W, que es un amplificador de 4 canales, el cual fue utilizado para alimentar a los transductores. Para la emisión de sonido, se emplearon cuatro tweeters de piezoeléctrico para potencias bajas, es decir, hasta 12 W y para potencias mayores a esta, cuatro transductores de imán. La alimentación circuito generador US se realizó mediante una fuente de corriente continua (con voltajes de 15 V, -15 V y 5 V) y otra fuente de corriente alterna (12 V) para alimentar al amplificador.

Una vez terminada la irradiación, las plantas de lirio acuático irradiadas se mantuvieron bajo las mismas condiciones de conservación y fueron monitoreadas cada tercer día y durante 12 días, a través del comportamiento de su actividad fotosintética, mediante la Técnica de Espectroscopia Fotoacústica (EFA), para conocer los efectos y los posibles daños causados por la irradiación a los pigmentos.

La Técnica de Espectroscopia Fotoacústica fue descrita en el capítulo III de este trabajo. Para este caso se empleó un detector fotoacústico MTEC 300, que cuenta con un porta muestras como se muestra en la Figura 26b, en el cual se coloca un segmento rectangular seleccionado de la hoja del lirio acuático, con dimensiones aproximadamente de 1 cm<sup>2</sup>, similar al de la Figura 26a.



*Figura 26. Muestra de la hoja de lirio acuático. a) Corte de la hoja. b) Colocación en el portamuestras de la celda.*

La Figura 27 muestra una fotografía del sistema de espectroscopia empleado en este trabajo. La manipulación de las muestras y el equipo utilizado para espectroscopia se llevó a cabo con el uso de pinzas y guantes, con la finalidad de no contaminar las muestras y los materiales ópticos, y con esto, no alterar las mediciones y conseguir resultados confiables.



*Figura 27. Sistema de Espectroscopia fotoacústica utilizado en el laboratorio.*

Los datos experimentales fueron registrados mediante una computadora. Dichos datos fueron normalizados para la representación gráfica de los espectros. Para el caso de la absorción fotoacústica se empleó el espectro de absorción de una muestra de grafito con un 99.99% de pureza, el cual actúa como un cuerpo negro al absorber toda la energía emitida por la lámpara y que incide en la cámara fotoacústica. El espectro de emisión de la lámpara, la transmitancia de la fibra óptica y las pérdidas en el monocromador, en conjunto, nos muestran la respuesta del sistema, y esta respuesta es utilizada como referencia para normalizar las muestras medidas. Por lo tanto, se debe remover la señal fotoacústica del sistema a la señal total obtenida, dividiendo el valor de la señal del cuerpo negro entre el valor de la señal total. Mientras que, para la normalización de la señal de la Fase fotoacústica, se llevó a cabo la sustracción del valor de la fase de del cuerpo negro, al valor de la señal total obtenido, con el fin de obtener solo los valores del espectro de la muestra.

Esta técnica es llevada a cabo mediante un programa de procesamiento de datos y posterior a esto, es llevado a cabo la aplicación de la Técnica de Separación de la Fase, como lo descrito en el inciso e) del capítulo IV de este trabajo.



---

## b. Resultados

Una vez establecidas las características del sistema para la detección fotoacústica, se llevaron a cabo los estudios de las muestras de lirio acuático, iniciando con la obtención de información de los componentes a diferentes profundidades de las hojas de estas plantas.

Dentro de la detección fotoacústica, las ondas térmicas generadas, nos proveen información acerca de los componentes de las muestras; mientras mayor sea la penetración de estas ondas en la muestra, se obtendrá información de componentes más internos.

La amplitud de la onda se amortigua fuertemente a una distancia denominada longitud de difusión térmica  $\mu$ , a dicha distancia, la amplitud de la onda térmica decae a un valor de  $1/e$  de su valor inicial.

Empleando la difusividad térmica para hojas de plantas verdes reportada por Briseño (Briseño-Tepepa 2007) igual a  $0.12 \text{ mm}^2/\text{s}$  ( $1.2 \times 10^{-3} \text{ cm}^2/\text{s}$ ), se calcularon distintos valores de longitud de difusión térmica como se muestra en la tabla 1, en función de la frecuencia de modulación, utilizando la ecuación 5.

$$\mu = \sqrt{\frac{\alpha}{\pi f}} \quad (5)$$

En donde:

$\mu$  = Longitud de difusión térmica

$\alpha$  = difusión térmica

f = frecuencia de modulación

Con la finalidad de realizar un análisis a diferentes profundidades de la hoja, se recurrió a disminuir la frecuencia de modulación (Respecto a la frecuencia establecida de 17 Hz), para obtener un aumento en la penetración de la onda térmica en la planta.

De acuerdo con las especificaciones del equipo, el detector acústico nos permite trabajar en un rango de frecuencia específico entre 5 Hz y 20 kHz. Por lo tanto, las mediciones se realizaron con frecuencias de 7 Hz en adelante, con la finalidad de que el sensor acústico nos permitiera trabajar de manera confiable.

---

Trabajos reportados recientemente (Calderón 2014, Calderón 2015, Cardona 2008) presentan resultados aceptables de la señal fotoacústica empleando una frecuencia de modulación igual 17 Hz para la EFA, por lo tanto, fueron empleadas frecuencias menores a esta, sin alcanzar el valor mínimo del umbral del detector acústico, que es de 5 Hz, estableciendo así, los valores de frecuencia presentados en la tabla 1.

*Tabla 1. Longitud de difusión térmica ( $\mu$ ) para distintas frecuencias de modulación.*

<b>Frecuencia de modulación (Hz)</b>	<b><math>\mu</math> (mm)</b>
7	$73.89 \times 10^{-3}$
9	$65.15 \times 10^{-3}$
11	$58.93 \times 10^{-3}$
13	$54.2 \times 10^{-3}$
15	$50.46 \times 10^{-3}$
17	$47.4 \times 10^{-3}$

Para conocer el espesor de una hoja promedio empleada en este trabajo, se realizó una serie de mediciones en distintos puntos, como se muestra en la Figura 28.

El espesor promedio medido de la planta de lirio acuático es de 0.536 mm (536  $\mu$ m), por lo tanto, utilizando las frecuencias establecidas en la tabla 1, el valor de  $\mu$  es aproximadamente igual a  $l_s/10$  (en donde  $l_s$  es espesor de la muestra), por lo que se nos permite considerar a la hoja como una muestra térmicamente gruesa.

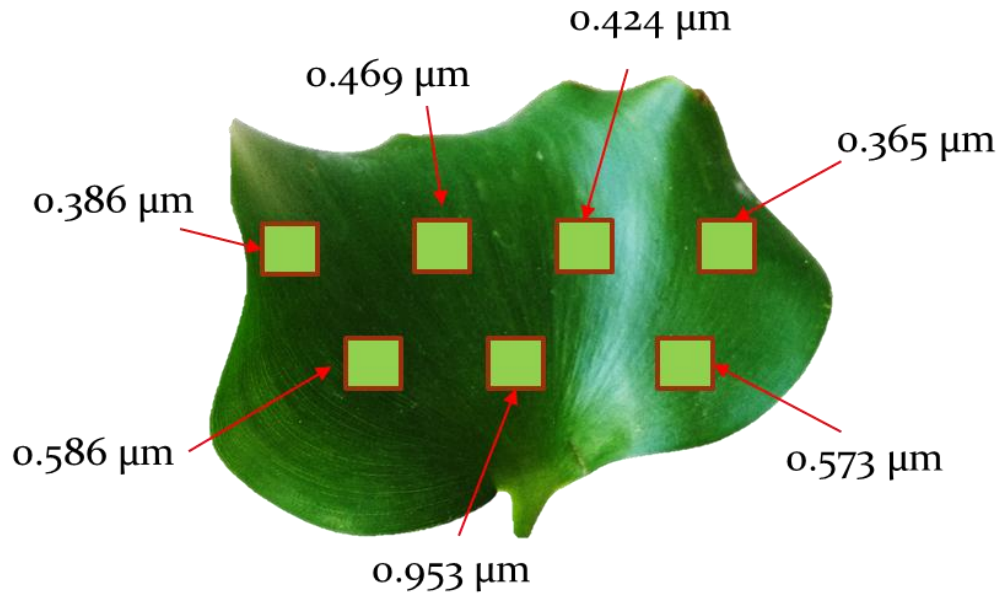


Figura 28. Selección de puntos en la hoja de lirio acuático para la medida de espesor promedio.

Utilizando las frecuencias de modulación fotoacústica establecidas en la tabla 1, se obtuvieron los espectros de muestras de lirio acuático no irradiadas, para encontrar información de los componentes de la hoja a diferentes profundidades.

La Figura 29 presenta los espectros obtenidos mediante espectroscopia fotoacústica para las diferentes frecuencias de modulación, antes mencionadas.

A medida de que la frecuencia de modulación disminuye, la amplitud de la señal fotoacústica aumenta, debido a que la señal de la celda fotoacústica contiene información de componentes más alejados de la superficie de la hoja.

Sin embargo, los espectros de la Figura 29 nos indican que dicho comportamiento no se cumple para estas muestras, debido quizá, a la influencia de una medición no tan confiable por la cercanía al umbral del detector acústico, para frecuencias bajas (7 Hz, línea negra; 9 Hz, línea roja; y 11 Hz, línea azul). Y para el caso de las frecuencias altas, (15 Hz, línea rosa y 17 Hz, línea verde), la interferencia de la absorción de componentes internos los cuales no contribuyen a la actividad fotosintética.

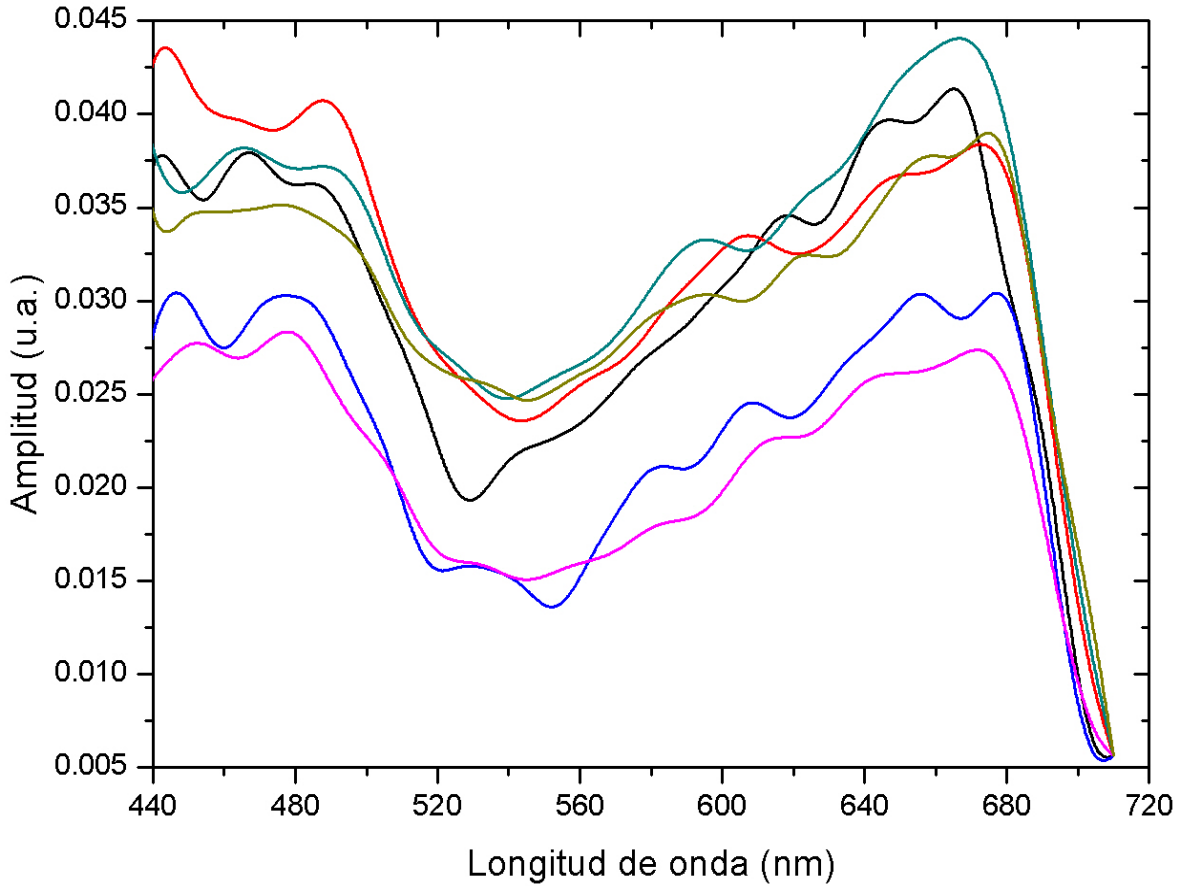


Figura 29. Espectros de excitación fotoacústica de lirio acuático no irradiado a distintas frecuencias de modulación. — 7 Hz; — 9 Hz; — 11 Hz; — 13 Hz; — 15 Hz; — 17 Hz.

Una absorción energética más intensa y mejor reproducción de los pigmentos fotosintéticos presentes en la planta (de acuerdo a otras técnicas de absorción), se obtuvieron utilizando una frecuencia de 13 Hz. Por tal razón, las mediciones realizadas mediante la EFA para determinar los efectos y los daños de las distintas irradiaciones al lirio acuático, fueron realizadas utilizando esta frecuencia de modulación.

De acuerdo al trabajo elaborado por J. Calderón (Calderón 2015), un intervalo de potencia de irradiación en el cual se presenta un mayor efecto en la actividad fotosintética de las plantas de lirio acuático, se encuentra entre los 20 y los 35 W. Por lo cual, se presentan a continuación los espectros de lirio irradiado a 4 kHz de frecuencia y potencias de 20, 25, 30 y 35 W.

La Figura 30 muestra el espectro de absorción de lirio acuático antes y a los días 1, 3, 6, 9 y 12 después de haber sido irradiado, empleando una frecuencia de 4 kHz y 20 W de potencia.

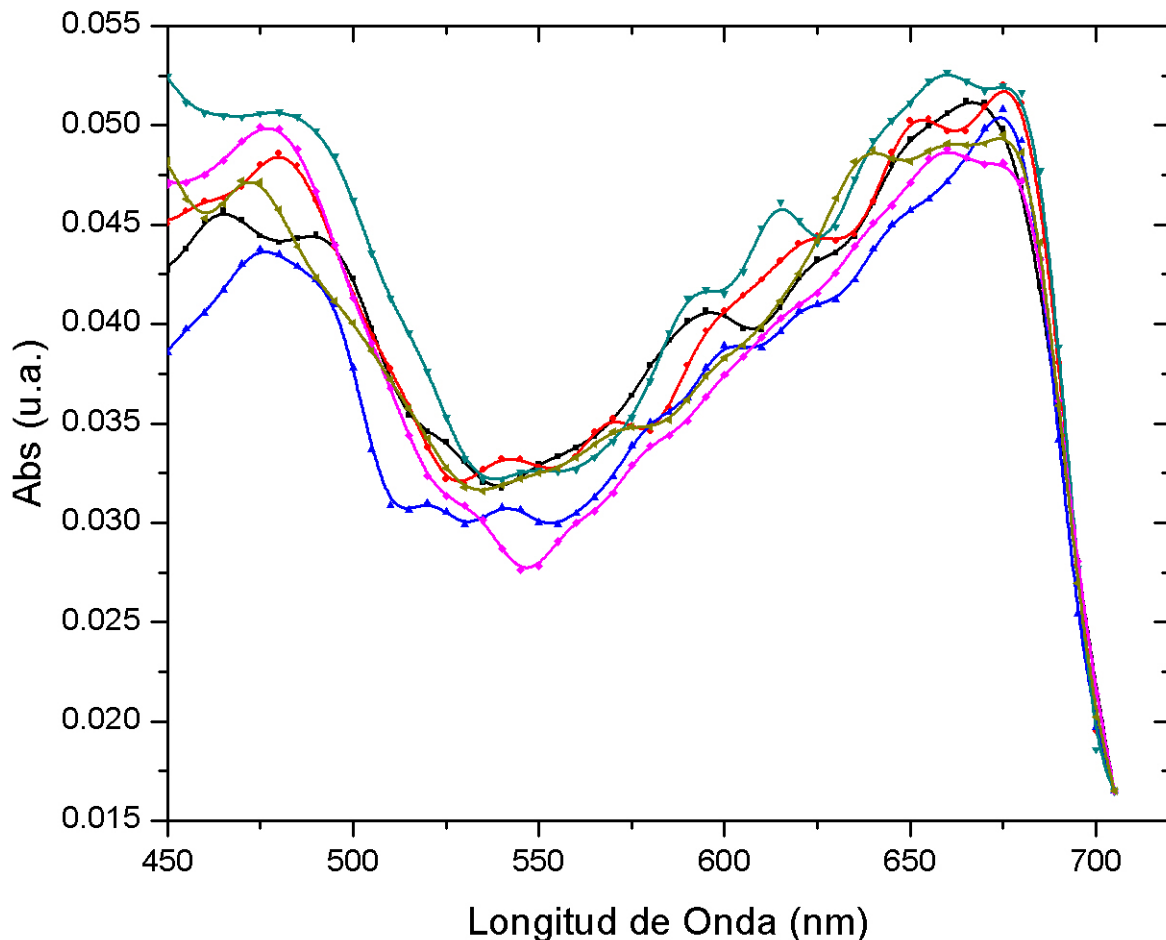


Figura 30. Espectros de excitación fotoacústica de lirio acuático no irradiado e irradiado a 4kHz y 20W, y a 1, 3, 6, 9 y 12 días después de la irradiación. — Lirio no irradiado; — Día 01; — Día 03; — Día 06; — Día 09; — Día 12.

Para una mejor comparación visual de los espectros obtenidos, estos fueron desplazados en el eje vertical mediante offsets, con la finalidad de hacer coincidir el último dato de cada espectro de las muestras irradiadas (es decir a 710 nm), con el correspondiente punto del espectro de la muestra no irradiada. De este modo, tenemos una referencia sobre la influencia de los pequeños cambios que se llevan a cabo al equipo entre cada medición, y se nos proporciona una señal fotoacústica más real de cada uno de las muestras. Un ejemplo de esto, es la influencia que tienen las variaciones en la alineación de la incidencia del haz de luz hacia la celda fotoacústica.

Para corroborar los resultados obtenidos mediante la EFA, se llevó a cabo un monitoreo físico de las plantas irradiadas, obteniendo las siguientes imágenes del día de la incidencia de la irradiación a la planta (ver Figura 31) y del día 12 después de esta (ver Figura 32). El seguimiento nos permitió observar que los efectos de la irradiación con una frecuencia de

---

4 kHz y 20 W de potencia, fueron nulos físicamente, comparando el día de la incidencia de la irradiación con el último día del monitoreo que se le realizó a la planta mediante la EFA.



*Figura 31. Lirio irradiado a 4kHz – 20W, inmediatamente después de la irradiación.*



*Figura 32. Lirio irradiado a 4kHz – 20W, 12 días después de la irradiación.*

La Figura 33 presenta el espectro del lirio acuático irradiado a una potencia mayor de irradiación, es decir, 25 W y manteniendo una frecuencia de irradiación de 4 kHz y los espectros a 1, 3, 6, 9 y 12 días después de la irradiación.

Para este caso, los primeros días después de la irradiación no se observó efecto alguno, sin embargo, se presentó una ligera disminución en la absorción de la banda característica de los pigmentos cercana a los 670 nm principalmente para los días 9 y 12 después de la irradiación; incluso una deformación en dicha banda para el día 9 (ver línea color rosa), en comparación con el espectro del lirio acuático no irradiado (ver línea negra).

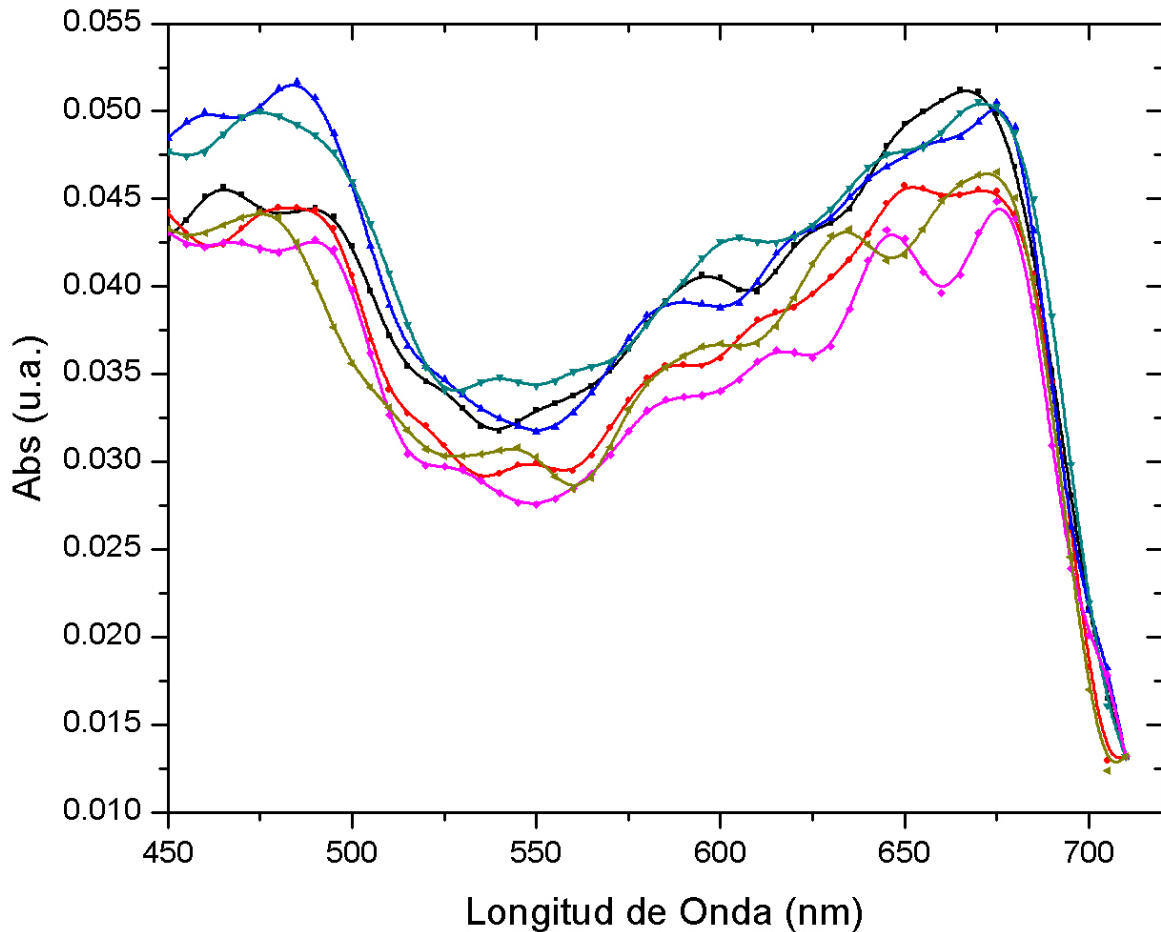
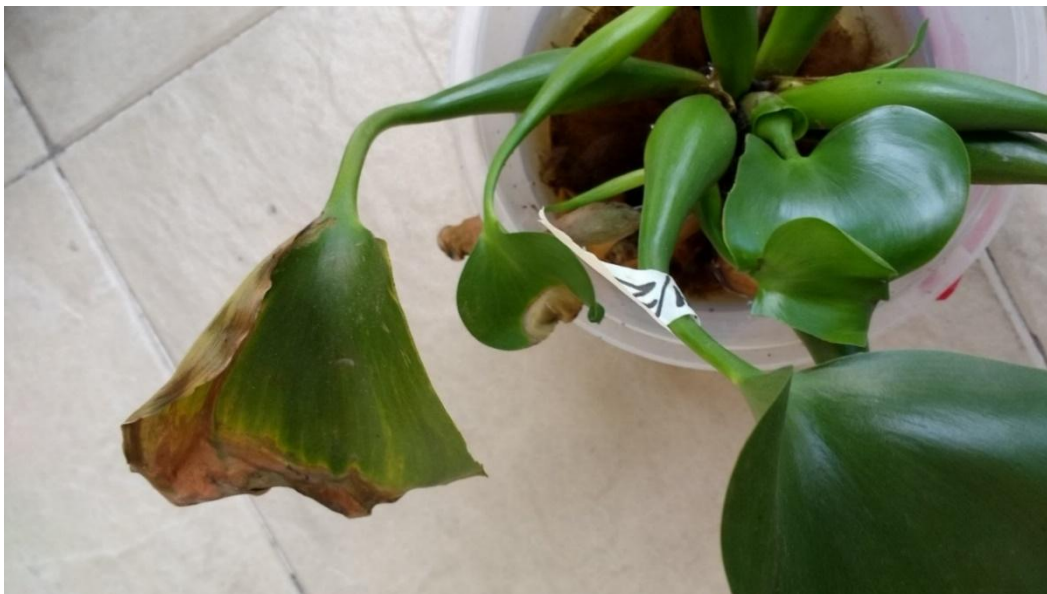


Figura 33. Espectros de excitación fotoacústica de lirio acuático no irradiado e irradiado a 4 kHz y 25 W, y a 1, 3, 6, 9 y 12 días después de la irradiación. — Lirio no irradiado; — Día 01; — Día 03; — Día 06; — Día 09; — Día 12.

El mismo seguimiento físico durante 12 días, mencionado para el lirio acuático irradiado con la potencia de 20 W, fue realizado para este caso. Sin embargo, se presentó un caso contrario, ya que se consiguió un deterioro físico en algunas de las hojas, principalmente en las orillas de la misma, pero sin alcanzar la necrosis de la planta, como se muestra en las Figuras 34 y 35.



*Figura 34. Lirio irradiado a 4kHz – 25W, inmediatamente después de la irradiación.*



*Figura 35. Lirio irradiado a 4kHz – 25W, 12 días después de la irradiación.*



Empleando 30 W de potencia, se obtuvieron los siguientes espectros de la Figura 36, en donde se observa un mayor efecto en las bandas absorción de los pigmentos fotosintéticos durante el monitoreo, principalmente 12 días después de la irradiación (línea verde); incluso se presenta una deformación en la banda característica de los pigmentos fotosintéticos, localizada entre los 600 y 700 nm del espectro. Con esta irradiación, se puede observar una ligera disminución de la absorción de los espectros incluso a pocos días después de haber llevado a cabo la incidencia de irradiación, como se puede ver en el día 1 (línea roja) y 3 (línea azul).

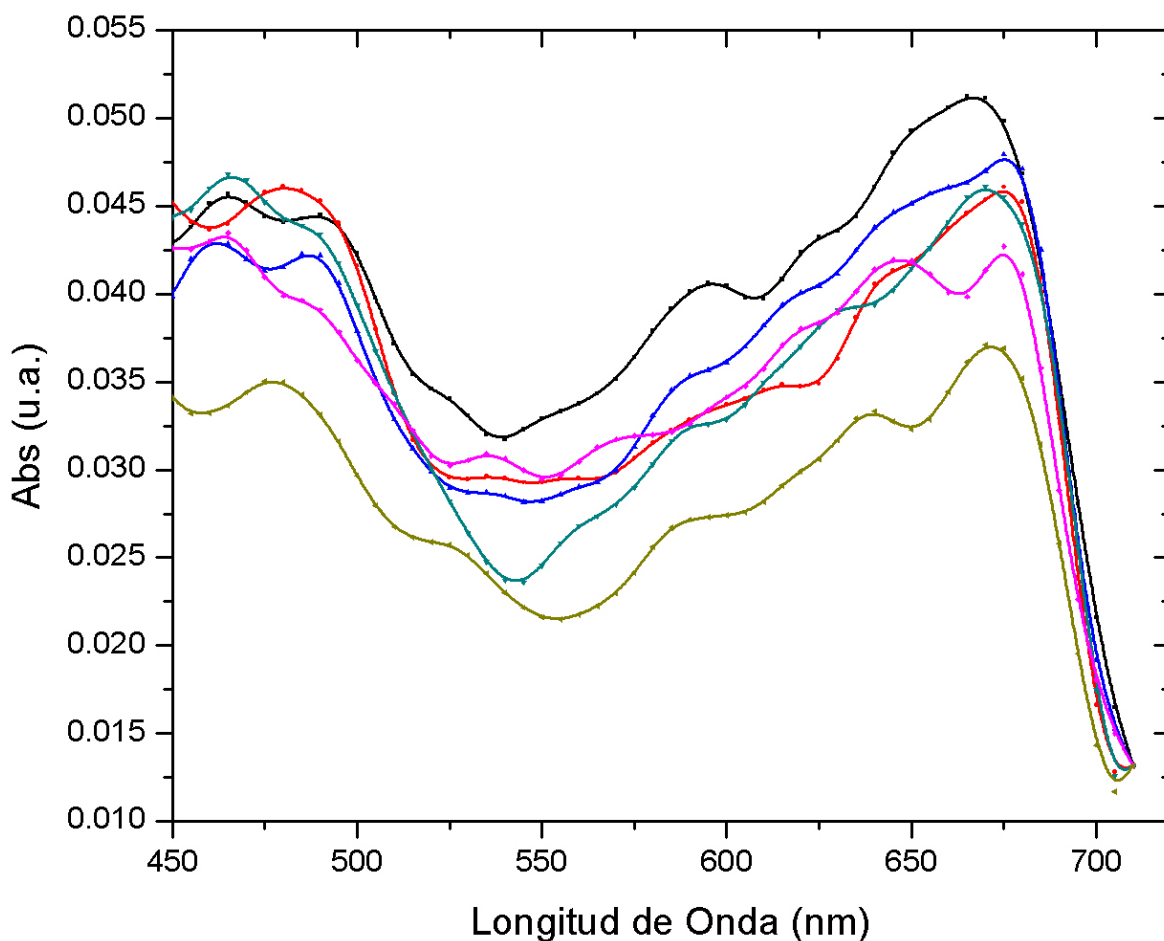


Figura 36. Espectros de excitación fotoacústica de lirio acuático no irradiado e irradiado a 4 kHz y 30 W, y a 1, 3, 6, 9 y 12 días después de la irradiación. — Lirio no irradiado; — Día 01; — Día 03; — Día 06; — Día 09; — Día 12.

De la misma manera para esta irradiación, se llevó a cabo el seguimiento físico de la planta mediante fotografías, en la Figura 37 se observa el lirio acuático inmediatamente después de haber sido sometido a la irradiación.

---

En este caso, mediante el monitoreo, se consiguió obtener un resultado similar a lo observado mediante la EFA, ya que, la planta presento un mayor daño en la mayoría de sus hojas como se muestra en la Figura 38. Algunas de estas presentaron una significativa deshidratación y despigmentación, principalmente, a los 12 días después de la irradiación. Mientras que el resto presenta un estrés hídrico en las hojas y peciolo, lo cual nos indica que existe una congruencia entre los espectros obtenidos mediante la EFA y el monitoreo físico del lirio.



*Figura 37. Lirio irradiado a 4kHz – 30W, inmediatamente después de la irradiación.*



*Figura 38. Lirio irradiado a 4kHz – 30W, 12 días después de la irradiación.*

La Figura 39 muestra los espectros obtenidos mediante la EFA, para las muestras de lirio acuático no irradiado y varios días después de la irradiación a la potencia de 35 W.

En este caso, se encontró con un efecto particular, ya que se puede observar que durante los primeros días después de la irradiación existe un efecto negativo en la absorción de los pigmentos y, por lo tanto, una disminución en la absorción en las bandas, tanto en la parte roja de los 600 a los 700 nm, como en la azul (450 – 550 nm) del espectro, como se ve en las líneas del día 1 (Color rojo) y del día 3 (Color azul). Sin embargo, al paso de los días la absorción fotoacústica comenzó a aumentar, hasta obtener incluso una mayor absorción que la del lirio acuático sin irradiar para los últimos días del monitoreo. Esto se puede apreciar en los espectros de los días 9 (línea rosa) y 12 (línea verde). Dicho efecto podría ser atribuido a una supuesta recuperación de la planta.

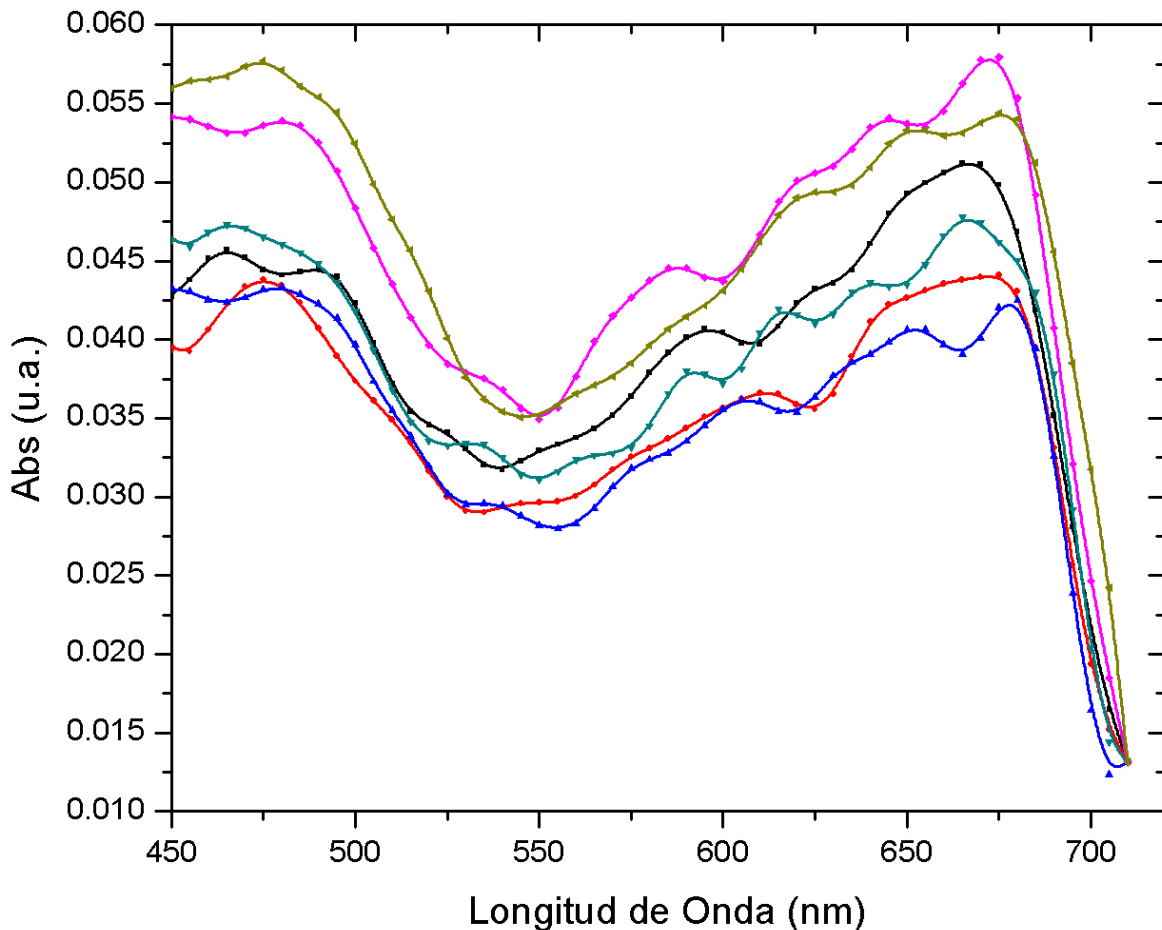


Figura 39. Espectros de excitación fotoacústica de lirio acuático no irradiado e irradiado a 4 kHz y 35 W, y a 1, 3, 6, 9 y 12 días después de la irradiación. — Lirio no irradiado; — Día 01; — Día 03; — Día 06; — Día 09; — Día 12.

---

Por último, el monitoreo como resultado de esta irradiación no nos permite encontrar efectos severos a la planta o similares a los encontrados en las irradiaciones anteriores, a pesar de haber sido irradiada con una mayor potencia. Las fotografías tomadas a los lirios, durante días posteriores a la irradiación se presentan a continuación, en donde la Figura 40 muestra el lirio acuático inmediatamente después de haber sido irradiado, y la Figura 41, el lirio después de 12 días después de su irradiación, en donde se puede apreciar que la coloración de la planta es muy similar en ambas imágenes.



*Figura 40. Lirio irradiado a 4kHz – 35W, inmediatamente después de la irradiación.*



*Figura 41. Lirio irradiado a 4kHz – 35W, 12 días después de la irradiación.*

### c. Análisis y discusión de los resultados

Mediante los espectros a diferentes frecuencias de modulación obtenidos, se determinó que la mejor reproducción de las bandas características de los pigmentos de lirio acuático y una amplitud fotoacústica elevada (mayor a los demás), fue obtenida utilizando una frecuencia de 13 Hz de modulación; esto con referencia a los espectros de absorción ópticos de las plantas verdes reportados mediante otras técnicas. Por lo tanto, se estableció utilizar dicha frecuencia en los espectros obtenidos para el análisis del efecto de las potencias de irradiación como se muestra en las Figuras 29, 32, 35 y 38.

La Figura 42 nos muestra el espectro de absorción fotoacústica de lirio no irradiado, empleando una frecuencia de 13 Hz en el intervalo visible, en la cual se pueden apreciar las bandas características en la zona roja (450 – 550 nm) y azul (600 – 700 nm) del espectro, representadas por otras técnicas de absorción óptica.

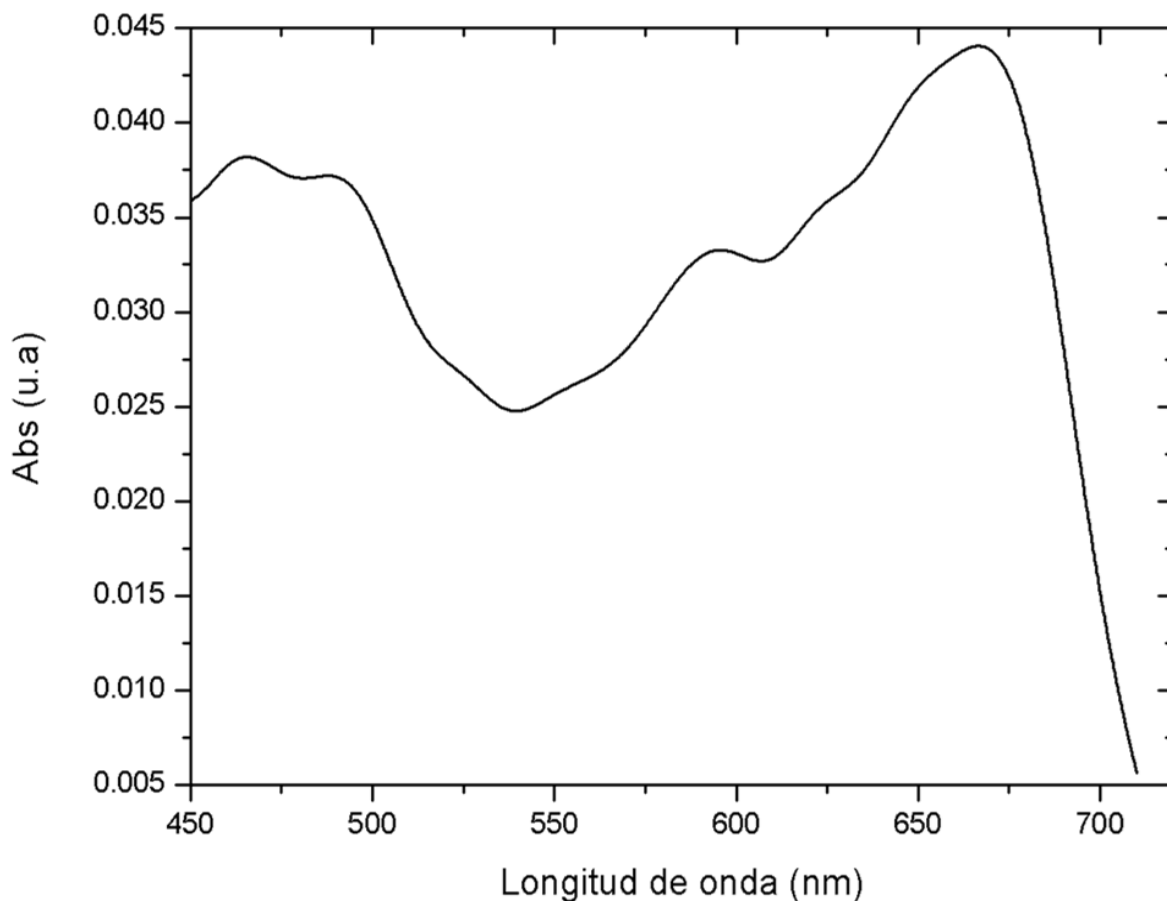


Figura 42. Espectro de excitación fotoacústica de una muestra de lirio acuático no irradiado, empleando 13 Hz de frecuencia de modulación.

Las bandas de absorción características de las plantas verdes son proporcionadas por los pigmentos fotosintéticos. Estos pigmentos consisten principalmente en dos tipos de clorofila que son la clorofila *a* y la clorofila *b*, los cuales absorben radiación en longitudes de onda entre 400 y 700 nm, como se muestra en la Figura 43, y se encuentran dentro del cloroplasto. El cloroplasto es el orgánulo celular en el que tienen lugar las reacciones bioquímicas asociadas con la fotosíntesis (Gracia, 2015). Además de estos dos principales, se encuentra un tercero, que son los carotenos, los cuales poseen dos bandas características en la región azul del espectro.

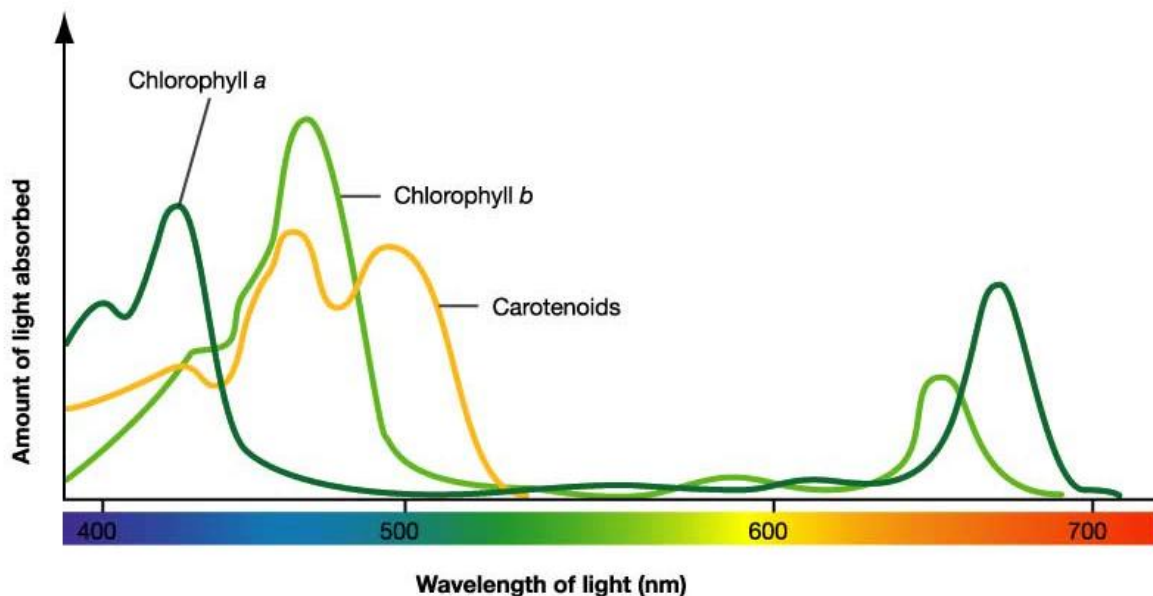


Figura 43. Espectro de absorción de los principales pigmentos fotosintéticos.

Con la finalidad de recuperar de manera individual la contribución de estos pigmentos dentro del espectro de la Figura 41, se empleó la técnica de la separación de la fase descrita en el capítulo III de este trabajo, empleando los valores de amplitud y fase como se muestra en la Figura 44.

Mediante esta técnica, se lograron obtener los espectros de absorción correspondientes a los pigmentos fotosintéticos (clorofilas *a* y *b*) para la designada para este trabajo *región roja*, que comprende desde los 600 hasta los 710 nm. En donde, la señal de la clorofila *a* apareció a un ángulo de  $40^\circ$ , por lo tanto, el ángulo de la clorofila *b* se encuentra perpendicular ( $90^\circ$ ) a este. Mientras que esta banda de la clorofila *a* desapareció a los  $280^\circ$  y solo apareció la banda de la clorofila *b*, por lo tanto, el ángulo de separación que hay entre estas dos bandas es de  $120^\circ$  como se muestra en la Figura 44.

$$\Phi = \phi_A - \phi_B = 120^\circ$$

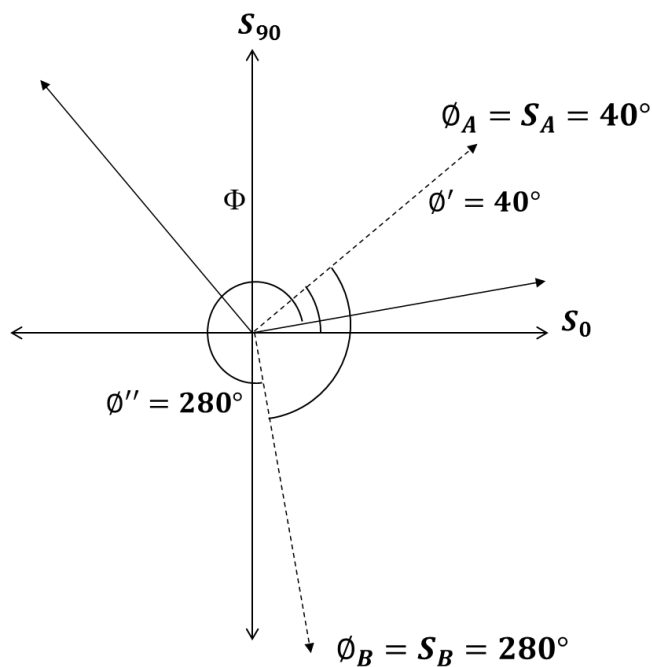


Figura 44. Ángulos de separación entre SA y SB para la técnica de Separación de la Fase.

En el espectro de la Figura 45 se pueden apreciar las dos bandas las cuales son correspondientes a la clorofila *b* con un máximo en 655 nm (Línea color azul) y a la clorofila *a* con un máximo en 670 nm (Línea color verde); así como la superposición de estas dos con la línea color rojo y el espectro del lirio sin irradiar con la línea color negro.

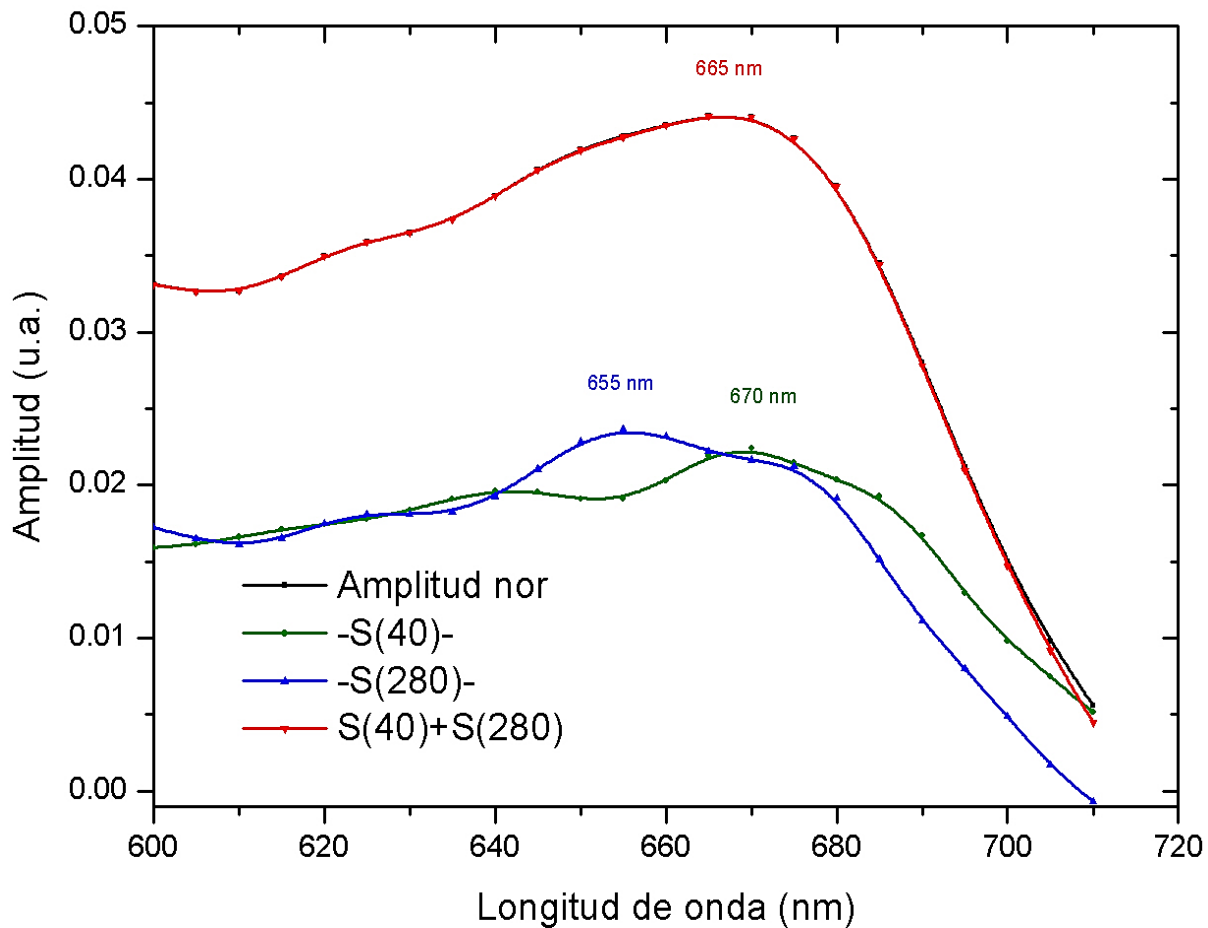


Figura 45. Separación de la fase del espectro de una muestra de lirio acuático no irradiado, empleando 13 Hz de frecuencia de modulación.

De la misma manera, se determinó que la mejor potencia para irradiar es empleando 30 W, debido a que el análisis mediante la EFA, así como los efectos presentados físicamente a la planta, se encuentran en esta irradiación.

Utilizando esta potencia, los daños y efectos causados por efecto de la cavitación en la planta, un elevado estrés hídrico y la deshidratación parcial en algunas de sus hojas, son irreversibles para la planta.

Mediante la aplicación de la TSF a plantas de lirio acuático irradiado, se encontró una mayor complejidad para llevar a cabo esta técnica, debido probablemente a la generación de componentes que pueden interferir en la absorción de los pigmentos fotosintéticos, dentro de la planta, a causa de la ruptura de moléculas debido al fenómeno de cavitación en las estructuras acuosas.



Sin embargo, a través de la Fig. 56, se logró determinar mediante el espectro del lirio acuático irradiado a 4 kHz y 30 W, a 12 días después de la irradiación, una deformación en la banda que representa a la clorofila *b* en los 655 nm, lo cual sugiere un daño a este pigmento.

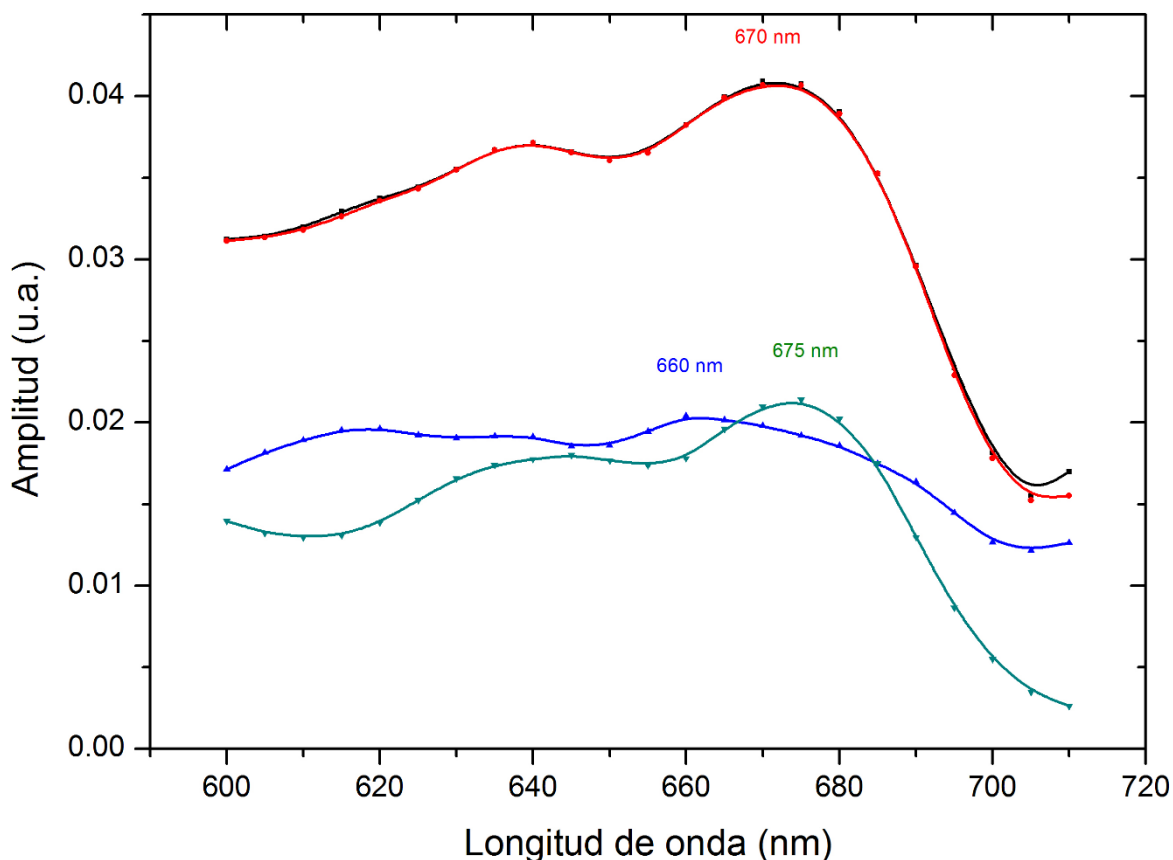


Figura 46. Separación de la fase del espectro de una muestra de lirio acuático irradiado a 4 kHz y 30 W, después de 12 días después de la irradiación.

Mientras que utilizar una potencia mayor, es decir para este caso 35 W, los efectos incididos sobre la planta se ven atacados para la preservación de la planta, e incluso la planta puede conseguir reponerse de los mismos, debido quizá a que no se consiga de manera adecuada la generación del fenómeno de la cavitación, a causa las características de las ondas acústicas específicas para esta irradiación.

Sin embargo, los resultados obtenidos para esta irradiación se encuentran sujetos a la demostración de su repetitividad dentro del laboratorio.

---

## IV. Estudio de la contribución fototérmica y fotobárica en la señal fotoacústica en plantas de lirio acuático irradiadas con frecuencias sónicas.

### a. Procedimiento experimental

El mantenimiento y conservación en estado óptimo de las plantas de lirio acuático utilizadas en este estudio, se llevó a cabo de la misma manera que lo descrito en el capítulo 5. De igual forma, el sistema de irradiación empleado, fue similar al utilizado en dicha sección.

Una vez llevada a cabo la irradiación sónica, las plantas de lirio acuático se mantuvieron bajo las mismas condiciones de control y fue monitoreada la actividad fotosintética durante 12 días mediante la TFA-t, para analizar los efectos de la irradiación, mediante el efecto fotobárico de las hojas.

En donde se empleó una fuente de radiación de halógeno, a una potencia de 600 W, para la emisión de la luz blanca continua; además, se utilizó un láser de diodo, con un pico de potencia máximo de 500 mW y una longitud de onda de la luz roja de alrededor de 645 - 700 nm, como fuente de radiación monocromática. A la salida de este láser se colocó un filtro óptico con la finalidad de atenuar la potencia de la luz roja de salida, obteniendo con esto una potencia de 18 mW y evitar con esto, el cualquier daño posible a la planta, causado por la potencia del láser. Este último haz monocromático, fue interrumpido periódicamente mediante un modulador mecánico a una frecuencia de 30 Hz. Por lo tanto, el haz de luz blanca y el haz monocromático modulado juntos, son dirigidos mediante una fibra óptica bifurcada hasta la celda fotoacústica abierta como se muestra en la Figura 47.

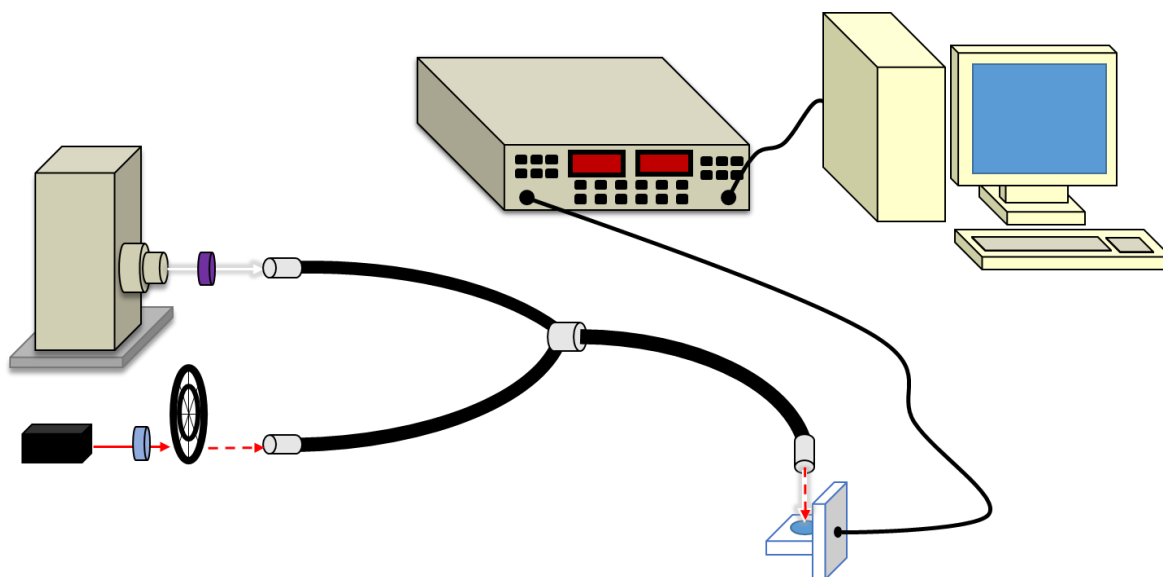


Figura 47. Esquema de la técnica Fotoacústica resuelta en tiempo.

El efecto fotobárico fue descrito en capítulo III de este trabajo, para este caso se empleó una celda abierta, en donde se colocó una hoja *en vivo* de lirio acuático por debajo de la celda y fue sellada mediante grasa de vacío, con la finalidad de evitar fugas de presión dentro de la cámara, mientras que por la parte superior de la cámara e igualmente sellada con grasa, fue colocada una ventana de cuarzo, por donde inciden los haces de luz blanca continua y de luz monocromática modulada.

Con la finalidad de monitorear la generación de  $O_2$  de las muestras de lirio acuático, se determinó la contribución de los efectos fotobárico y fototérmico de la señal Fotoacústica en hojas de lirio acuático irradiado y no irradiado. En donde se realizaron mediciones de la generación de oxígeno modulado durante 180 segundos, con un tiempo de 2 segundos entre cada medición, es decir, una toma de 90 muestreos.

Directamente al haz (parte superior) de la hoja se hizo incidir el haz del láser a una frecuencia de modulación de fija de 30 Hz, mientras que la luz de fondo continua fue suspendida cada 30 segundos, para observar el efecto fotobárico en la muestra.

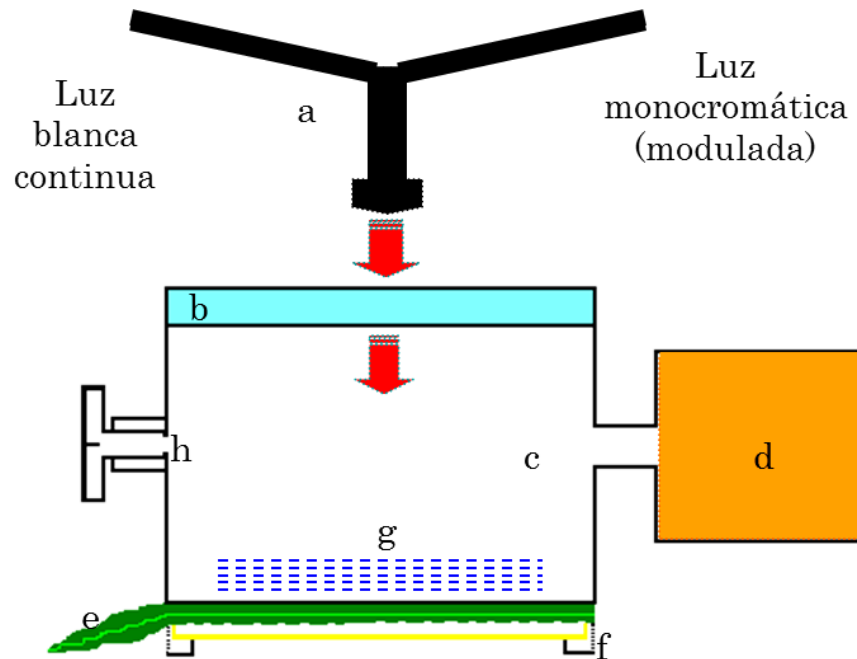


Figura 48. Celda foto acústica abierta: (a) Fibra óptica bifurcada, (b) ventana de cuarzo, (c) Cámara fotoacústica, (d) Detector acústico, (e) muestra de lirio, (f) soporte de vidrio, (g) Respuesta fototérmica y fotobárica (h) Válvula de escape.

## b. Resultados

En las siguientes figuras se presentan las mediciones del denominado “Efecto negativo fotosintético” de las contribuciones de la señal fotobárica y fototérmica, que se utiliza para determinar la actividad fotoquímica de las hojas "in vivo" e "in situ".

El comportamiento de las contribuciones fotobárica y fototérmicas de la señal PA fueron medidas como una función del tiempo, de las hojas de lirio antes y después de exponerse a las radiaciones a una frecuencia en la gama sónica. En cada una de estas mediciones fue empleada una frecuencia de modulación fija de 30 Hz para el láser.

En este “Efecto negativo”, durante los primeros 30 segundos, la lámpara comienza apagada “off”. Durante este tiempo, se presentan las contribuciones fotobárica y fototérmica, que es en donde una gran parte de la luz láser modulada absorbida por la hoja es transformada íntegramente en calor, mientras que otra parte se transmite hacia el haz vascular y el resto se difunde hacia la cámara FA.

La luz láser modulada absorbida por la hoja es en primer lugar utilizada en el proceso fotosintético que da lugar como uno de sus productos a la emisión de O<sub>2</sub>.

Inmediatamente se enciende la lámpara de luz blanca “on” durante 30 segundos y en este caso la contribución fotobárica, debido a la saturación de los centros de reacción, desaparece y por lo tanto la señal fotoacústica consiste únicamente en el componente fototérmico.

En los siguientes 30 segundos se suprime de nuevo la luz continua de la lámpara “off”, y aparece una vez más la contribución fotobárica que se suma a la contribución fototérmica ocasionando el incremento de la señal FA, como se muestra en las siguientes figuras. La evolución de oxígeno fotosintético se hace presente. En los 30 segundos consecutivos se enciende la lámpara y continúa el proceso, hasta alcanzar 180 segundos de medición.

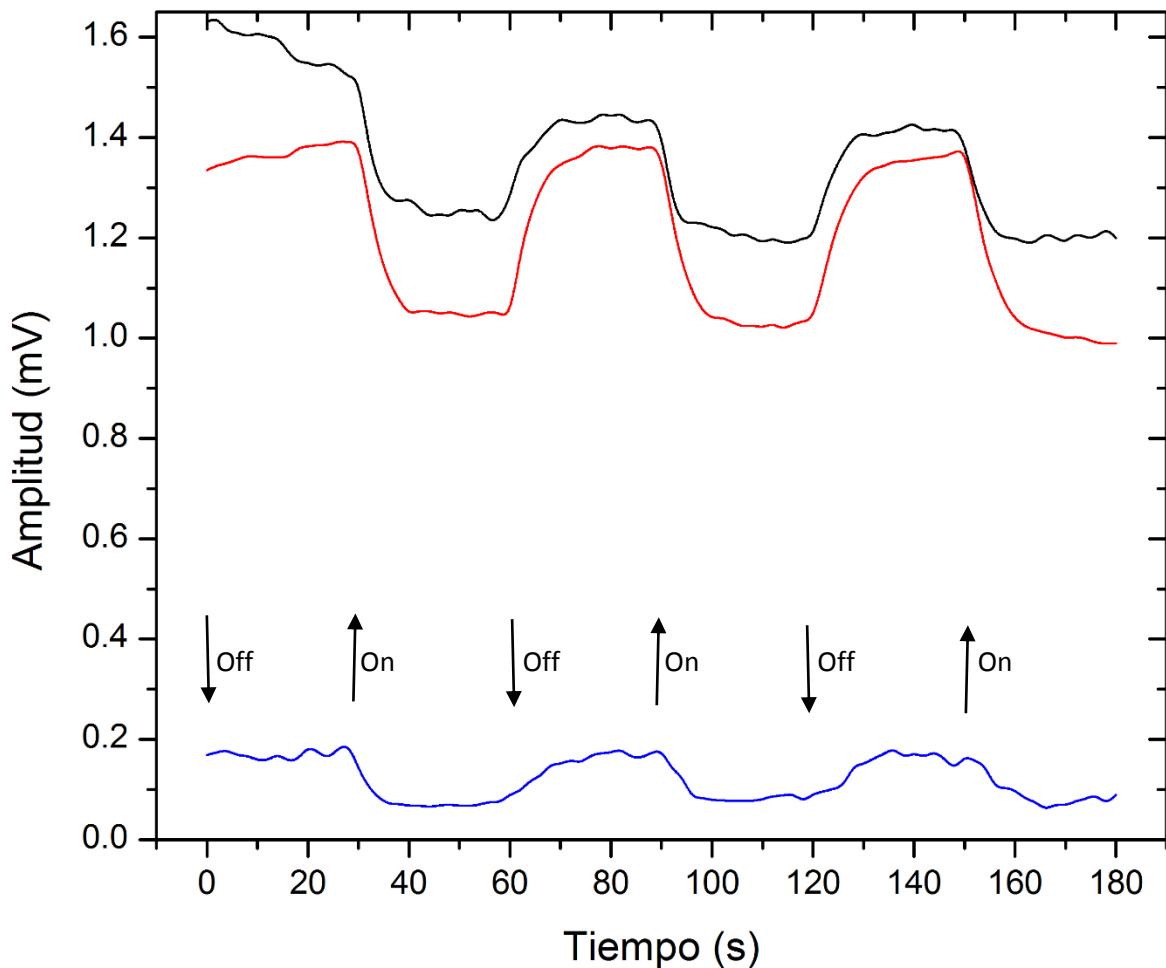


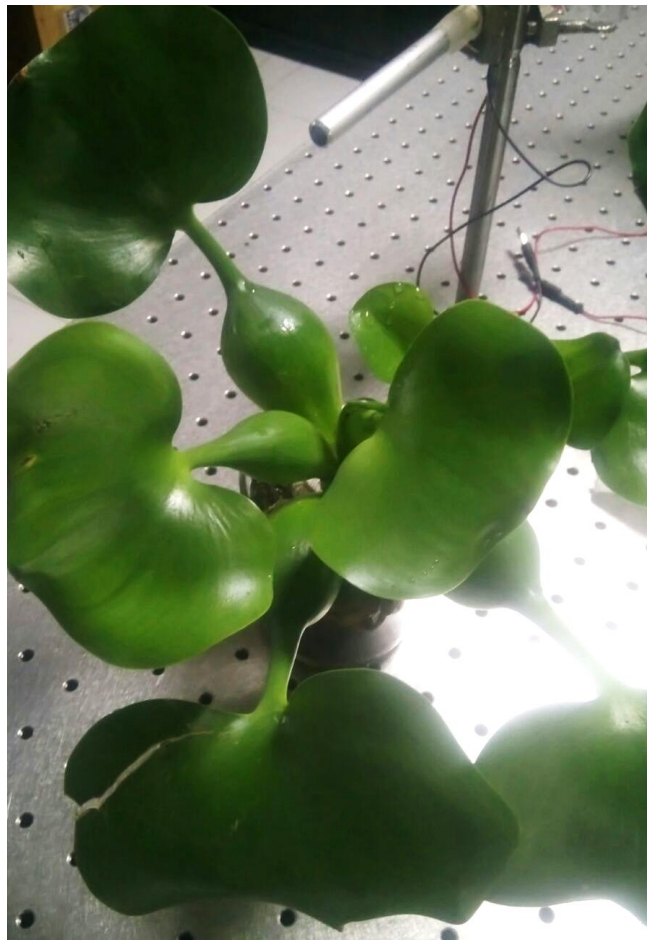
Figura 49. Contribución fotobárica y fototérmica de la señal PA, medida en función de tiempo para hojas de lirio acuático antes, 1 y 12 días después de haber sido irradiado a una frecuencia de 4 kHz y 30 W de potencia durante 1 H. — Lirio no irradiado; — Día 01; — Día 12.

---

La Figura 48 presenta el efecto y los daños en la actividad fotosintética, mediante el comportamiento de las contribuciones fotobáricas y fototérmicas de la señal de PA medida en función del tiempo, en las hojas de lirio antes, uno y doce días después de la exposición a irradiación durante 1 Hora empleando 4 kHz de frecuencia y 30 W de potencia.

En la Figura anterior podemos observar con la línea negra la amplitud del lirio acuático sin irradiar, en donde se pueden apreciar las contribuciones fotobáricas y fototérmicas de la señal de PA. Con la línea roja, a 24 horas después de haber sido irradiadas las muestras de lirio acuático en donde se muestra una ligera disminución en la amplitud de la señal y por ultimo con línea azul a 12 días des pues de la irradiación en donde la respuesta de estas dos contribuciones se aprecia completamente atenuada.

Estos datos pueden ser comparados con el monitoreo físico realizado a la planta antes de la incidencia de irradiación (Ver Figura 49) y hasta los doce días después de esta, como se muestra en la Figura 50, en la cual se aprecia un deterioro físico, como deshidratación en las extremidades de la planta y una severa deshidratación en todo el cuerpo de la planta.



*Figura 50. Lirio acuático antes de la irradiación a 1 H, empleando una frecuencia de 4kHz y 30W de potencia.*



*Figura 51. Lirio acuático 12 días después de la irradiación a 1 H, empleando una frecuencia de 4kHz y 30W de potencia.*

Empleando un tiempo mayor de exposición a la irradiación sónica, es decir 3 Horas, empleando 4 kHz y 30 W, se obtuvo la Figura 51, en donde se presentan las contribuciones fotobáricas y fototérmicas de la señal de PA resuelta en tiempo, en las hojas de lirio antes y uno y doce días después de la exposición a irradiación.

En este caso se puede observar que para un día después de la irradiación (Línea roja) la disminución de la amplitud de la señal PA, es mayor que para la irradiación a 1 Hora, en comparación con las mediciones de las hojas de lirio acuático antes de la irradiación para ambas irradiaciones.

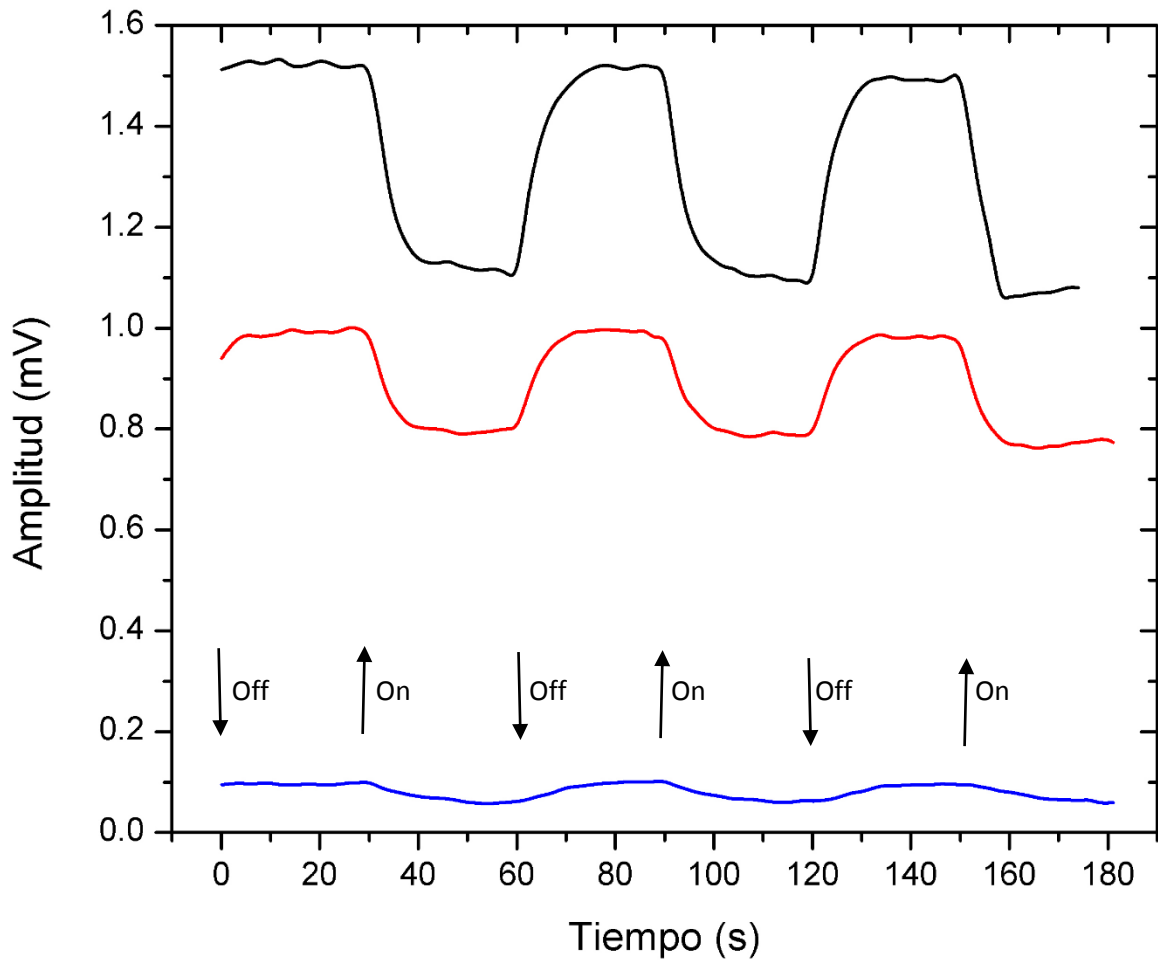


Figura 52. Contribución fotobárica y fototérmica de la señal PA, medida en función de tiempo para hojas de lirio acuático antes, 1 y 12 días después de haber sido irradiado a una frecuencia de 4 kHz y 30 W de potencia durante 3 H. — Lirio no irradiado; — Día 01; — Día 12.

De manera similar, los efectos físicos ocasionados por esta irradiación, se pudieron apreciar con el monitoreo mediante fotografías del lirio acuático, en las cuales se muestra una deshidratación y pérdida de la turgencia principalmente en aquellas hojas en donde se recibió mayor irradiación, debido a la cercanía de los transductores.





Figura 53. Lirio acuático antes de la irradiación a 3 H, empleando una frecuencia de 4kHz y 30W de potencia.



Figura 54. Lirio acuático 12 días después de la irradiación a 3 H, empleando una frecuencia de 4kHz y 30W de potencia.

La Figura 55 muestra las gráficas de la amplitud de la señal FA en función del tiempo, para una muestra de lirio acuático no irradiado e irradiado a 4 kHz y 30W durante un tiempo de exposición de 5 horas y los efectos generados después de 1 y 12 días.

De manera similar a la irradiación durante 3 horas, se aprecia una disminución de la señal de amplitud fotoacústica y de la respuesta fotobárica después de un día de haber realizado la irradiación a la planta. Mientras que para el día 12 después de la irradiación, se presentó la desaparición de la contribución fotobárica en la señal FA.

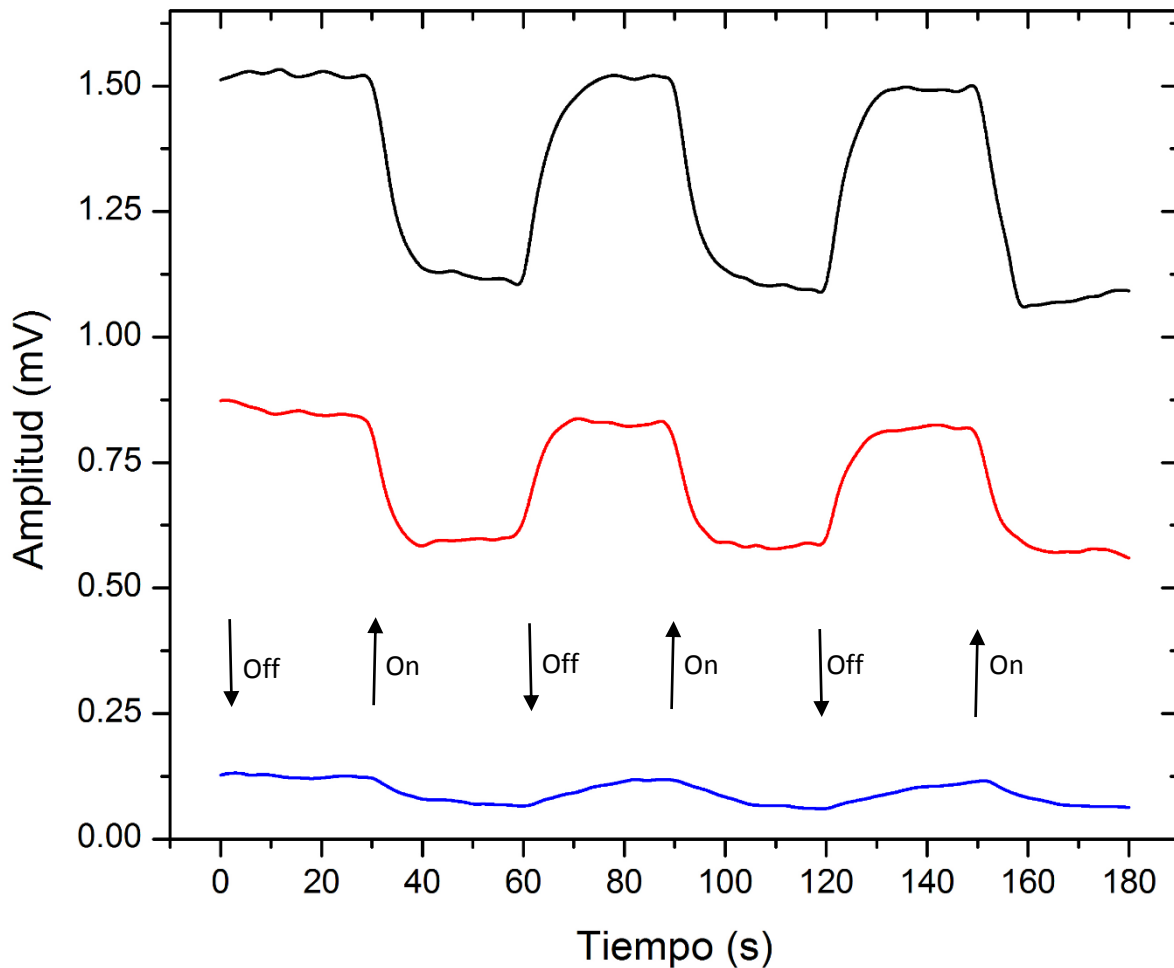


Figura 55. Contribución fotobárica y fototérmica de la señal PA, medida en función de tiempo para hojas de lirio acuático antes, 1 y 12 días después de haber sido irradiado a una frecuencia de 4 kHz y 30 W de potencia durante 5 H. — Lirio no irradiado; — Día 01; — Día 12.

Mediante el monitoreo físico de las plantas irradiadas, se observa una deshidratación en las hojas y peciolas a causa del estrés hídrico generado por el efecto de la cavitación a los 12 días después de la irradiación, como se muestra en la Figura 57 y una sequedad en las orillas de algunas hojas que no presentaban las plantas antes de ser irradiadas (Ver Figura 56).



*Figura 56. Lirio acuático antes de la irradiación 5 H, empleando una frecuencia de 4kHz y 30W de potencia.*



*Figura 57. Lirio acuático 12 días después de la irradiación a 5 H, empleando una frecuencia de 4kHz y 30W de potencia.*

La Figura 58 muestra las amplitudes de la señal FA para una muestra de lirio acuático no irradiado e irradiado a 4 kHz y 30 W durante 7 horas, después de 1 y 12 días.

Para este caso se aprecia una apreciable disminución de la señal de amplitud fotoacústica después de un día de haber realizado la irradiación a la planta. Y similar a lo que se presentó con el resto de las irradiaciones a 12 después de la irradiación, se obtiene la desaparición de la contribución fotobárica en la señal FA.

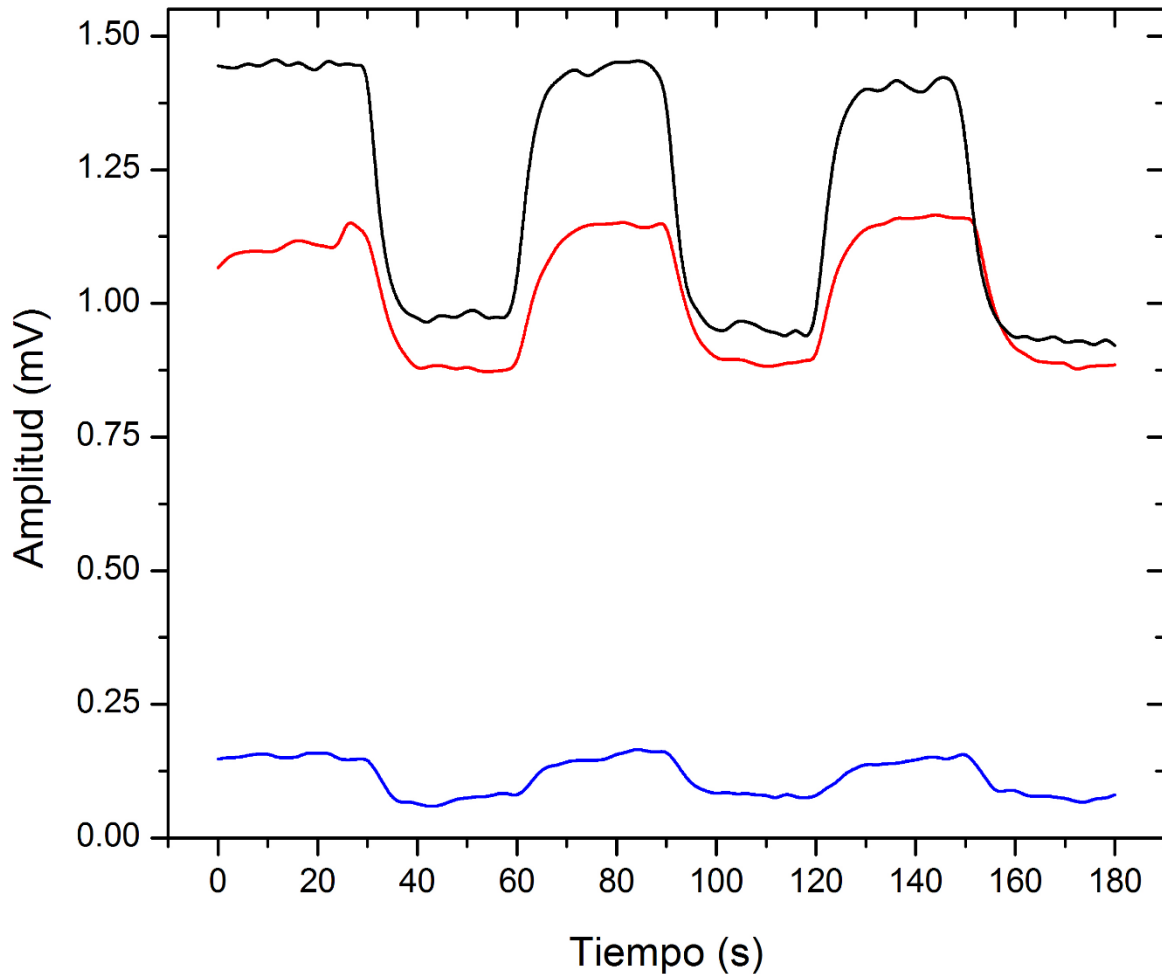


Figura 58. Contribución fotobárica y fototérmica de la señal PA, medida en función de tiempo para hojas de lirio acuático antes, 1 y 12 días después de haber sido irradiado a una frecuencia de 4 kHz y 30 W de potencia durante 7 H. — Lirio no irradiado; — Día 01; — Día 12.

La deshidratación y estrés hídrico en peciolo y hojas se presentó una vez más en las plantas irradiadas por 7 horas a los 12 días después de la irradiación (Ver Fig. 60), sin embargo, los efectos no fueron tan pronunciados como los obtenidos en irradiaciones anteriores.



*Figura 59. Lirio acuático antes de la irradiación a 7 H, empleando una frecuencia de 4kHz y 30W de potencia.*



*Figura 60. Lirio acuático 12 días después de la irradiación a 7 H, empleando una frecuencia de 4 kHz y 30W de potencia.*

---

### c. Análisis y discusión de los resultados

Emplear diferentes tiempos de irradiación sónica a muestras de lirio acuático, demostró, mediante la amplitud de la señal FA en función del tiempo, una disminución de la generación de oxígeno al paso de los días. En cada una de estas irradiaciones, se obtuvo como resultado, una significativa disminución de las contribuciones fotobárica y fototérmica en la señal FA, al paso 12 días después de la incidencia de irradiación a las plantas.

Las gráficas obtenidas con respecto a la evolución de oxígeno de las muestras de lirio acuático, nos indican la generación de posibles daños a los componentes físicos relacionados con el sistema de respiración e intercambio de gases de la planta a causa del fenómeno de la cavitación.

Dentro de los componentes más importantes en el proceso de intercambio gaseoso que constituyen a la planta, se encuentran los estomas (Ver Fig. 61). Los estomas están compuestos por dos células oclusivas, y estos son formaciones especiales de la epidermis de las hojas que permiten el intercambio gaseoso entre la planta y el medio externo (Alonso 2011).

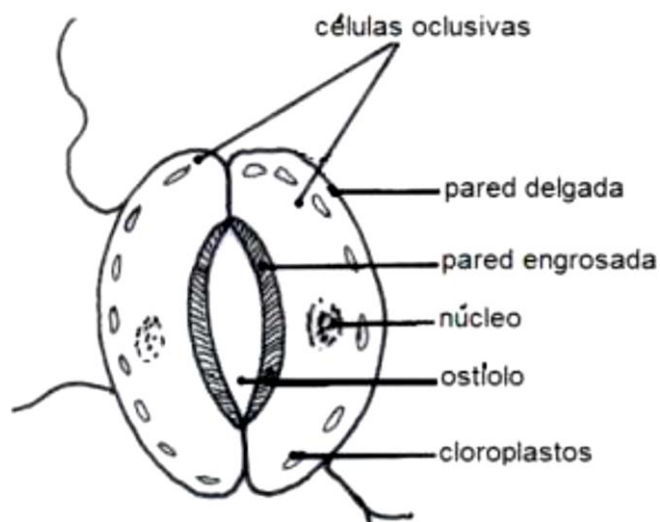


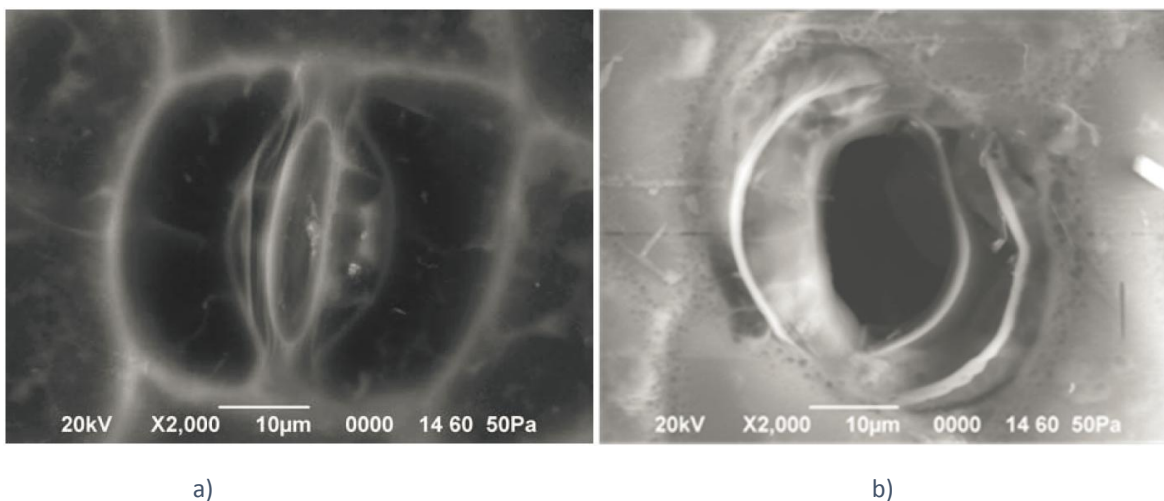
Figura 61. El estoma y sus componentes. (Obtenido de la página en internet: <http://anatomiavegetal.weebly.com>)

Las células oclusivas del estoma, que en general poseen una forma arriñonada, dejan entre sí un orificio llamado ostíolo. Las células oclusivas son vivas y poseen núcleo visible y

---

cloroplastos. El engrosamiento interno de la pared hace que cuando las células oclusivas están turgentes por la abundancia de agua, se dilate la pared delgada externa y el ostíolo se abre.

Debido a que estas células poseen una estructura interna acuosa, están sujetas a ser afectadas por el fenómeno de cavitación generada por la irradiación acústica. Este caso podría ser similar a lo reportado por Cardona (Cardona 2009), en donde a través de las micrografías obtenidas por SEM (Microscopia Electrónica de Barrido), presenta inicialmente de los estomas de lirio acuático sin irradiar, los cuales no muestran daño alguno. Mientras que al ser sometidas a irradiación ultrasónica, se obtienen daños severos en los estomas que se presentan como el colapso y necrosis de las células oclusivas y demás componentes, ocasionando con esto, fallas en el intercambio de gases, en donde se encuentra especialmente la liberación de oxígeno por parte de la planta.



*Figura 62. Micrografía de la estoma de lirio acuático. a) Lirio acuático no irradiado. b) Lirio acuático irradiado a 17 kHz. (Tomada de: Cardona 2009)*

Con la finalidad de complementar los resultados obtenidos sobre el intercambio de gases de las plantas de lirio, se llevó a cabo la medición de la tasa de transpiración de las plantas en vivo, mediante el Sistema Li-Cor, para muestras de lirio no irradiado e irradiado a una frecuencia de 4 kHz y 30 W de potencia sometidas a 1, 3, 5 y 7 Horas de irradiación y su posterior monitoreo a 1 y 12 días después de la irradiación.

La Figura 63 muestra la tasa molar de transpiración del lirio acuático no irradiado e irradiados a distintas horas. Se puede observar que la transpiración del lirio sin irradiar (línea negra) no cambia con el paso de los días, sin embargo, al llevar a cabo cualquier

irradiación, al paso de un día, el flujo de transpiración decae notablemente. A pesar de esta disminución, la transpiración se mantiene similar durante los doce días de monitoreo.

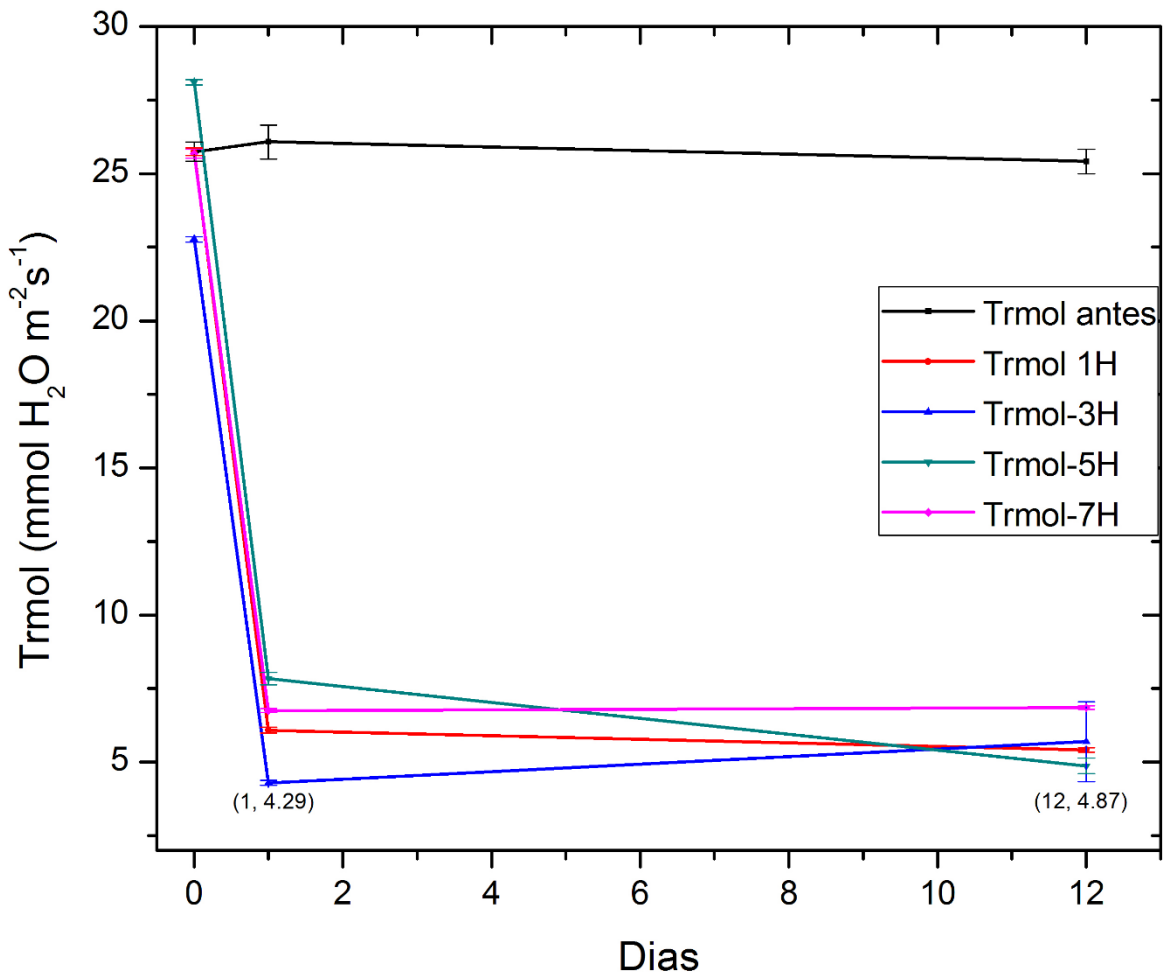


Figura 63. Tasa de transpiración de las hojas de lirio acuático no irradiado e irradiado a 4 kHz y 20 W, durante 1, 3, 5 y 7 Horas, así como su monitoreo a 1 y 12 días después de la irradiación.

Mediante el monitoreo físico a las muestras de lirio acuático presentado en los resultados de este capítulo corrobora los resultados obtenidos con el sistema Li-Cor, ya que una disminución en la transpiración nos indica que las muestras de lirio irradiadas presentan un estrés hídrico y deshidratación a causa del incorrecto funcionamiento de los estomas y su pérdida hídrica durante las primeras horas después de la irradiación, dejando sin turgencia a los peciolo y hojas.



---

## V. Conclusiones

Se estudió el efecto de la irradiación sónica de 4 kHz en la fotosíntesis, intercambio de gases y estructura de plantas de lirio acuático variando intensidades (20 - 35 W) y tiempos de exposición (1 - 7 h). La elección de la frecuencia de 4 kHz fue referida a los resultados reportados por el mismo grupo de investigación como una de las más efectivas en el rango sónico.

Se diseñó e implementó un recinto cerrado acústicamente aislado para llevar a cabo las irradiaciones sobre las plantas, forrado en el interior con espuma acústica y fue equipado con soportes para los transductores y conectores para el generador sónico.

La longitud de difusión térmica en las hojas de lirio fue determinada, primero midiendo el espesor promedio de las hojas, obteniendo como resultado 536  $\mu\text{m}$ , y mediante el valor de difusividad térmica reportado para las plantas verdes se calculó  $\mu$  (48 - 74  $\mu\text{m}$ ) para frecuencias de 7 a 17 Hz, siendo todas ellas inferiores al espesor de las hojas demostrando un comportamiento térmicamente grueso. En particular para  $f = 13$  Hz,  $\mu = 54 \mu\text{m} \ll 536 \mu\text{m} = l_s$ . Esta frecuencia de 13 Hz fue la elegida para la realización de los espectros de espectroscopía fotoacústica debido a que presenta una forma más representativa de los espectros de absorción ópticos de los pigmentos de las plantas verdes obtenidos por UV-VIS, sin embargo, la forma de los espectros obtenidos mediante la EFA dependen de la frecuencia en virtud de la mayor o menor penetración de la onda térmica en la hoja.

Los resultados de los espectros obtenidos mediante la EFA para las muestras irradiadas a 4 kHz y potencias de 20, 25, 30 y 35 W, muestran, en general, una disminución en la intensidad de las bandas características de las clorofilas *a* y *b*, así como de los carotenos, que se incrementa con los días posteriores a la irradiación y siendo máxima para la potencia de 30 W. Sin embargo, no desaparece la respuesta óptica de los pigmentos indicando que la hoja preserva cierta capacidad de seguir llevando a cabo el proceso de captación luminosa para la realización de la fotosíntesis.

Para la potencia de irradiación de 35 W se observa de los espectros de la EFA una disminución de la intensidad en las bandas de absorción de los pigmentos, en los primeros días posteriores a la irradiación, sin embargo, aparece una recuperación en las mediciones realizadas a los 9 y 12 días, alcanzando intensidades superiores a las del lirio sin irradiar. Aun cuando estos resultados deberán ser confirmados mediante repetidas mediciones bajo las mismas condiciones se puede proponer que la diferencia en los resultados en este caso

---

es que el mayor radio alcanzado por la mayor parte de las burbujas de cavitación inducidas en la superficie de las partes acuosas de los cloroplastos no logran la implosión debido a que las dimensiones de la estructura del cloroplasto no permiten el crecimiento límite para alcanzar la implosión.

El análisis mediante la técnica fotoacústica resuelta en tiempo de las muestras irradiadas a 4 kHz y una potencia de 30 W, variando el tiempo de exposición de 1 a 7 h, muestran una significativa disminución de ambas contribuciones fotobárica y fototérmica al paso de los días posteriores a la irradiación, en particular, a los 12 días. La caída del escalón fotobárico refleja la disminución de la cantidad de emisión de oxígeno del proceso fotosintético y el intenso decremento de la intensidad de la parte fototérmica es ocasionada por el cambio estructural de la hoja consecuencia de la cavitación.

Para complementar estos resultados, se realizó la medición de la transpiración del lirio irradiado a 4 kHz y una potencia de 30 W, variando el tiempo de exposición de 1 a 7 h, en donde se encontró una disminución notable en la tasa de transpiración de las hojas posteriores a la irradiación, que sugiere un daño en el sistema de intercambio de gases de las plantas irradiadas (estomas). Las fotografías obtenidas por SEM confirman los daños estructurales en estas células importantes en el proceso de intercambio gaseoso.

El monitoreo de la evolución de la estructura de las plantas muestra un deterioro físico al paso de los días posteriores a la irradiación observándose una despigmentación y deshidratación en las hojas y un estrés hídrico principalmente en los peciolo.

---

## Referencias

- Alonso, P 2012, 'Manual de Histología Vegetal', Editorial Mundi-Prensa, España, 319 pags.
- Bonilla-Barbosa, J y Santamaría, B 2013, 'Plantas acuáticas exóticas y traslocadas invasoras', en R. Mendoza y P. Koleff (coords.), *Especies acuáticas invasoras en México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad*, México, pp. 223-247.
- Bults, G, Horwitz, A, Malkin, S & Cahen, D 1982, 'Photoacoustic measurements of photosynthetic activities in whole leaves photochemistry and gas Exchange', *Biochimica et Biophysica. Acta* 679, pp. 452-465.
- Buschmann, C, Prehn H & Lichtenthaler, H 1983, 'Photoacoustic spectroscopy (PAS) and its application in photosynthesis research', *Photosynthesis Research*, No. 5, pp. 29-46. Martinus Nijhoff/Dr W. Junk Publishers, Netherlands.
- Calderón, A, Cardona, A, Nogal, U, Juárez, G, Marín, E & Muñoz, H 2014, 'Photoacoustic analysis of the ultrasonic irradiation effect in the photosynthetic activity in aquatic liliaceae plants', *Applied Radiation and Isotopes*, No. 83, pp. 268–271.
- Calderón, J 2015, 'Efecto del ultrasonido en la fotosíntesis y tasa de transpiración en jacinto de agua', Tesis de Maestría, Instituto Politécnico Nacional, CICATA, Unidad Legaria, México.
- CANEI (Comité Asesor Nacional sobre Especies Invasoras) 2010, 'Estrategia nacional sobre especies invasoras en México, prevención, control y erradicación', Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Offset Rebosán, S.A. de C.V., 91 págs.
- Cardona, A, Abdelarrague R, Peña-Rodríguez, G, Marín, E & Calderón, A 2008, 'Aplicación de la Técnica Fotoacústica Resuelta en Tiempo al Monitoreo de la Fotosíntesis en Plantas de lirio acuático (*Eichhornia Crassipes*)', *Rev. Respuestas*, Año 13, No. 1, pp. 5–12.
- Casierra-Posada, Ávila-León & Riascos-Ortíz 2012, 'Cambios diarios del contenido de pigmentos fotosintéticos en hojas de caléndula bajo sol y sombra', *Dialnet. Temas agrarios*, vol. 17:(1), pp. 60–71.
- Cedeño, B 2013, 'Implementación y puesta a punto de un microscopio fototérmico con detección piezoeléctrica', Tesis de maestría, Instituto Politécnico Nacional, CICATA, Unidad Legaria, México.
- Cohen, A & Carlton, J 1995, 'Nonindigenous aquatic species in a united states estuary: a case study of the biological invasions of the San Francisco bay and delta', A report for the United States Fish and Wildlife Service, Washington, DC, and The National Sea Grant College Program, Connecticut Sea Grant, NTIS Report Number PB96-166525, 272.

---

Furbank, R & Taylor, W 1995, 'Regulation of photosynthesis in C3 and C4 plants: a molecular approach', *The Plant Cell*, Vol. 7, pp. 797-807.

Godínez, M 2006, 'Implementación de la técnica de espectroscopia fotoacústica: aplicada al estudio de silicio poroso elaborado mediante ataque electroquímico', Tesis de maestría, Instituto Politécnico Nacional, CICATA, Unidad Legaria, México.

González, A 1996, 'Control de lirio acuático en cuerpos de agua', Guadalajara, Jalisco: Royal Litographics.

Gracia, C 2015, 'Ecología Forestal: Estructura, Funcionamiento y Producción de las masas forestales' Barcelona, España: Departamento de Ecología de la Universidad de Barcelona. Trabajo en Internet.

Harvey, E & Loomis, L 1928, 'Further Observations on the Effect of High Frequency. Sound Waves on Living Matter', *Biological Bulletin*, Published by: Marine Biological Laboratory Stable, Vol. 55, No. 6, pp. 459-469.

Instituto Mexicano de la Tecnología del Agua (IMTA) 1989, 'Control y aprovechamiento del lirio acuático en México', Coordinación de Investigación.

Jiménez, G y Merchant, L 2003, 'Biología celular y molecular', Universidad Nacional Autónoma de México, Ed. Pearson Educación, México.

Johnson, G, Scholes, J, Phorton, P & Young, A 1993, 'Relationships between carotenoid composition and growth habit in British plantspecies', *Plant Cell Environ*, Vol. 16, Issue 6, pp. 681-686.

Martínez, K 2014, 'Influencia de las pérdidas de calor por convección y radiación en experimentos fototérmicos', Tesis de maestría, Instituto Politécnico Nacional, CICATA, Unidad Legaria, México.

Mei-Yin Wu & J. Wu 2007, 'In-vitro Investigations on Ultrasonic Control of Water Chestnut', *J. Aquat. Plant Manage*, No. 45, pp. 76-83.

Miller, D 1979, 'A cylindrical-bubble model for the response of plant-tissue gas bodies to ultrasound', *J. Acoust. Soc. Am.*, Vol. 65, No. 5, pp. 1313-1321.

Miranda, A & Lot H 1999, 'El lirio acuático, ¿una planta nativa de México?', *Revista Ciencias*, Vol. 53, pp. 50-54.

Nogal, U 2012, 'Estudio de las propiedades ópticas y térmicas en silicio poroso elaborado mediante ataque electroquímico', Tesis de Maestría, Instituto Politécnico Nacional, CICATA, Unidad Legaria, México.

---

Quiroz-Flores, Miranda-Arce & Lot-Helgueras 2008, 'Estudio comparativo de algunas variables fisicoquímicas del agua en canales secundarios de Xochimilco con y sin *Eichhornia crassipes* (martius) solms-laubach', *Polibotanica*, No. 25, pp. 127-133.

Ramil-Rego, Román, R, Gómez-Orellana, Rodríguez, P & Hinojo, S 2015, '*Eichhornia crassipes* (Mart) Solms en el Parque Nacional Marítimo-Terrestre das Illas Atlánticas de Galicia como resultado de un transporte por mar a larga distancia', *Rev. Recursos Rurais*, No. 10, pp. 15-24.

Lagüela, S, Díaz-Vilariño, L & Roca D 2016, 'Infrared Thermography: Fundamentals and Applications', chapter 6, in Riveiro, B & Solla (Editors), M '*Non-Destructive Techniques for the Evaluation of Structures and Infrastructure*', vol. II, CRC press, pp. 113-131.

Salisbury, F & Ross, C 1994, 'Fisiología vegetal', Grupo Editorial Iberoamericana S.A, 1a edición, México, 759 pags.

Spike, B 2006, *The Photoacoustic Effect*, lecture notes distributed in Physics 325. Available from: <https://www.koofers.com>

Taiz, L & Zeiger, E 2006, 'Fisiología vegetal', Castellón de la Plana: Univesitat Jaume, Vol. I, 583 pags.

Tam, A 1989, 'Photothermal techniques in material characterization applications. Review of Progress in Quantitative Nondestructive Evaluation', In: *Review of Progress in Quantitative Nondestructive Evaluation*, Edited by Thomson D & Chimenti D, Vol. 8A, pp. 473-487.

Villaseñor, R & Espinosa, G 1998, 'Catálogo de malezas de México', Universidad Nacional Autónoma de México. Consejo Nacional Consultivo Fitosanitario. Fondo de Cultura Económica.