

CIRCUITO ELÉCTRICO EQUIVALENTE DEL PULVÍNULO DE LA MIMOSA PUDICA L.

Luis Giordano Ramos Traslosheros López

Co Autor: Francisco Hernández Cabrera

UANL-FCFM

Universidad Autónoma de Nuevo León

Facultad de Ciencias Físico Matemáticas

San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México

Resumen:

Aquí se presenta el análisis de la planta *Mimosa pudica* Lynn por medio de espectroscopía de impedancia eléctrica, que resulta en un circuito equivalente con un comportamiento similar. Todos los espectros de impedancia mostraron el mismo comportamiento, difusivo a bajas frecuencias y capacitivo a altas frecuencias, lo que indica que el tipo de proceso subyacente es invariante en el tiempo, incluso en presencia de estímulos externos. Se propuso un circuito equivalente y se ajustaron los datos experimentales por medio del método de mínimos cuadrados no lineales complejos. El circuito modelo presenta elementos difusivos, relacionados con procesos de difusión semi-infinita de los iones encargados de propagar el impulso eléctrico por la planta. La transición entre un estado difusivo y uno capacitivo es de interés para determinar una frecuencia de corte para diseñar un estimulador magnético para la planta, que permita estudiar los efectos del magnetismo en su fisiología.

Palabras claves:

Mimosa pudica, espectroscopía de impedancia eléctrica, potencial de acción, electrofisiología de plantas, circuito equivalente, difusión.

Introducción

La planta *Mimosa pudica* es una planta sismonástica [1], lo que significa que responde a la estimulación táctil realizando movimientos contráctiles de sus hojas y ramas debido al desplazamiento de fluidos que produce cambios de presión sobre las paredes intracelulares de los órganos vegetales involucrados, lo cual se denomina turgencia. Estos movimientos en la *Mimosa* se observan con el cierre de las hojas y la caída del peciolo dependientes de ATP, lo que gasta niveles energéticos de la planta. Esta sensibilidad a factores como la temperatura, iluminación, vibraciones y humedad, ha sido motivo para el extenso estudio de las propiedades eléctricas y fisiológicas de la planta [1], [3], [4-6]. Ya que el estímulo se traduce en una señal eléctrica que se propaga por la planta, la espectroscopía de impedancia eléctrica es adecuada para el estudio de sus propiedades eléctricas [2].

Los movimientos sismonásticos de esta familia de planta son adaptaciones evolutivas a respuestas de defensa (protección ante un depredador) u ofensivas (atrapar a una presa). También el cierre de las hojas impide la saturación de humedad, el crecimiento bacteriano y epifítico, estos factores impactan las capacidades fotosintéticas desfavorablemente. En épocas secas, el pliegue de las hojas disminuye la pérdida de agua; mientras que en presencia de viento fuerte, el cambio estructural reduce el área de la planta expuesta al viento. Otro tipo de movimientos en estas plantas son nictinastias, que ocurren por la noche en respuesta al ritmo circadiano vegetal regulado por la luz [3].

Las respuestas de la planta a los estímulos externos son reguladas internamente, determinadas por procesos químicos que involucran procesos de difusión de iones en forma de potenciales de acción que se propagan de célula a célula en analogía con la propagación de los impulsos nerviosos a lo largo de las neuronas [4-5].

Debido al distintivo comportamiento de la planta y a que sus respuestas fisiológicas son observables a la vista, esta planta ha sido investigada desde hace más de 100 años [6]. En este trabajo se utiliza la Espectroscopía de Impedancia Eléctrica (EIS) [7] para establecer un modelo del pulvínulo mediante un circuito eléctrico equivalente así como los parámetros de la respuesta a estímulos mecánicos. La comprensión de este comportamiento nos permite plantear nuevas hipótesis y describir estrategias en el estudio de los tejidos vegetales.

Métodos

Espectroscopía de impedancia eléctrica

La espectroscopía de impedancia eléctrica es un término

general que engloba las mediciones de señal pequeña de la respuesta eléctrica lineal de un material de interés (incluyendo los efectos de los electrodos) y el análisis subsecuente de la respuesta para obtener información útil sobre las propiedades fisicoquímicas del sistema.

En especial, la espectroscopía de impedancia eléctrica permite realizar análisis celulares en tejidos vegetales, por lo cual se espera que pueda brindar información acerca de los cambios fisiológicos en las plantas. Lo anterior se basa en entender los cambios en los parámetros de impedancia durante el proceso de interés [2].

Si existe un modelo para describir el proceso bajo escrutinio, éste se usa para ajustar los datos experimentales y obtener los parámetros que caracterizan al sistema. En nuestro caso no existen modelos definidos que describan la generación y propagación del potencial de acción. En este caso se propone un circuito equivalente que muestre un comportamiento similar al de los datos experimentales y se realiza el ajuste utilizando el método de mínimos cuadrados no lineales complejos para obtener los valores de las impedancias de los componentes del circuito. La **Figura 1** resume el proceso anterior.

El efecto de los electrodos tiene que ser tomado en cuenta al analizar las mediciones, sin embargo en la

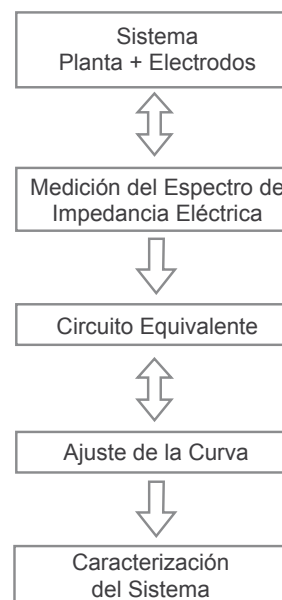


Figura 1. Diagrama de flujo del experimento de espectroscopía de impedancia eléctrica con plantas

literatura (véase [2]) se reporta que se puede minimizar la impedancia de la polarización de los electrodos haciendo un barrido de frecuencias altas (mayores a 4 kHz). Esto es de vital importancia en las mediciones de impedancia eléctrica donde se usa la configuración de dos electrodos conectados en serie con la muestra, así el comportamiento a altas frecuencias del sistema electrodo-material (electrolito) es solamente capacitivo.

Para observar el comportamiento del sistema a partir de los datos se utilizan representaciones especiales, tales como las gráficas de Bode y Nyquist, descritas a continuación.

Análisis de datos

Gráficas de Bode: Para observar el comportamiento del sistema en función de la frecuencia se usan las gráficas de Bode. Como la impedancia es una magnitud compleja, puede ser determinada completamente por medio de su magnitud y su ángulo de fase. De lo anterior, es de esperar que exista un diagrama de Bode para la magnitud y otro para la fase. El primero se realiza graficando el logaritmo base 10 de la magnitud de la impedancia contra el logaritmo base 10 de la frecuencia, mientras que el segundo es la gráfica de la fase contra el logaritmo base 10 de la frecuencia. La **Figura 2** muestra varios diagramas de magnitud de Bode del experimento.

Gráficas de Nyquist: Es una representación en el plano complejo del negativo de la componente imaginaria de la impedancia contra la parte imaginaria de la misma ($-Z''$ vs. Z'). El signo menos de la parte imaginaria es una convención utilizada, cuando ésta toma valores negativos como en nuestro caso, debido al comportamiento capacitivo del sistema. Aquí la frecuencia no es perceptible a simple vista, pero la frecuencia aumenta de derecha a izquierda en las gráficas. Una gráfica

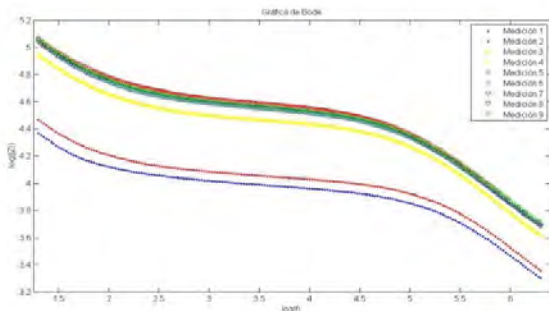


Figura 2 . Ejemplo de un diagrama de Bode de nuestro experimento

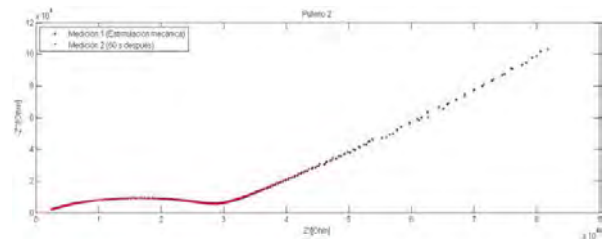


Fig. 3 Ejemplo de un diagrama de Nyquist de nuestro experimento

representativa de ejemplo a partir de las mediciones sobre un pulvínulo de nuestra Mimosa púdica se puede apreciar en la **Figura 3**.

Circuito equivalente: Debido a que el proceso que se estudió es la conducción eléctrica de la planta, la difusión de iones, especialmente de Cl^- y K^+ [5], se espera que el circuito equivalente para modelar el proceso contenga elementos difusivos (de Warburg) y elementos de fase constante, para considerar los efectos capacitivos del tejido vegetal, como la polarización de las membranas de las células de la planta. Un circuito equivalente contiene diversos elementos (N), cada uno de los cuales es caracterizado por su impedancia Z_i , y para encontrar la impedancia total se requiere sumar impedancias en serie y en paralelo. La suma de n impedancias en serie es

$$Z_{eq} = \sum_i^n Z_i, \quad (1)$$

mientras que la suma de m impedancias en paralelo es

$$Z_{eq}^{-1} = \sum_j^m (Z_j^{-1}). \quad (2)$$

Ahora ya se tiene la manera de encontrar la impedancia del circuito, y con ello podemos su magnitud, que es

$$|Z| = \sqrt{(Z * Z)}, \quad (3)$$

donde Z^* es el complejo conjugado de Z . Al tener la magnitud, en función de la frecuencia, se puede pasar al ajuste de los datos experimentales, usando el método descrito enseguida.

Mínimos cuadrados no lineales complejos: Los mínimos cuadrados no lineales complejos o CNLS por sus siglas en inglés, es el método más común para ajustar la parte real e imaginaria de los la impedancia su magnitud y fase, a la función o circuito equivalente deseado. Su utilidad es mayor cuando el modelo propuesto tiene

más de 10 parámetros libres. El método de CNLS es muy sensible al número correcto de parámetros libres, los valores iniciales de los mismos y la posibilidad de convergencia a un mínimo local (el mínimo global es la mejor solución). En general la suma ponderada de los cuadrados es minimizada [8]:

$$S = \sum_{i=1}^N \{ w_i^a [f_{exp}^a - f_{teo}^a(\omega_i, P)]^2 + w_i^b [f_{exp}^b - f_{teo}^b(\omega_i, P)]^2 \} \quad (4)$$

donde N es el número de puntos y P es el conjunto de parámetros del modelo. Si se ajustan las partes real e imaginaria, entonces los superíndices a y b corresponden a las partes real e imaginaria, respectivamente. En caso de que se ajusten la magnitud y fase de la impedancia entonces a representa a la primera, y b a la segunda; mientras que los subíndices exp y teo , etiquetan a los datos experimentales y teóricos, respectivamente. El factor de ponderación $w_i^{a,b}$, es importante cuando el conjunto de datos abarca varios órdenes de magnitud, como en este experimento, ya que cubre un amplio rango de frecuencias. Uno de los factores que se recomienda utilizar, para evitar que los datos más grandes del conjunto dominen el ajuste y dificulten la convergencia, es $w_i = Z_i^{-2}$. Sin embargo la elección de la ponderación y de los valores iniciales los hará el software ZSimDemo 3.30d®.

Arreglo experimental

Para las mediciones de espectroscopía de impedancia eléctrica se utilizó el equipo *Precision LCR Meter (Agilent® E489A) 20Hz-2MHz*, conocido como electrómetro (mosstrado en la figura 4). El equipo se configuró para medir el módulo de la impedancia $|Z|$ y el ángulo de fase θ para un barrido logarítmico de frecuencias cubierto por 201 frecuencias desde 20 Hz hasta 2 MHz. El voltaje de prueba fue de 20 mV a menos que se indique lo contrario y la corriente de prueba fue de 2 mA. El contacto eléctrico entre el aparato y la planta se hizo con dos electrodos de platino en forma de alambre. La planta analizada fue una Mimoso pudica de aproximadamente 6 meses, que fue regada cada tres días y expuesta a la luz solar por medio día y el otro medio puesta en oscuridad a diario.

La planta fue colocada sobre una silla para que estuviera al alcance del aparato, cuidando que no hubiera contacto entre la planta y los objetos a su alrededor, con especial atención a las ramas donde se realizaron las mediciones. Se insertaron los electrodos a la planta y se dejó reposar por un día para poder medir la impedancia de la planta en estado relajado, sin embargo al conectar

los electrodos al electrómetro, la planta sufrió un pequeño estrés, porque se esperó hasta que se relajara.

La **Figura 4** muestra el arreglo en su totalidad, mientras que la **Figura 5** muestra el contacto entre los electrodos y el pulvínulo.

Se midió el espectro de impedancia de cinco pulvínulos diferentes de la planta, cada medición duró en promedio 80 s. Los detalles de las 27 mediciones se muestran en los **Resultados**, cada gráfica contiene las mediciones hechas en un mismo pulvínulo.



Figura 4. Arreglo experimental: planta conectada al electrómetro. Luis Ramos T.



Figura 5. Conexión de los electrodos de platino al pulvínulo. Luis Ramos T.

Resultados

Los resultados de las 27 mediciones realizadas en los 5 pulvínulos fueron procesados en el software Matlab®, para hacer el análisis gráfico. Se realizaron las siguientes gráficas de Nyquist para todos los pulvínulos y una última de Bode para el pulvínulo final. Cabe recordar que para los diagramas de Nyquist, la frecuencia de los datos aumenta de derecha a izquierda.

El primer pulvínulo estaba casi relajado por completo, se midió, se repitió la medición y luego se le estimuló por contacto al comienzo de la última medición. Los diagramas de Nyquist de la medición se muestran en la **Figura 6** (la línea amarilla es la medición con el estímulo). Como el segundo pulvínulo se escogió el más cercano al anterior, para ver si fue afectado por la estimulación mecánica del primero; sin embargo,

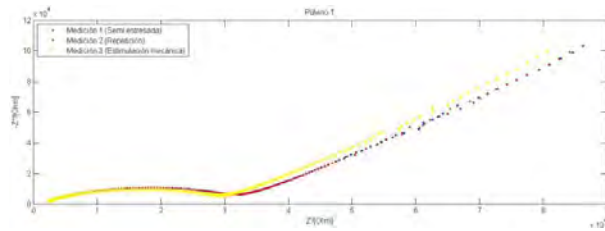


Figura 6. Diagrama de Nyquist de los espectros del primer pulvínulo

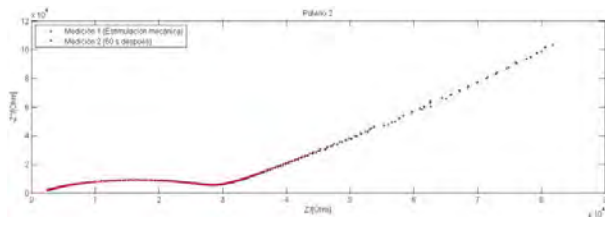


Figura 7. Diagrama de Nyquist de los espectros del segundo pulvínulo

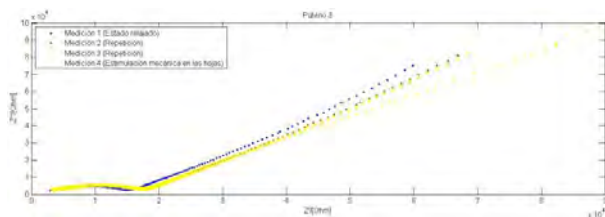


Figura 8. Diagrama de Nyquist de los espectros del tercer pulvínulo a 20 mV.

se observa que la respuesta fue invariante aún ante un estímulo mecánico (véase **Figura 7**). El tercer pulvínulo mostró la respuesta eléctrica de la **Figura 8**, pero ningún movimiento de la planta observable. Debido a eso, se realizaron mediciones a 100 mV, 1.5 V y 2V, sin observar movimientos de la planta ni cambios significativos en el comportamiento del espectro. El diagrama de Nyquist es el de la **Figura 9**. El cuarto pulvínulo se escogió casi completamente estresado, y su espectro es el de la **Figura 10**. En el último pulvínulo se realizaron nueve mediciones resumidas en la gráfica de la **Figura 11**. También es importante observar el comportamiento de la gráfica de Bode (**Figura 12**), ya que nos muestra que después de varias mediciones, el comportamiento de la planta tiende asintóticamente a un valor estable.

Conclusiones

Todas las mediciones de los pulvínulos presentan un comportamiento de respuesta similar como lo muestran los diagramas de Nyquist; cabe destacar que la señal puede interpretarse en dos partes, una que corresponde a una impedancia grande a bajas frecuencias que decrece hasta un mínimo local en su parte imaginaria, la segunda parte de la respuesta es la respuesta clásica de un modelo Cole-Cole mostrando una curva que inicia con valores bajos de la contribución imaginaria que aumenta y después se hace cero a frecuencias altas. Estos estados

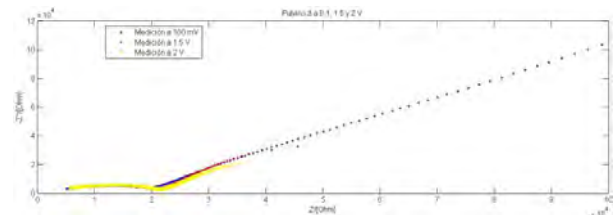


Figura 9. Diagrama de Nyquist de los espectros del tercer pulvínulo a 100mV, 1.5 V y 2 V.

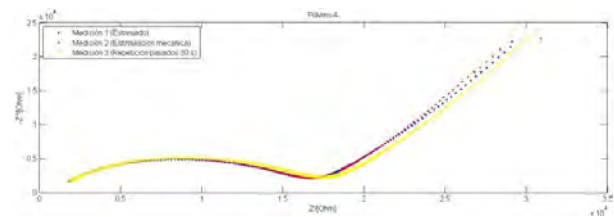


Figura 10. Diagrama de Nyquist de los espectros del cuarto pulvínulo

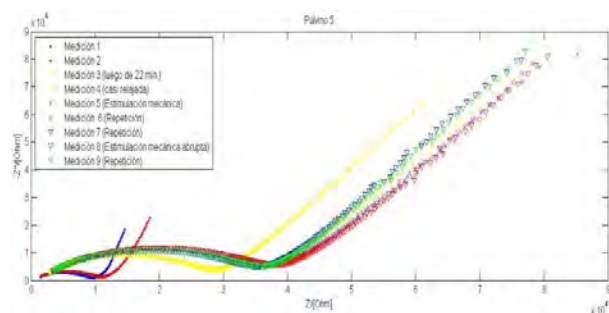


Figura 11. Diagrama de Nyquist de los espectros del quinto pulvínulo

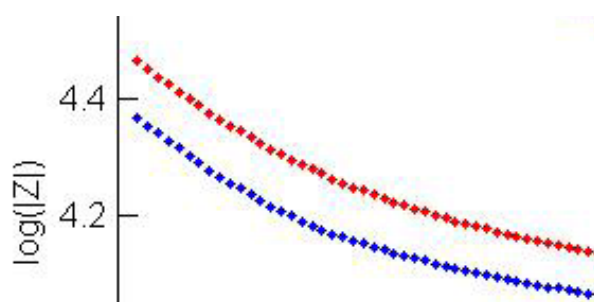


Figura 12. Diagrama de magnitud de Bode de los espectros del quinto pulvínulo

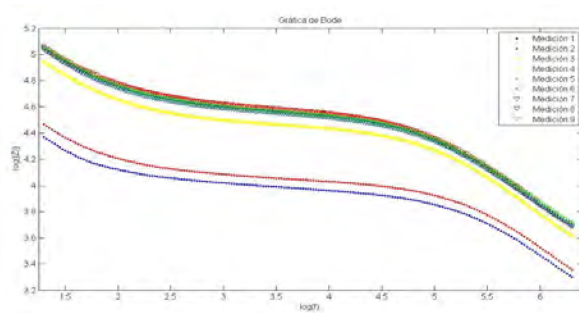


Figura 13. Diagrama del circuito equivalente para un pulvínulo de la Mimosa púdica

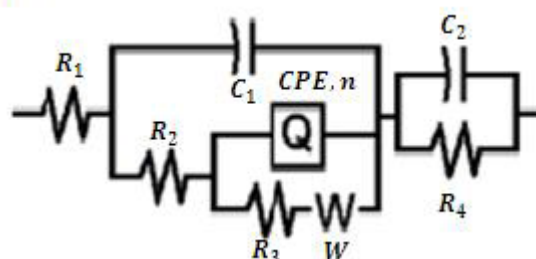


Figura 14. Diagrama de magnitud de Bode de un elemento de Warburg. La pendiente inicial es de -1/2

sugieren que existe una transición en la contribución de las corrientes de conducción y de desplazamiento durante o en ausencia del movimiento de las hojas de la Mimosa púdica.

Tanto las gráficas de Nyquist como de Bode indican la transición de fase del sistema; sin embargo, las primeras muestran esto de forma más clara y por eso se usaron para realizar el ajuste a un circuito equivalente, el comportamiento difusivo a bajas frecuencias y capacitivo a altas frecuencias (debido a la impedancia de polarización de los electrodos), fue ajustado de buena forma con el circuito equivalente mostrado en la **Figura 13**.

En el circuito las R_i y C_i son resistencias y capacitancias normales, Q es un elemento de fase constante (CPE por sus siglas en inglés), caracterizado por una constante capacitiva y un exponente n . El componente representado por la W es el elemento de difusión de Warburg, es el circuito de difusión más sencillo, puede ser usado para modelar procesos de difusión lineal semi-infinita, es decir, difusión libre hacia un electrodo plano grande, donde solo importa la

distancia al electrodo. Es un elemento de fase constante de 45° independiente de la frecuencia. La impedancia del elemento de Warburg es

$$Z_W = \frac{\sigma}{\sqrt{\omega}}(1 - j), \tag{2}$$

donde σ es la constante de Warburg y j es la unidad imaginaria. La gráfica de Bode para el elemento de Warburg tiene la forma que se muestra en la **Figura 14**.

Comparando esta gráfica con la parte inicial de la gráfica de Bode para el pulvínulo 5, se ve que a frecuencias bajas, la pendiente es similar a la de la gráfica de Bode de Warburg, lo cual justifica la inclusión de este componente en el circuito equivalente.

Las impedancias reactiva y capacitiva son dadas por (3) y (4), respectivamente.

$$Z_R = R \tag{5}$$

$$Z_C = \frac{1}{j\omega C} \tag{6}$$

El ajuste se realizó con ayuda del software *ZSimDemo 3.30d*. Se tomó la porción de baja frecuencia donde la difusión es el proceso dominante. En la **Figura 15** se muestran los datos experimentales (rojo) y los del ajuste (verde), se observa que el ajuste es bueno y se realiza para frecuencias mayores a 1 kHz para minimizar el efecto de la polarización de los electrodos. Los valores de los parámetros del circuito equivalente se muestran en la **Tabla 1**, los valores están listados en el orden en el que aparecen en el circuito.

La prueba de $\chi^2=2.241 \cdot 10^{-5}$ nos dice que el ajuste fue bueno y que el circuito propuesto describe de buena manera el proceso de la conducción de estímulos eléctricos en la Mimosa púdica.

Un paso posterior es encontrar la función de transferencia del circuito equivalente por medio de la suma de las impedancias en serie y paralelo, como se explicó en la sección de métodos. Encontrando esta

Tabla. 1 Valores para los elementos del circuito equivalente de la Figura 13

Parámetro	Magnitud
Resistencia 1(ohm)	2.61E4
Capacitancia 1 (F)	3.557E-9
Resistencia 2 (ohm)	9527
CPE, Yo (S-sec^n)	2.859E-7
Frecuencia , n (0<n<1)	0.6989
Resistencia 3(ohm)	2.693E15
Warburg, Yo (S-sec^5)	7896
Capacitancia 2(F)	3.418E-7
Resistencia 4 (ohm)	2946

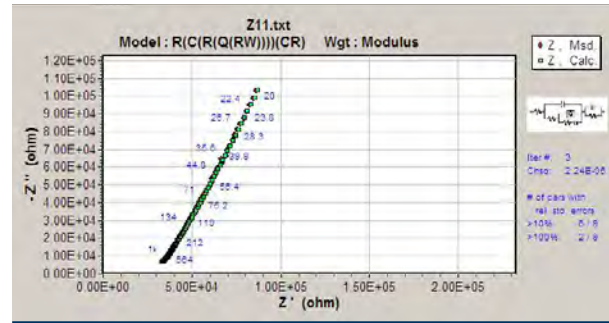


Figura 15. Gráfica del ajuste del circuito equivalente para el primer pulvínulo

función se puede calcular la frecuencia de corte, que es la frecuencia a la cual el sistema sufre esta transición de fase, por debajo de ella el comportamiento dominante es el difusivo, mientras que para frecuencias mayores, el comportamiento capacitivo es el predominante. Esto abre las puertas al diseño de estimuladores magnéticos para la planta, que permitirían estudiar la sensibilidad de la Mimosa púdica a los pulsos de inducción magnética. Sin embargo por sí solo nos brinda información acerca de los procesos difusivos que ocurren en la planta, así como de la resistencia y capacitancia del tejido vegetal, proveyendo un circuito equivalente que, aunque existe la posibilidad de que no sea el único que se ajuste a los datos (cosa común en la espectroscopia de impedancia eléctrica), es compatible con las propiedades esperadas para el sistema. El uso de cuatro electrodos en vez de dos ayudaría a eliminar en mayor medida los efectos de la impedancia de polarización de los electrodos y así el análisis se centraría en las propiedades intrínsecas del sistema. Otros factores como vibraciones, humedad y el viento, no afectaron las mediciones ya que los diagramas de Nyquist mostraron una forma invariante; por eso se concluye que los resultados son, de hecho, característicos del sistema y la información derivada de los mismos tiene validez justificada.

Referencias

- [1] Volkov, A. G., et. al. “Mimosa pudica: Electrical and mechanical stimulation of plant movements”. *Plant, Cell & Environment*. Volume 33, Issue 2, pp. 163–173. 2010.
- [2] Liu, X. *Electrical Impedance Spectroscopy Applied in Plant Physiology Studies*. RMIT University. 2006.
- [3] Roblin, G. “Movements and Bioelectrical Events Induced by Photostimulation in the Primary Pulvinus of Mimosa pudica”. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie*. Volume 106, Issue 4, April 1982, Pages 299-303. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0044328X82801086>.
- [4] Fromm J, Lautner S. “Electrical signals and their physiological significance in plants”. *Plant Cell Environ*. 2007 Mar; 30(3):249-57. 2007.
- [5] Kumon, K. and Suda, S. “Ionic Fluxes from Pulvinar Cells during the Rapid Movement of Mimosa pudica L”. *Plant Cell Physiol*. 25(6): 975-979. 1984.
- [6] Linsbatjer, K. 1908. *Über Reizleitungsgeschwindigkeit und Latenzzeit bei Mimosa pudica*. Wiesner Festschrift 396 — 411. 1908.
- [7] Macdonald, J.R. “Impedance Spectroscopy”. *Annals of Biomedical Engineering*. 20, 289-305. 1992.
- [8] Latham, R. A. *Algorithm Development for Electrochemical Impedance Spectroscopy Diagnostics in PEM Fuel Cells*. University of Victoria. Canada. 2004.

Luis Giordano Ramos Traslosheros López

Lic. en Física, UANL, Georg-August-Universität Göttingen. Max Planck Institute for Dynamics and Self-Organization. Departamento de Dinámica No-lineal. Göttingen 37077, Alemania. Intereses: Neurociencia teórica y computacional, biofísica y física de sistemas complejos.

Francisco Hernández Cabrera, Dr.

Lic. en Física, UANL, Facultad de Ciencias Físico Matemáticas UANL; Cd. Universitaria N. L. C. P. 66450. Intereses: Biofísica y Biomedicina.

Email: fcabrera007@yahoo.com.mx.