



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ingeniería
Especialidad en Ingeniería de Invernaderos

Caracterización de nitratos presentes en lechuga (*Lactuca sativa* L.) mediante el uso de bioimpedancia eléctrica.

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el Diploma de
Especialista en Ingeniería de Invernaderos

Presenta:

Ing. Antonio de Jesús Ortiz Meléndez

Dirigido por:

M.I. Rafael Francisco Muñoz Huerta
SINODALES

M.I. Rafael Francisco Muñoz Huerta
Presidente

Dr. Ramón Gerardo Guevara González
Secretario

Dr. Irineo Torres Pacheco
Vocal

Dra. Rosalía Virginia Ocampo Velázquez
Suplente

Dr. Enrique Rico García
Suplente

Dr. Aurelio Domínguez González
Director de la Facultad
de ingeniería

Firma

Firma

Firma

Firma

Firma

Dr. Irineo Torres Pacheco
Director de Investigación y
Posgrado

Centro Universitario
Querétaro, Qro.
Diciembre, 2013.
México.

Resumen

Para la obtención de una agricultura sostenible y competitiva es necesario el uso de técnicas, sistemas e instrumentos de monitoreo y medición que suministren información oportuna y confiable. Los estudios de suelo y agua de riego nos indican la potencialidad nutritiva para un cultivo, pero es el análisis de planta quien brinda información más precisa ya que informa sobre el efecto yuxtapuesto del suelo y agua de riego y de la posible mejora con una fertilización adecuada. En los últimos años, la bioimpedancia eléctrica se ha convertido en una herramienta de medición para muchos materiales. El desarrollo de esta investigación permitió evaluar la posibilidad de utilizar la bioimpedancia eléctrica para la estimación de nitratos presentes en lechuga (*Lactuca sativa* L.). El experimento se realizó con tres grupos de plantas de lechugas cultivadas en sistemas hidropónicos y a diferentes concentraciones de nitrógeno (168, 127 y 84 partes por millón). Los espectros de impedancia se midieron en un rango de frecuencias de 1 KHz a 100 KHz. Los resultados mostraron que existe una correlación entre la bioimpedancia y el nitrógeno presente en la lechuga. Estos resultados apoyan la idea de que la bioimpedancia eléctrica es un método no destructivo, económico y alternativo el cual puede ser utilizado como una herramienta más para el análisis nutritivo en plantas.

(Palabras clave: Bioimpedancia eléctrica, propiedades eléctricas, nitrógeno, nitratos, *Lactuca sativa* L.)

Summary

To obtain a more sustainable and competitive agriculture is necessary the use of: techniques, systems and monitoring and measuring instruments that provide timely and reliable information. Studies of soil and irrigation water indicate the potential for a crop nutrient, but whoever plant analysis provides more accurate since juxtaposed reports on the effect of soil and irrigation water and may improve with adequate fertilization. In recent years, electrical bioimpedance has become a measurement tool for many materials. The development of this investigation enabled assess the possibility of using electrical bioimpedance for estimation of total nitrogen and nitrates in lettuce (*Lactuca sativa* L.). The experiment was performed with three groups of lettuce plants cultivated in hydroponic systems and different concentrations of nitrogen (168, 127 and 84 parts per million). The impedance spectra were measured in a frequency range of 1 kHz to 100 KHz. The data showed that there is a correlation between the bioelectrical impedance and the nitrogen present in lettuce. These results support the idea that electrical bioimpedance is a nondestructive method, economic and alternative which can be used as a tool for plant analysis.

(Key words: Electric bioimpedance, electrical properties, nitrogen, nitrates, *Lactuca sativa* L.)

Dedicatorias

Con TODO a Dios uno y trino, familia, maestros, compañeros y amigos.

Agradecimientos

¡Dios gracias!

ÍNDICE

Resumen.....	i
Summary.....	ii
Dedicatorias.....	iii
Agradecimientos.....	iv
ÍNDICE.....	v
INDICE DE CUADROS.....	viii
INDICE DE FIGURAS.....	ix
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	2
2.1 Bioimpedancia.....	2
2.1.1 Aspectos generales.....	2
2.1.2 Concepto de impedancia.....	5
2.1.3 Bioimpedancia eléctrica.....	8
2.2 Características generales de la lechuga (<i>Lactuca sativa</i> L.).....	8
2.2.1 Morfología y taxonomía.....	8
2.2.3 Valor nutricional.....	9
2.2.4 Aspectos agrícolas del cultivo.....	9
2.2.4.1 Labores culturales.....	11
2.2.4.2 Manejo Post-cosecha.....	11
2.2.5 Plagas y enfermedades de la lechuga.....	12
2.2.6 Importancia económica.....	14
2.2.6.1 Producción nacional.....	14
2.2.6.2 Producción estatal.....	15
2.3 Nutrición.....	16
2.3.1 Nitrógeno.....	18
2.3.1.1 Nitratos (NO ₃ -).....	19
2.3.1.2 Contenido de nitratos en hojas.....	19

2.3.1.3 Factores que influyen en la concentración de nitratos	21
2.3.1.4 métodos de medición de nitrógeno nitratos.	23
2.5 Solución nutritiva (SN)	24
2.5.1 Presión osmótica.....	25
2.5.2 Conductividad eléctrica (CE).....	26
2.5.3 PH en la solución nutritiva	26
III. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	28
3.1 Hipótesis	28
3.2 Objetivo general	28
3.3 Objetivos específicos	28
IV. METODOLOGIA	29
4.1 Localización del área de investigación	29
4.1.1 Características del invernadero	30
4.2 Diseño Experimental	31
4.3 Partes del experimento	33
4.4 Manejo del cultivo.....	33
4.4.1 Producción de plántula	34
4.4.1.1 Cuidado de la plántula.....	35
4.4.2 Preparación de la Solución nutritiva (SN).....	35
4.4.3 Trasplante de lechugas en camas flotantes.....	36
4.4.4 Cuidados del cultivo hidropónico	36
4.4.4.1 Aireación de las camas flotantes	37
4.4.4.2 Cambio de la solución nutritiva	37
4.3 Variables medidas.....	37
4.3.1 Medición de bioimpedancia.....	38
4.3.2 Medición de nitratos y nitrógeno total	39
4.3.4 Monitoreo de otras variables	40
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	42
5.1 Manejo del cultivo.....	42

5.2 Medición bioimpedancia contra nitratos.....	43
5.3 Medición de bioimpedancia contra nitrógeno total.....	45
VI. CONCLUSIONES	46
LITERATURA CITADA.....	47

INDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
2.1 Valor nutricional de lechuga en 100g de tejido (USDA, 2001).	9
2.2 Fases de desarrollo de la lechuga.	10
2.3 Control químico de plagas en lechuga.	13
2.4 Composición general de la materia vegetal de los cultivos agrícolas.	17
2.5 Contenidos máximo de Nitratos en lechuga regulados por la Comisión Europea.	21
2.6 Rangos de concentración de elementos minerales esenciales según diversos autores. Concentración (ppm).	24
4.1 Composición elemental (ppm) de la solución nutritiva en cada tratamiento.	31
4.2 Cantidad de fertilizantes utilizados para preparar las cuatro soluciones nutritivas evaluadas (g en 1000 L).	35

INDICE DE FIGURAS

Figura	Página
2.1 Circuito eléctrico formado por una resistencia y un condensador en serie.	4
2.2 Diagrama vectorial que muestra la relación entre la resistencia (Z_r), reactancia (Z_i) y la impedancia.	7
2.3 Espectro de impedancia (gráfica de reactancia (parte imaginaria) contra resistencia (parte real) con frecuencia como variable).	7
2.4 Principales países productores de lechuga	14
2.5 Producción de lechuga en México (SAGARPA-SIAP, 2010).	15
2.6 Producción de lechuga en el estado de Querétaro (SAGARPA-SIAP, 2010).	15
2.7 Condiciones para que se lleve a cabo la reducción de nitrato a amoníaco (Navarro, 2003).	19
4.1 Ubicación del Campus Amazcala, de la facultad de ingeniería, UAQ.	29
4.2 Invernadero tipo capilla, lugar donde se realizó el experimento.	30
4.3 a)Distibución de los tratamientos b)Imágenes de las camas hidropónica con densidad 30 plantas por m^2 .	32
4.4 Partes del experimento.	33
4.5 Lechuga Vulcan.	34
4.6 Preparación de sustrato.	35

4.7	Trasplante de lechugas en camas flotantes.	36
4.8	Sistema de medición de bioimpedancia.	38
4.9	Localización de los electrodos.	38
4.10	Medición del contenido de nitratos en hoja de lechuga. Equipo Compact Ion Meter Cardi Ion Modelo C-14.	40
4.11	Instrumentos de medición a) Datalogger, b) Medidor de luz.	41
5.1	Tratamientos con diferentes concentraciones de N.	42
5.2	Variación de la curva de bioimpedancia y concentraciones de nitrato, durante los diferentes días de medición, del tratamiento 1 (100% de N).	43
5.3	Variación de la curva de bioimpedancia y concentraciones de nitrato, durante los diferentes días de medición, del tratamiento 2 (75% de N).	44
5.4	Variación de la curva de bioimpedancia y concentraciones de nitrato, durante los diferentes días de medición, del tratamiento 3 (100% de N).	44
5.5	Variación de la curva de bioimpedancia, concentraciones de nitrato y concentraciones de nitrógeno total para los diferentes tratamientos.	45

I. INTRODUCCIÓN

En la agricultura la frecuencia y la cantidad de fertilizantes por aplicar siguen siendo la pregunta más importante debido a sus implicaciones económicas y ambientales (Hirel *et al.*, 2012). El monitoreo y la medición son las bases para el análisis vegetal estos proporcionan los criterios para la toma de decisiones. Una referencia en la aplicación de fertilizantes es el estudio de savia, el cual consiste en determinar los elementos minerales y sustancias orgánicas de interés para la nutrición de la planta. Para efectuar este análisis se realizan determinaciones de macronutrientes y micronutrientes.

Para determinar la cantidad de nitrógeno, un macronutriente esencial para el desarrollo de la planta, existen diferentes métodos. La medición de nitratos, se puede realizar en campo o en laboratorio; en campo se realiza una prueba destructiva a través de un ionómetro, mientras que la prueba de laboratorio se realiza con instrumentos costosos y conlleva tiempos de entrega (Muñoz *et al.*, 2013). Por tanto, instrumentos de medición con mayor precisión, menor costo, portables, siguen siendo una necesidad. Por su parte, la bioimpedancia eléctrica como método para estudiar las características de los materiales orgánicos, ha sido utilizada para la investigación de estructuras de materiales orgánicos desde la década de 1960 (Zheng, 2009). En plantas, mediante el uso de mediciones de bioimpedancia eléctrica, se ha logrado: detectar y estimar diferentes cambios físicos y químicos, diagnosticar enfermedades, evaluar el estado fisiológico de kiwis, calcular el tamaño del sistema radicular en sauces (*Salixschwerinii*) y monitorear el estrés nutricional en plantas de tomate (Vasconcelos *et al.*, 2013; Bauchot, 2000; Cao *et al.*, 2011; Tomkiewicz y Piskier, 2012). A demás, Muñoz *et al.*, 2013, investigaron acerca de los métodos de censar el nivel de nitrógeno en plantas, y concluyeron que la bioimpedancia es un método prometedor. El presente trabajo fue estimar el contenido de nitratos presentes en lechuga a través de la bioimpedancia eléctrica.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Bioimpedancia

2.1.1 Aspectos generales.

Un circuito eléctrico está formado por componentes eléctricos individuales, mediante el cual una corriente eléctrica (i) puede fluir continuamente. El Voltaje (V), es la medida de potencial de energía presente en un circuito capaz de mover electrones de un punto a otro. La oposición a un movimiento de los electrones libres en un circuito se denomina resistencia (R) y, de forma similar a la tensión, se mide con respecto a dos puntos.

La resistencia se mide por la relación entre la tensión y la corriente (ley de Ohm):

$$R = \frac{V}{i};$$

Ecuación 2.1

En otras palabras, la ley de Ohm se basa en una relación lineal entre la tensión y corriente. En efecto, el uso de esta ecuación se limita a una resistencia ideal que debe mostrar tres propiedades: (1) que sigue la ley de Ohm en cualquier valor de la corriente y el voltaje; (2) el valor de la resistencia no depende de la frecuencia; (3) la corriente y el voltaje alternos, a través de una resistencia, están en fase entre sí. Se puede decir que la resistencia de un conductor ideal es 0Ω , mientras que la resistencia de un dieléctrico ideal es infinita (Ivorra, 2003).

Un condensador de placas paralelas consiste en dos placas separadas una distancia (d) por un material dieléctrico. La cantidad de carga que el dieléctrico es capaz de almacenar depende de su dimensión y en un parámetro llamado permitividad dieléctrica (ϵ) que indica el grado de distribuciones de carga dentro del material que puede ser polarizada en respuesta a un campo eléctrico aplicado (Martínez, 2007). La capacitancia es medida como:

$$C = \frac{A}{d} \varepsilon$$

Ecuación 2.2

Donde (A) es el área transversal de los electrodos y (d) la distancia de separación, mientras $\varepsilon = \varepsilon_p \varepsilon_0$ es la permitividad, con ε_p indicando permitividad relativa y ε_0 permitividad del vacío. La capacitancia mide la cantidad relativa de carga (Q) que se puede almacenar en un par de placas paralelas para una cantidad dada de tensión (V) cuando se aplica un voltaje constante entre los electrodos.

$$C = \frac{Q}{V}$$

Ecuación 2.3

Si la capacitancia aumenta más carga puede ser almacenada cuando se aplica el mismo potencial. Si el voltaje de la capacitancia es constante, no hay corriente que entre o salga del capacitor. Cuando el voltaje cambia a través del tiempo, una cantidad de corriente puede entrar y salir del condensador, cargándolo o descargándolo. De esta manera se puede suponer que, si se aplica un voltaje variable a un condensador, parte de la corriente es capaz de fluir a través de la fuente (Ivorra, 2003).

Como se describió anteriormente, la resistencia obedece a la ley de Ohm y la relación entre voltaje y la corriente puede ser representado como una relación de las magnitudes:

$$Z = Re = R = \frac{V}{i}$$

Ecuación 2.4

Por el contrario, la impedancia de un condensador, llamado reactancia capacitiva, depende de la frecuencia (f) y se define como la relación entre la

tensión de entrada y corriente de entrada para dicha frecuencia. Se puede calcular como:

$$Z = j = \frac{1}{2\pi fC}$$

Ecuación 2.5

En donde $j^2 = -1$ es la unidad compleja (indicando un giro en contra de la manecillas del reloj respecto al eje x) que se relaciona con el ángulo de fase. A bajas frecuencias, el condensador bloquea el flujo de corriente, causando un nivel muy alto impedancia. En alta frecuencia, la corriente es libre para fluir a través del condensador que no está lo suficientemente cargado, lo que provoca una menor oposición al flujo (Ivorra, 2003).

Como consecuencia de esto, se puede decir que la impedancia de un circuito (Figura 2.1) formado por una resistencia y un condensador en serie puede ser calculada como:

$$Z = R + j \frac{1}{2\pi fC}$$

Ecuación 0.6

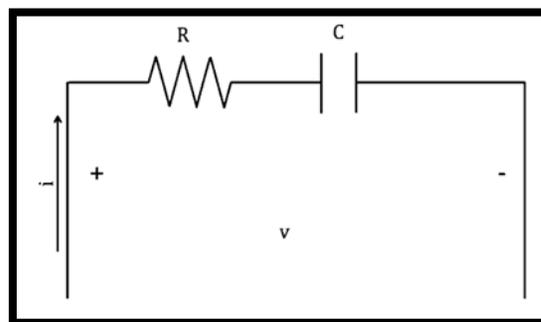


Figura 2.1 Circuito eléctrico formado por una resistencia y un condensador en serie.

2.1.2 Concepto de impedancia

Oliver Heaviside introdujo, por primera vez, el concepto de impedancia en la década de 1880 (Filho, 2002). La impedancia se mide mediante la aplicación de una pequeña corriente alterna de frecuencia conocida y pequeña amplitud a un sistema, y determinando la amplitud y desfase del potencial eléctrico. En muchos materiales la impedancia varía a medida que la frecuencia del voltaje aplicado cambia, consecuencia de las propiedades del material en sí. Esto puede ser debido a su estructura física, a los procesos químicos dentro del material o tejido, o por la combinación de ambos (Schröder *et al.*, 2004).

La impedancia Z es el cociente de la función de tensión-tiempo $V(t)$ y la función corriente tiempo $i(t)$:

$$Z = \frac{V(t)}{i(t)} = \frac{v_0 \text{sen}(\omega t)}{i_0 \text{sen}(\omega t + \theta)}$$

Ecuación 2.7

En donde v_0 e i_0 son las señales de corriente y tensión máximas, $\omega = 2\pi f$ es la frecuencia angular θ es la diferencia de fase entre la tensión y la corriente (Pänke *et al.*, 2008).

En coordenadas cartesianas, la impedancia se convierte en un número complejo, constituido de dos componentes (Ecuación 2.8-2.11):

$$Z(\omega) = Z_r(\omega) + jZ_i(\omega)$$

Ecuación 2.8

En donde

$$Z_r(\omega) = |Z| \cos(\theta)$$

Ecuación 2.9

Es el componente real,

$$Z_i(\omega) = |Z|\text{sen}(\theta)$$

Ecuación 2.10

Es el componente imaginario, y

$$\theta = \tan^{-1} \frac{Z_i}{Z_r}$$

Ecuación 2.11

Es el ángulo de fase de impedancia. El ángulo de fase puede variar de 0° a 90° . Cuando el ángulo es 0° el circuito es sólo resistivo, y cuando es 90° el circuito es sólo capacitivo, mientras que en 45° el circuito es igual tanto en reactancia capacitiva como resistencia (Liedtke, 1997).

Por último, la relación entre la impedancia y su componente individual (resistencia o reactancia) se puede representar como un vector (Figura 2.2), cuya magnitud es:

$$|Z(\omega)| = \sqrt{Z_r^2 + Z_i^2}$$

Ecuación 2.12

Las partes real e imaginaria de Z describen la resistencia y la reactancia, respectivamente. Si la parte real se representa en el eje X y la parte imaginaria en la Eje Y , un espectro de impedancia, usando la frecuencia como la variable paramétrica, se obtiene (Figura 2.3).

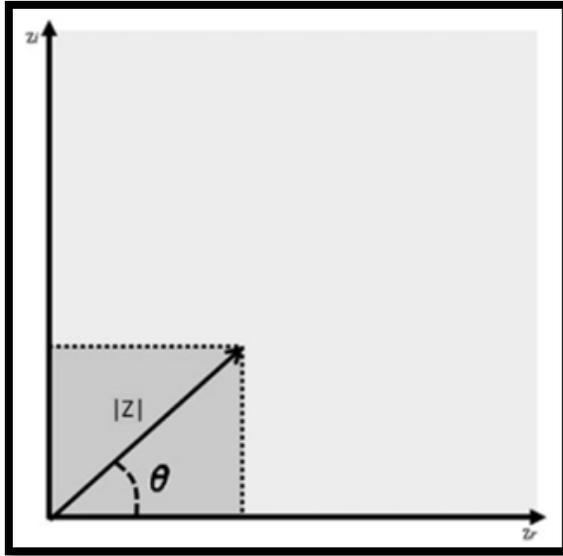


Figura 2.2 Diagrama vectorial que muestra la relación entre la resistencia (Z_r), reactancia (Z_i) y la impedancia.

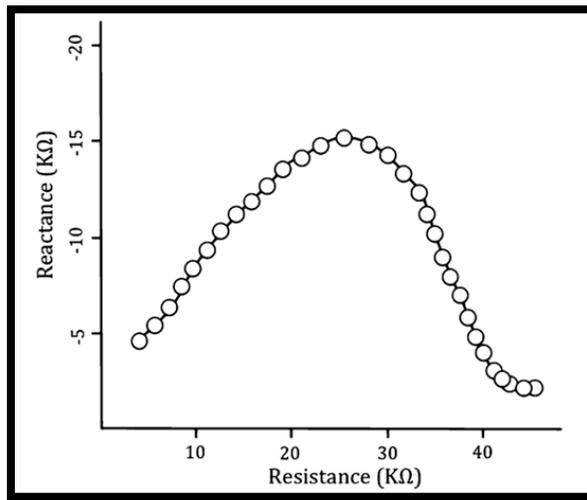


Figura 2.3 Espectro de impedancia (gráfica de reactancia (parte imaginaria) contra resistencia (parte real) con frecuencia como variable)

2.1.3 Bioimpedancia eléctrica

La bioimpedancia eléctrica es un método para estudiar las características de los materiales orgánicos, sobre la base de sus propiedades eléctricas pasivas, determinados por la observación de la respuesta eléctrica del tejido al paso de la energía eléctrica externa. Los ángulos de impedancia y la fase de los materiales se mide mediante un analizador de impedancia de frecuencia múltiple (medidor de impedancia) que es capaz de escanear cada muestra a diferentes frecuencias.

2.2 Características generales de la lechuga (*Lactuca sativa* L.)

2.2.1 Morfología y taxonomía

La lechuga es una planta anual y herbácea, perteneciente a la familia Asteraceae y cuyo nombre científico es *Lactuca sativa* L. Es una hortaliza típica de climas frescos. Los rangos de temperatura donde la planta crece en forma óptima, están entre los 15 °C y 18 °C, con temperaturas máximas entre los 21 °C y 24 °C y mínima de 7 °C. Las temperaturas altas aceleran el desarrollo del tallo floral y la calidad de la lechuga se deteriora rápidamente, debido a la acumulación de látex amargo en su sistema vascular. La raíz, no sobrepasa los 25 cm de profundidad, es pivotante, corta y con ramificaciones. El tallo es cilíndrico y ramificado. Las hojas están colocadas en roseta, desplegadas; en unos casos siguen así durante todo su desarrollo (variedades romanas), y en otros se acogollan más tarde. El borde de los limbos puede ser liso, ondulado o aserrado. Las flores de esta planta son autógamas (FAO, 2006; SAGARPA, 2012).

Orden: Asterales Link

Familia: Asteraceae Bercht. & J. Presl

Tribu: Lactuceae

Género: *Lactuca*

Especie: *sativa* L.

Variedad: PVP8900099

Nombre común: Lechuga Vulcan

2.2.3 Valor nutricional

La lechuga es fuente de vitaminas y minerales, existe una gran variación entre los diferentes tipos de lechuga. La lechuga crisphead, tiene la menor cantidad de vitaminas porque la mayor parte de la porción comestible incluye las hojas interiores, que no están expuestas a la luz y, por tanto, son descoloridas. Los otros tipos, particularmente la romana y sin acogollar, tienen una porción más elevada de hojas verdes, siendo mejores fuentes de vitaminas. Los constituyentes principales se muestran en (Cuadro 2.1).

Cuadro 2.1 Valor nutricional de lechuga en 100g de tejido (USDA, 2001).

Compuesto	Cantidad
Calorías	18 Kcal
Agua	94.0 g
Proteínas	1.30 g
Grasas	0.30 g
Cenizas	0.90 g
Carbohidratos	3.50 g
Fibra	1.90 g
Calcio	68 mg
Hierro	1.4 mg
Fosforo	25 mg
Vitamina C	18 mg

2.2.4 Aspectos agrícolas del cultivo

Las plantas de lechuga pasan por tres fases de crecimiento: desarrollo de la plántula, periodo de roseta y formación de cogollo. El desarrollo de la plántula dura desde la germinación hasta el aclareo o trasplante. Para la germinación de la semilla, se requiere condiciones adecuadas de humedad, oxígeno y temperatura. Las temperaturas óptimas para germinación varía de 20 °C a 25 °C; con temperaturas por arriba de los 30 °C, la germinación se inhibe o entra en

dormancia térmica hasta que las condiciones vuelvan a ser favorables. La emergencia tiene lugar de 3 a 7 días después de la siembra (dds), dependiendo de las temperaturas. En el Cuadro 2.2, se muestran las fases de crecimiento de lechuga crisphead (Davis *et al.*, 2002).

Cuadro 2.2 Fases de desarrollo de la lechuga.

Fase	Observaciones
Germinación	La radícula emerge de la semilla.
Cotiledón	Los cotiledones emergen y se expanden.
Aumento de las hojas verdaderas	Las hojas emergen y se expanden.
Roseta	Hojas con estructura a planada a erguida.
-Formación del cogollo	Comienza cuando emerge una hoja curvada y se expande. Hojas sucesivas más curvadas hasta
Madurez	Se desarrolla un número suficiente de hojas en el interior, de modo que se forma un cogollo esférico firme. Requiere de 60-120 días, dependiendo de la estación.
Sobremadurez	Las hojas del cogollo continúan expandiéndose hasta que se forman grietas por la presión.
Formación del tallo de la semilla	El punto de crecimiento se alarga y emerge a través de la parte superior del cogollo.
Floración	Se inicia con la formación de la yema terminal y la apertura de la flor. Las flores se forman diariamente durante 50-70 días.
Producción de semilla	Empieza con la flor terminal, el involucro se seca y abre en 12-14 días.

2.2.4.1 Labores culturales

El aclareo es la labor que se lleva a cabo a los 10 días después del trasplante (ddt), para eliminar el encuatumiento de las plantas y así permitir que solo se desarrolle la planta que ya se estableció. Ésta actividad hace que la planta tenga mejor aprovechamiento de luz, agua y nutrientes, así como una buena ventilación del follaje y se emplea en invernadero, sin embargo a campo abierto se hacen otras prácticas culturales en el terreno (Salinas, 2010).

2.2.4.2 Manejo Post-cosecha

Los sistemas empleados para preservar la lechuga comprende el empaque en películas plásticas de polietileno, que después se colocan en cajas de cartón de 24 cogollos por caja para ser transportados a naves de refrigeración y almacenamiento. Una temperatura de 0 °C y una humedad relativa de 95% conservan la lechuga de 21-28 días. A 5 °C se logra una vida útil de 14 días, siempre y cuando no haya etileno en el ambiente. El enfriamiento por vacío es generalmente utilizado para la lechuga de cabeza, sin embargo el enfriamiento por aire forzado también puede ser usado exitosamente. La lechuga es muy sensible al etileno, siendo que el punteado pardo es el síntoma más común de la exposición a etileno. Los efectos de la atmósfera controlada en una concentración de O₂ entre el 1-3% a temperaturas de 0-5 °C logran beneficios en la prolongación de la vida útil. Las atmósferas con bajo O₂ reducirán la tasa de respiración y los efectos negativos del etileno. Los productos pre-cortados de lechuga son comúnmente envasados en atmósferas con bajo O₂, menor al 1% y CO₂ al 10% para que en éstas condiciones se controle el pardeamiento de las superficies cortadas (FAO, 2006).

2.2.5 Plagas y enfermedades de la lechuga

Las enfermedades son factor limitante para la producción de lechugas cuando no se dispone de cultivos resistentes. La naturaleza y frecuencia de estas enfermedades depende de las condiciones locales. Las casi 75 enfermedades de las lechugas conocidas tienen diversas causas y etiologías. Estas son el resultado de la interacción entre la planta, el patógeno (bacteria, hongo, virus, fitoplasma o nematodo) y las condiciones ambientales. Las condiciones abióticas, como un suelo salino, carencias nutricionales o un suelo inundado, pueden provocar enfermedades en ausencia del patógeno. Las variaciones en el riego y en las prácticas culturales, particularmente en la formación del cogollo, pueden afectar la productividad y calidad de la lechuga (Davis *et al.*, 2002).

Las plagas más comunes en los cultivos de lechuga que se establecen en el estado de Querétaro se enuncian a continuación (Cuadro 2.3), indicando su control con el producto comercial. En el control fitosanitario agrícola la clave importante es la prevención, la cual se logra con monitoreo continuo cada tercer día en el caso de lechuga (Jiménez, 2003).

Cuadro 2.3. Control químico de plagas en lechuga.

Plaga	Nombre genérico	Dosis/Ha	Nombre comercial
Pulgones	Endosulfan	1.7	Thiodan
	Oxidemetop	1.25	Metasixtox
	Pirimicarb	0.4	Pirimor 50
Gusano falso medidor	Metamidofos	1.25	Maton
	Metomil	0.35	Matador
	Permetrina	0.4	Pervel 340
	Triclorfon	1.5	Lucavex
	Acefato	0.9	Orthene 75
Gusano soldado	Endosulfan	2.5	Thiosulfan
	Metamidofos	1.25	Versol 600
	Permetrina	0.4	Ambush 340
	Triclorfon	1.5	Dipterex 80%
	Endosulfan	2	Veldosulfan
Mosca blanca	Acefato	0.9	Orthene 75
	Naled	1	Hormigol
	Diazinon	1	Diazinon
Trips	Endosulfan	2	Endosulfan
	Metomil	0.25	Nudrin 90
	Malation	1	Malathion 100 E
Diabrotica	Azinfos metílico	1	Kemushi 35
	Malation	1	Malathion 3%
	Paration metílico	2	Ripar 500
Chinche arlequin	Diazinon	1.5	Basudin
	Malation	1	Malathion 500
	Oxidemeton	0.5	Metasixtox
	Paration metílico	0.2	Folidol M-50

2.2.6 Importancia económica

La lechuga (*Lactuca sativa* L.) se considera como la hortaliza de hoja por excelencia y se ubica dentro de los siete productos principales del comercio internacional (INEGI, 2010), es ampliamente conocida y se cultiva en casi todos los países del mundo. China, Estados Unidos e India, ocupan el primer, segundo y tercer lugar, respectivamente en la producción de lechuga a nivel mundial (Figura 2.4).

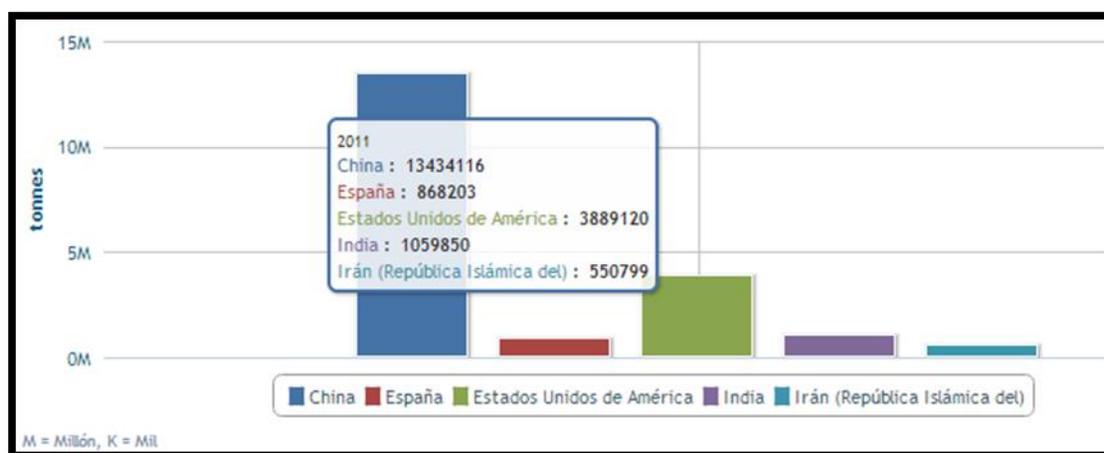


Figura 2.4 Principales países productores de lechuga.

2.2.6.1 Producción nacional

La producción nacional de la lechuga ha incrementado desde el 2004 al 2008 (Figura 2.5). Los principales estados productores son Aguascalientes, Baja California, Guanajuato, Jalisco. México, Michoacán, Puebla, Querétaro, SLP, Sonora y Zacatecas con el 77.8% del total de la producción nacional.

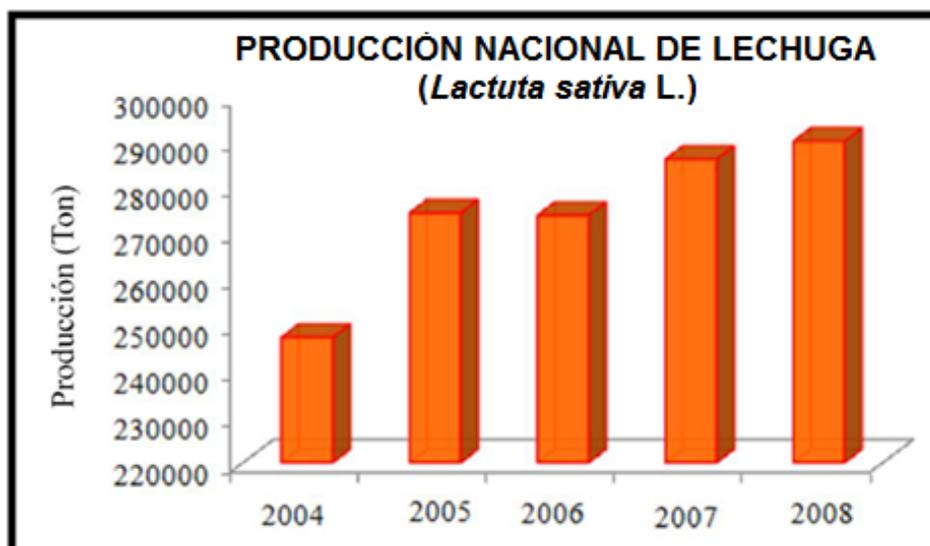


Figura 2.5 Producción de lechuga en México (SAGARPA-SIAP, 2010).

2.2.6.2 Producción estatal

El estado de Querétaro se ubica dentro de los principales estados productores a nivel nacional, ocupando el décimo segundo lugar su producción se muestra en la Figura 2.6.

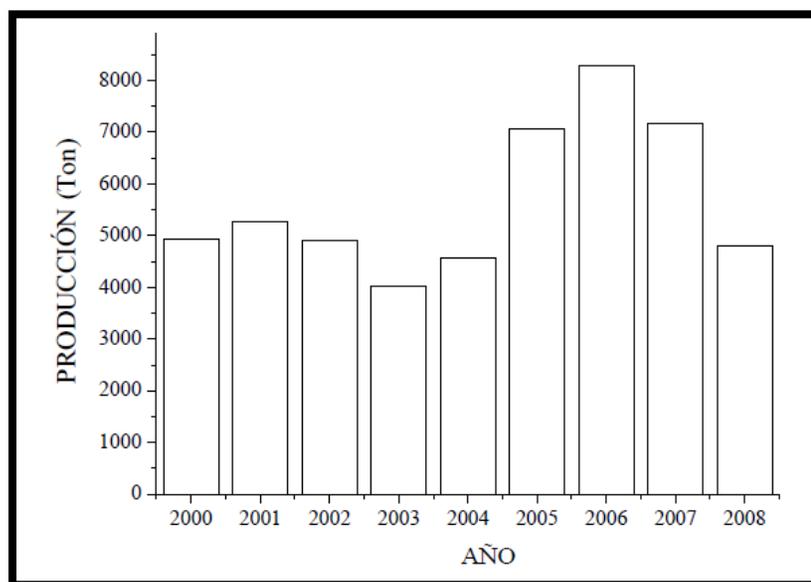


Figura 2.6 Producción de lechuga en el estado de Querétaro (SAGARPA-SIAP, 2010).

2.3 Nutrición

En las plantas superiores la mayor parte del material vegetal está constituido por agua, la cual alcanza valores entre 80 y 95%. El agua se encuentra contenida en diferentes proporciones dentro de la planta, dependiendo de la actividad metabólica de cada una de sus partes (Alcántar *et al.*, 2007). El exacto porcentaje de ésta dependerá de su especie, así como de la turgencia de la planta al momento de la toma de muestra, lo cual será el resultado de la hora del día, de la cantidad de humedad existente en el suelo, de la temperatura, de la velocidad del viento y otros factores; a causa de la variabilidad del peso en fresco de las plantas, los análisis químicos de las plantas se hacen usualmente basándonos en la materia seca, la cual es más estable.

De los 92 elementos naturales que se conocen, solamente 60 de ellos han sido encontrados en diversas plantas; no obstante, muchos de estos no se consideran esenciales para su crecimiento, y su existencia probablemente se debe a que las raíces de las plantas absorben en su entorno algunos elementos que existen en forma soluble (Marschner, 2012).

Solamente 17 elementos están considerados como esenciales para el crecimiento de las plantas. Estos están arbitrariamente divididos entre macronutrientes, aquellos requeridos en gran cantidad por las plantas, y los micronutrientes, aquellos que son necesitados en menor cantidad. Los macronutrientes incluyen carbono (C), hidrógeno (H), oxígeno (O), nitrógeno (N), fósforo (P), potasio (K), calcio (Ca), azufre (S) y magnesio (Mg). Los micronutrientes incluyen hierro (Fe), cloro (Cl), manganeso (Mn), boro (B), zinc (Zn), cobre (Cu), molibdeno (Mo) y níquel (Ni).

Según Alcántar *et al.* (2007), el tejido vegetal seco de los cultivos agrícolas está compuesto por carbono, oxígeno e hidrógeno, elementos organogénicos, los cuales constituyen alrededor de 90 y 98% del total y se encuentran combinados principalmente en los carbohidratos, lípidos y proteínas, entre el 2 y 10% restante, representa la composición mineral (Cuadro 2.4).

Cuadro 2.4 Composición general de la materia vegetal de los cultivos agrícolas.

Elemento	% Peso Seco
Carbono	44-49
Oxígeno	42-46
Hidrogeno	5-7
Elementos minerales	2-20

Fuente: Alcántar *et al.* ,2007.

El carbono proviene del bióxido de carbono del aire (CO₂), el cual es incorporado en la materia orgánica a través del proceso de fotosíntesis, mientras que el hidrógeno en la materia orgánica proviene del agua (H₂O), la cual en general es absorbida del suelo o de los medios nutritivos por las raíces, y el oxígeno necesario para la formación de la sustancia vegetal es tomado tanto de la atmósfera como del agua y de sales como nitratos, fosfatos, boratos y carbonatos. Mientras que los nutrientes restantes son absorbidos del suelo o del medio nutritivo.

2.3.1 Nitrógeno

Después de carbono, hidrógeno y oxígeno, el nitrógeno (N) es el elemento requerido en grandes cantidades por las plantas. Sobre el 1-5% de la materia seca de la planta está constituida de N este elemento tiene un papel importante debido a su papel clave en la producción de clorofila, que es fundamental para el proceso de fotosíntesis. Además, el nitrógeno forma parte de diversas proteínas enzimáticas que catalizan y regulan los procesos de crecimiento de las plantas (Sinfield *et al.*, 2010). Por otra parte, el nitrógeno contribuye a la producción de componentes químicos que protegen contra los parásitos y enfermedades de las plantas (Hoffland *et al.*, 2000).

La nutrición de nitrógeno influye en el crecimiento de la hoja, afectando el tamaño y/o cantidad de carbohidratos, ayuda a las plantas con un rápido crecimiento, el aumento de las semillas y la producción de fruta y la mejora de la calidad de la hoja y cultivos de forraje (NCDA&CS, 2013). El nitrógeno tiene funciones fisiológicas en las plantas, como es la osmoregulación y el balance de catión – anión (Steingrover *et al.*, 1986).

En la planta, el nitrógeno se encuentra fundamentalmente bajo forma orgánica, aunque también puede hallarse bajo formas inorgánicas, como compuestos amónicos, nitritos y nitratos. Por otra parte, las plantas absorben el nitrógeno como nutriente mineral principalmente del suelo, en forma de amonio (NH_4^+) o nitrato (NO_3^-) (Taiz *et al.*, 2010).

2.3.1.1 Nitratos (NO₃⁻)

Los NO₃⁻ son sales químicas derivadas del Nitrógeno que, en concentraciones bajas se encuentra de forma natural en el agua y suelo. Los conocimientos actuales del metabolismo vegetal permiten asegurar que el nitrógeno absorbido bajo la forma nitrato no puede ser incorporado directamente al metabolismo de la planta. Para que eso sea posible, es necesaria su reducción hasta la forma amónica, la reducción ocurre en dos etapas, ninguna de las cuales requiere ATP, ni compuestos de carbono. En la primera fase, el nitrato se reduce a nitrito (nitrato reductasa: Flavomolibdoproteína) y después el nitrito se reduce a amoníaco (nitrito reductasa: Ferredoxina) (Figura 2.7) (Navarro, 2003).

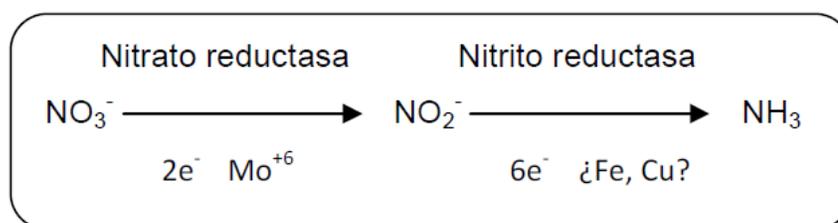


Figura 2.7 Condiciones para que se lleve a cabo la reducción de nitrato a amoníaco (Navarro, 2003).

Al igual que con la reducción y la asimilación de nitrato, la asimilación de amoníaco depende, en parte, de los glúcidos (carbohidratos) presentes en la planta. Sin embargo, debido a la rápida asimilación del nitrato, las reservas de glúcidos de una planta que utilice amonio como única fuente de nitrógeno, pueden disminuir hasta un nivel peligrosamente bajo (Navarro, 2003).

2.3.1.2 Contenido de nitratos en hojas

El contenido de nitratos en hojas es un aspecto importante de su calidad, íntimamente relacionada con la salud del consumidor (Craddock, 1983). Las plantas absorben del medio en que se encuentren los iones nitrato para formar proteínas, cuando la absorción de nitrato excede a la asimilación, los iones nitrato se pueden acumular en las vacuolas de las células (Granstedt, 1982).

Las principales fuentes de ingestión de nitratos (NO_3^-) son: las hortalizas, el agua y las carnes. Las hortalizas representan el 72-94% del nitrato ingerido (Dich *et al.*, 1996). Los nitratos son relativamente poco tóxicos por si solos, pero aproximadamente el 5% del nitrato ingerido, se puede convertir en nitritos (NO_2^-), en la saliva y el tracto gastrointestinal (Pannala *et al.*, 2003) y principalmente en el estómago (Socaciu y Stanila, 2007).

El efecto más conocido de los NO_2^- , es la capacidad que tienen de reaccionar con la hemoglobina, generando productos oxidativos y metahemoglobina, ésta deteriora la entrega de oxígeno y produce problemas respiratorios principalmente en infantes (Mensinga *et al.*, 2003). También los NO_2^- ingeridos como tal o provenientes de la reducción de NO_3^- en el estómago, se convierten en ácido nitroso (HNO_2) y diferentes óxidos (NO_x), éstos pueden reaccionar con aminas secundarias, terciarias y amidas, provenientes de otros alimentos, como quesos, pescado y carnes formando N nitroso-compuestos (nitrosaminas) de formación endógena. Se ha demostrado en más de 40 especies animales que los N nitroso-compuestos son cancerígenos.

El contenido de nitratos aceptable en la ingesta diaria corresponde a 3.65 mg kg^{-1} de peso vivo (Ministry of Agriculture, food and fisheries, 1999). Es decir, la ingesta de nitratos diaria de una persona con un peso corporal de 70 kg no debería superar los 259 mg. Las hortalizas, en particular las de hoja (lechuga, acelga y espinaca) acumulan contenidos de nitratos mayores a otros tipos de alimentos (Hill, 1990).

De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la legislación de la Comisión Económica Europea (CE) N° 563/2002 (FSIS 74/05), obtener plantas de lechuga con tenores adecuados de nitratos, es una cuestión de calidad y seguridad alimentaria e inocuidad. Por lo anterior, La Comisión Europea ha legislado indicando los contenidos máximos de nitratos permitidos para la lechuga cultivada en invernadero y al aire libre en diferentes épocas del año (Diario Oficial de las Comunidades Europeas, 2002) (Cuadro 2.5).

Cuadro 2.5 Contenidos máximo de Nitratos en lechuga regulados por la Comisión Europea.

Tipo de cultivo	Periodo de cosecha	Partes por millón (ppm)
	1 octubre – 31 marzo	
	Invernadero	4 500
<i>Lactuca sativa</i> L.	Campo abierto	4 000
	1 abril – 30 septiembre	
	Invernadero	3 500

2.3.1.3 Factores que influyen en la concentración de nitratos

El medio ambiente del invernadero, el cual se compone de muchos factores, afecta tanto la absorción de nutrientes como su distribución dentro de la planta. Así, aparte de los efectos directos en el cultivo, los factores medio ambientales tienen efectos nutricionales sobre el crecimiento, rendimiento y calidad del producto.

El grado de acumulación de nitrato no sólo depende del tipo y variedad genética, sino también de la temperatura, el contenido y el tipo de nitrógeno disponible. La acumulación de este ión en las hojas se incrementa cuando la planta es cultivada en condiciones restrictivas de luz. Así, la planta utilizaría más carbohidratos e iones nitratos como regulador osmótico.

Luz: La acumulación de este ion NO_3^- , en las hojas se incrementa cuando la planta es cultivada en condiciones restrictivas de luz. Así, la planta utilizaría más carbohidratos e iones nitrato como regulador osmótico (Steringrover *et al.*, 1993).

Nutrición: El N_2 atmosférico está sólo disponible para las plantas cuando es capaz de formar simbiosis con las bacterias del suelo fijadoras de N_2 . Por consiguiente la mayoría de las plantas dependen de otro compuesto de N para su crecimiento. La mayor fuente de N que es tomado por las raíces de las plantas superiores son el nitrato (NO_3^-) y amonio (NH_4^+)

En relación con la formulación del nitrógeno del fertilizante, formas nítricas inducen a mayor concentración de nitratos en plantas, elevándose a su vez con el aumento de la temperatura (Marschner, 2012). Dichos efectos disminuyen cuando en la formulación están presentes formas amoniacaes, principalmente en las dos últimas semanas antes de la recolección.

El molibdeno (Mo) es un el elemento que regula la asimilación de nitratos en lechuga. Los iones molibdeno (Mo^{4+} , Mo^{6+}) son componentes de varias enzimas, incluyendo el nitrato reductasa y nitrogenasa (Schwarz y Mendel, 2006). El Nitrato reductasa cataliza la reducción de nitrato a nitrito durante la asimilación por las células de la planta.

Sady *et al.* (1995) y Abd-Elmoniem *et al.* (1996), señalaron que las hojas de lechuga presentaron menor acumulación de nitratos con la fertilización de N en forma amoniacaal comparadas con la fuente de forma nítrica, debido a la capacidad más rápida de reducirse a nitrato y ser absorbido por las raíces, tornándose como un factor limitante en la proporción de N traslocado a las partes aéreas.

He *et al.*, 2012, llegan a conclusiones similares: “la baja irradiación y la fertilización nitrogenada excesiva son los factores principales de la acumulación de nitratos en las hojas”.

2.3.1.4 métodos de medición de nitrógeno nitratos.

La concentración de nitratos en savia se utiliza comúnmente en la determinación del estado de nitrógeno del cultivo. El estudio de savia, como parte del análisis vegetal, consiste en extraer este líquido de toda la planta o algún órgano de referencia y determinar en él los elementos minerales y sustancias orgánicas de interés para la nutrición de la planta (Hernando y Cadahia, 1973). Para efectuar este análisis se realizan determinaciones de: Macronutrientes (Nitrógeno-total, Nitrógeno-nitrato, Nitrógeno-amino, Fósforo-fosfato, Potasio, Calcio, Magnesio, Sodio y Azufre) y Micronutrientes (hierro, cinc, cobre, manganeso, boro). Este análisis permite conocer la situación nutrimental de la planta, ratificar o rectificar síntomas visuales, identificar deficiencias latentes, evaluar la respuesta a la aplicación de correctivos, definir interacciones o antagonismos nutrimentales y detectar niveles tóxicos.

Para la determinación de nitratos en savia existen dos principales maneras: la que permite hacer un análisis rápido en el campo y otra que precisa de equipos complejos de laboratorio. La medición en campo se realiza a través de instrumentos cuyo principio de medición es el Método del Electrodo de Ion Específico. Esta prueba es destructiva, y precisa de un instrumento con soluciones estándar de calibración. Un ejemplo de este instrumento: 'TwinNO3-B-341' (Horiba, Kyoto, Japón). Este tipo de instrumento tiene una almohadilla que contiene dos electrodos, y la muestra de savia se deja caer en él. Se genera una tensión entre los electrodos de acuerdo con la ecuación de Nernst, y este depende del nivel de nitrato en solución. Este instrumento de medición de nitratos tiene un radio de acción de $23-2,235 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. Sin embargo, este instrumento es propenso a interferencias a partir de compuestos orgánicos de plantas y otros iones tales como: cloruro, bicarbonato, y el nitrito (Gioia *et al.*, 2011).

2.5 Solución nutritiva (SN)

La SN es una disolución de nutrientes minerales esenciales en agua, en cantidades y proporciones adecuadas, la cual es usada para lograr un crecimiento y desarrollo óptimo de las plantas. Para lograr una nutrición balanceada de las plantas y, por lo tanto, para obtener mejores rendimientos, es necesario que cada uno de los nutrientes minerales esté en la SN en cantidades y proporciones óptimas.

No existe una solución nutritiva óptima para todos los cultivos, porque no todos tienen las mismas exigencias nutricionales, principalmente en nitrógeno, fósforo y potasio (Rodríguez *et al.*, 2001). Existe un gran número de soluciones nutritivas para distintos cultivos, y muchas satisfacen los requerimientos de un buen número de ellos (Cuadro 2.6).

Cuadro 3.6 Rangos de concentración de elementos minerales esenciales según diversos autores. Concentración (ppm).

	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)
N	210	168	150-225	106	172	200-236	167
P	31	41	30-45	62	41	60	31
K	234	156	300-500	156	300	300	277
Mg	34	36	40-50	48	48	50	49
Ca	160	160	150-300	93	180	170-185	183
S	64	48	--	64	158	68	--

(1) Hoagland y Arnon (1983)

(2) Hewitt (1966)

(3) FAO (1990)

(4) Jensen (s/fecha)

(5) Larsen (s/fecha)

(6) Cooper (1979)

(7) Steiner (1984)

Fuente: (1), (2), (3) y (7) en Windsor and Schwarz (1990); (4) y (5) en Lorenz and Maynard (1988); (6) en Cooper (1988)

2.5.1 Presión osmótica

La cantidad total de los iones de las sales disueltas en la solución nutritiva ejerce una fuerza llamada presión osmótica (PO); en la medida que aumenta la cantidad de iones se incrementa esta presión. La PO es una propiedad físico-química de las soluciones, la cual depende de la cantidad de partículas o solutos disueltos (Favela *et al.*, 2006). En la medida que la PO es mayor, las plantas deben invertir más energía para absorber el agua y los nutrimentos, por lo cual la PO no debe elevarse. La PO apropiada para los cultivos depende de la especie y la variedad (Adams, 1992). En general, el tomate es una de las especies hortícolas con mayor capacidad para soportar mayor PO, en cambio la lechuga requiere menor PO. La época del año (condición ambiental) influye en la PO de la SN que pueden soportar las plantas: en el invierno estas tienen mejor desarrollo con alta PO que en el verano; además se ve afectada de manera diferencial: la absorción de SO_4 es más restringida que la de NO_3 y H_2PO_4 ; el Ca más afectado que el Mg, y éste que el K, lo cual ocasiona un desbalance de la SN (Steiner, 1973).

Una medida indirecta y empírica para determinar la PO de la SN es la conductividad eléctrica, que sirve para indicar la concentración de sales disueltas en el agua; para hacerlo, se multiplica la CE de la SN por 0.36 (Rhoades, 1993), el resultado se expresa en bares (bar) o atmósferas (Steiner 1984), se multiplica por 0.1 para transformarlo a Mega Pascales (MPa); Steiner (1984) también calcula la presión osmótica de la SN multiplicando el número total de mM por el factor 0.024; Sonneveld (1997) sugiere la siguiente ecuación para determinar la CE de una SN: $\text{CE} = \Sigma \text{ de cationes} / 10$.

2.5.2 Conductividad eléctrica (CE)

La CE de la SN es una medida de la concentración total de sales disueltas y es a menudo referida como la salinidad. Aunque es fácil de medir, la CE no entrega información acerca de las concentraciones de los nutrientes presentes en forma individual. No obstante, se utiliza ampliamente para seguir el estado de los nutrientes totales de los suelos o de la SN.

Una baja CE indica un estado nutricional bajo, e indica que se debe aplicar más de la disolución concentrada. Por lo contrario, una salinidad alta podría deberse a altos niveles de nutrientes (Urrestarazu *et al.*, 2004).

La CE de la SN es función directamente proporcional de la concentración total de solutos (CTS). La CTS, depende de la concentración de iones en el agua y de las sales que se agregan a la SN (Alcántar *et al.*, 2007). Existen relaciones empíricas mediante las cuales se calcula la concentración total de sales. La más utilizada es la siguiente: $CTS = 640 \cdot CE$ (CE en dS m⁻¹ a 25 °C) en mg L⁻¹.

2.5.3 PH en la solución nutritiva

El potencial de hidrógeno (pH), es una medida de los iones de hidrógeno (H⁺) libres en una sustancia y es el parámetro para medir la acidez o alcalinidad de una sustancia. Cuando en una solución existen más iones hidrógeno (H⁺), el pH tiende a ser más bajo o ácido, lo contrario ocurre cuando predominan los iones hidroxilo (OH⁻).

El pH apropiado de la SN para el desarrollo de los cultivos se encuentra entre los valores 5.5 y 6.5; sin embargo, el pH de la SN no es estático, ya que depende del dióxido de carbono (CO₂) en el ambiente, de que la solución se encuentre en un contenedor cubierto o descubierto, el ritmo de absorción nutrimental, de la fuente nitrogenada utilizada, etc. Así por ejemplo, la SN de

Steiner contiene solamente N-NO_3^- , el cual ocasiona un pH fisiológicamente alcalino; a medida que las plantas absorben el N-NO_3^- , la SN tiende a alcalinizarse, debido a que a la absorción de N-NO_3^- la acompaña una liberación de HCO_3^- u OH^- . Cuando se adiciona el N-NH_4^+ el pH se amortigua, ya que al absorberlo el N-NH_4^+ , al H^+ lo liberan las raíces y la SN se acidifica (Favela *et al.*, 2006).

El pH del sustrato o de la SN afecta la disponibilidad de nutrimentos, a veces de forma considerable. Por ejemplo, los fosfatos son menos solubles cuando el pH aumenta, esto particularmente en el rango marcado de pH 6.0-7.0, cinco micronutrientes (B, Cu, Fe, Mn, y Zn) se hacen menos solubles con pH alto, mientras que el molibdeno (Mo) se hace menos disponible bajo pH 5.5 (Adams, 2004).

III. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

3.1 Hipótesis

La bioimpedancia eléctrica medida en el tejido vegetal permite conocer el nivel de nitratos presentes en él.

3.2 Objetivo general

Estimar la cantidad de nitratos (NO_3^-) en lechuga (*Lactuca sativa* L.) mediante el uso de bioimpedancia eléctrica.

3.3 Objetivos específicos

- Variar la cantidad de nitratos presentes en la hoja de lechuga.
- Evaluar el efecto de las diferentes concentraciones de nitrógeno en la solución nutritiva, sobre la acumulación de nitratos en la hoja de lechuga.

IV. METODOLOGIA

4.1 Localización del área de investigación

El experimento se realizó en el Campus Amazcala de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Autónoma de Querétaro (FI-UAQ), se localiza en la comunidad de Amazcala, sobre la carretera Querétaro-Chichimequillas del municipio El Marqués, Querétaro (Figura 4.1). El cual se confina en el sector Suroeste del estado, entre los $20^{\circ} 31'$ y $20^{\circ} 58'$ de latitud Norte. Su longitud se encuentra entre los $100^{\circ} 09'$ y los $100^{\circ} 24'$ del Oeste, a 1850 m sobre el nivel del mar. Colinda al Oeste con el municipio de Querétaro, al Norte con el estado de Guanajuato, al Este con el municipio de Colón y al Sur con los municipios de Huimilpan y Pedro Escobedo. La temperatura media oscila entre 18 y 24 °C, con un clima predominante subtropical, templado-semiseco (INEGI, 2005).



Figura 4.1 Ubicación del Campus Amazcala, de la facultad de ingeniería, UAQ.

4.1.1 Características del invernadero

El experimento se realizó en un invernadero de estructura tipo capilla a doble capa, con una cubierta plástica de polietileno de 800 galgas de espesor; la estructura es de PTR de 2". La orientación del invernadero es de Norte a Sur con ventilación lateral y cenital, que es cubierta por malla antiáfidos; tiene un acceso de puertas corredizas en uno de sus extremos en el cual hay un tapete sanitario. El invernadero tiene una extensión de 108 m² (9x12), con una altura de 5 m (Figura 4.2).



Figura 4.2 Invernadero tipo capilla, lugar donde se realizó el experimento.

4.2 Diseño Experimental

Para realizar las mediciones de bioimpedancia se estableció un cultivo de lechuga que permitió tener unidades experimentales con diferentes concentraciones de nitratos (en un rango de 903 a 2700 ppm). Para lograr esto se realizó un diseño experimental el cual consistió en aplicar diferentes concentraciones de nitrógeno en la solución nutritiva, para lo cual se emplearon tres tratamientos y una repetición, la unidad experimental fue de 30 plantas, midiéndose el 50% de ellas. Las soluciones nutritivas utilizadas se prepararon con base en la Steiner (Steiner, 1984) modificándose según cada tratamiento (Cuadro 4.1).

Cuadro 4.1 Composición elemental (ppm) de la solución nutritiva en cada tratamiento.

	Steiner	T1	T2	T3
Nitrógeno (N)	168	168	127	84
Fósforo (P)	31	31	31	31
Potasio (K)	273	299	244	273
Calcio (Ca)	180	150	150	150
Magnesio (Mg)	48	48	48	48
Azufre (S)	110	87	113	94
Fierro (Fe)	3	3	3	3
Manganeso (Mn)	1.97	1.97	1.97	1.97
Boro (B)	0.44	0.44	0.44	0.44
Zinc (Zn)	0.11	0.11	0.11	0.11
Cobre (Cu)	0.02	0.02	0.02	0.02

La distribución de los tratamientos en el invernadero se indica en la Figura 4.3. Estos se distribuyeron en tres arreglos de camas de madera de (1m x 0.5 m) con una profundidad de 10 cm.

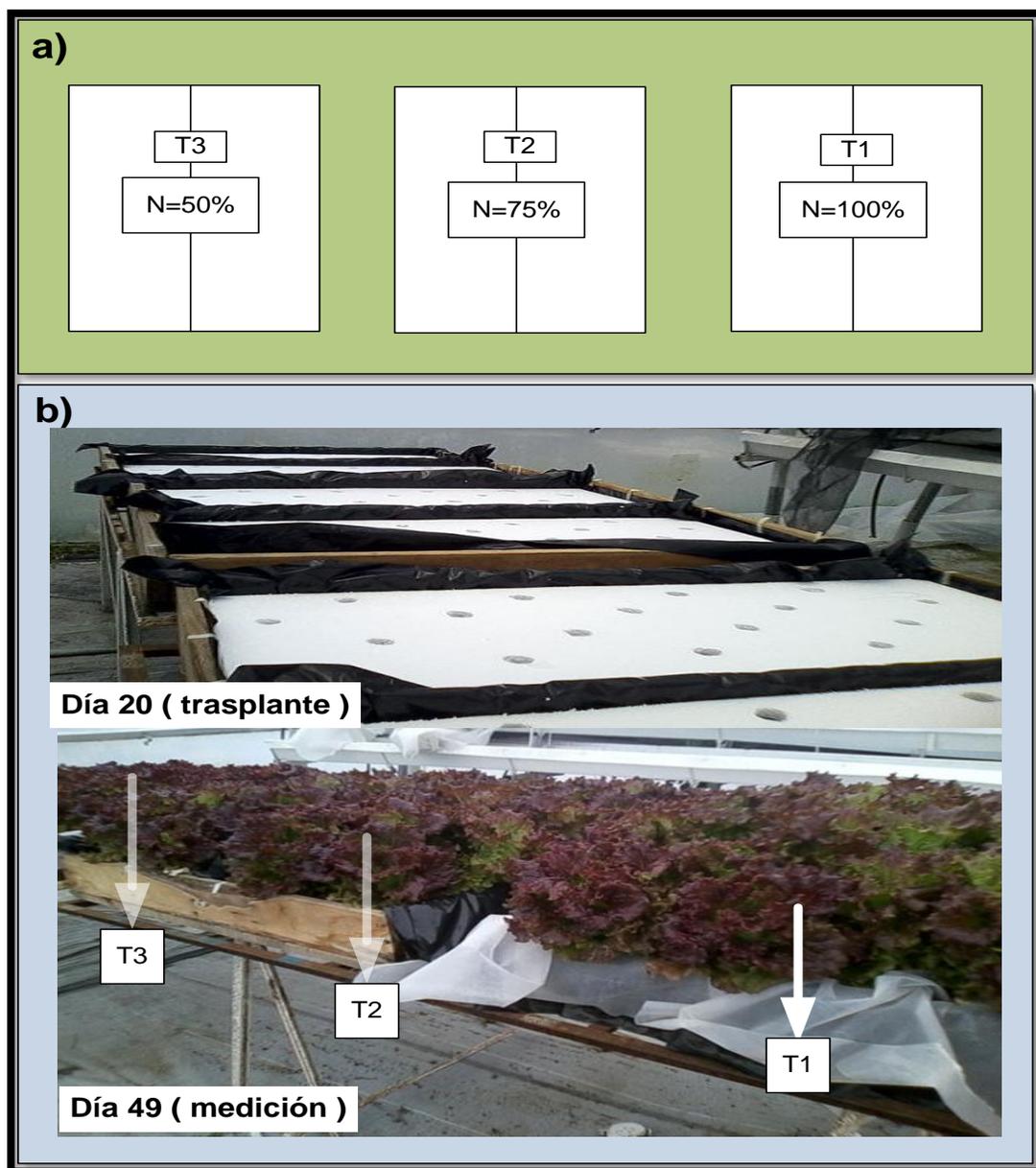


Figura 4.3 a) Distribución de los tratamientos b) Imágenes de las camas hidropónicas con densidad 30 plantas por m^2 .

4.3 Partes del experimento

Las partes de las que consistió el presente experimento se muestran en la Figura 4.4.

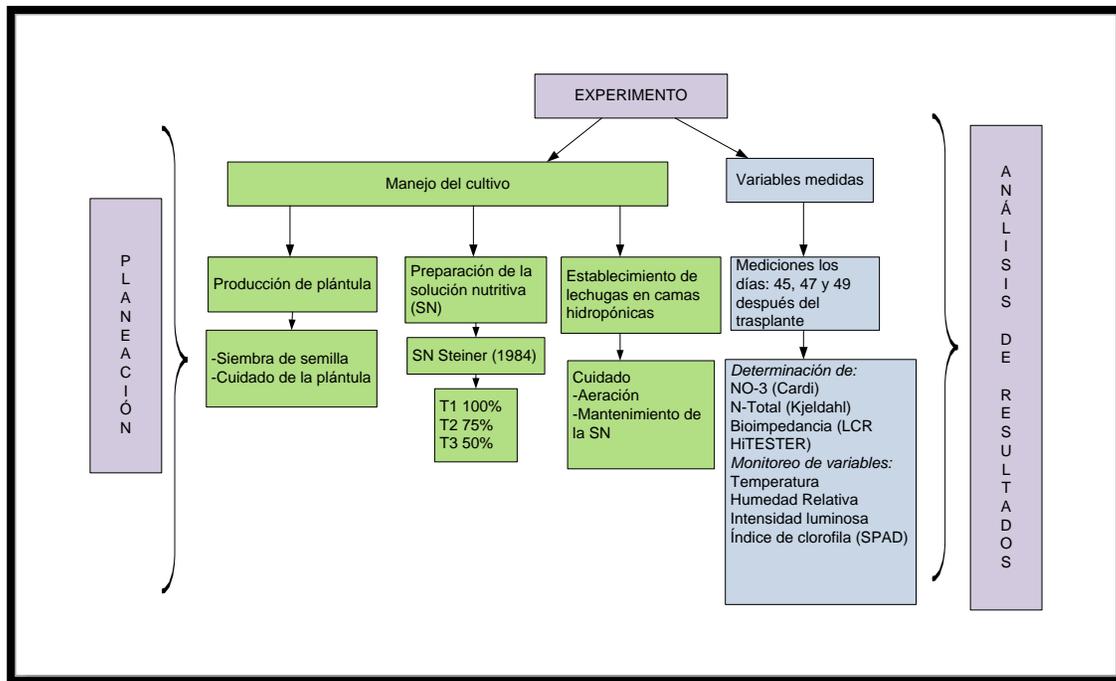


Figura 4.4 Partes del experimento

4.4 Manejo del cultivo

En el manejo de cultivo se llevaron a cabo las siguientes actividades: producción de plántula, preparación de la solución nutritiva, establecimiento de la lechuga en camas flotantes. Control de plagas y enfermedades.

4.4.1 Producción de plántula

La siembra se llevó a cabo dentro del mismo Campus Amazcala; se utilizaron 200 semillas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) de la variedad PVP8900099. Se optó por esta variedad debido a que su ciclo de cultivo es relativamente corto además de ser una variedad recomendada para producción en camas flotantes. Las características de esta variedad son: presenta hoja suelta, dispersa y ondulada; color rojo brillante sobre fondo verde pálido. Planta grande y vigorosa (Figura 4.5).

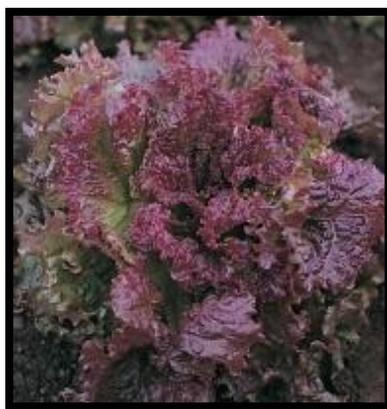


Figura 4.5 Lechuga Vulcan.

El crecimiento de la plántula se efectuó en charolas de unicel de 128 cavidades estas fueron lavadas y desinfectadas con sales cuaternarias (10 mL/L) para prevenir cualquier enfermedad. Éstos contenedores se llenaron con $\frac{3}{4}$ de sustrato peatmoss humedecido, posteriormente las semillas se colocaron de 0.5-1 cm de profundidad y finalmente se cubrieron con $\frac{1}{4}$ de vermiculita (Figura 4.6). Para provocar la germinación los semilleros fueron colocados en un cuarto oscuro donde la temperatura es más cálida y constante (aproximadamente entre 20°C y 25 °C), además se cubrieron con plástico de color negro induciendo que la semilla adquiriera humedad y temperatura. Una vez obtenida la germinación, entre 3 y 5 días después de la siembra, las charolas se colocaron en el invernadero buscando las condiciones óptimas de crecimiento y propiciar una mejor adaptación a la hora del trasplante.



Figura 4.6 Preparación de sustrato.

4.4.1.1 Cuidado de la plántula

Esta actividad se limitó a mantener a capacidad de campo el sustrato, a la colocación de una protección malla sombra y al monitoreo preventivo de plagas y enfermedades, de las cuales no hubo presencia.

4.4.2 Preparación de la Solución nutritiva (SN)

Como se menciona anteriormente, se realizaron tres soluciones las cuales se prepararon con base en la solución Steiner (Steiner, 1984) modificándose según cada tratamiento como se mostró en el Cuadro 4.1. La cantidad de fertilizantes aplicados en cada 180 litros de SN para cada tratamiento (100, 75 y 50%) se muestra en el Cuadro 4.2.

Cuadro 4.2 Cantidad de fertilizantes utilizados para preparar las cuatro soluciones nutritivas evaluadas (g en 1000 L).

	T1 (100%)	T2 (75%)	T3 (50%)
Fosfato monopotásico	0	136.207814	136.207814
Nitrato de calcio	616.603293	614.146707	736.976048
Nitrato de potasio	418.585296	158.773733	304.340378
Sulfato de magnesio	494.278075	608.342246	608.342246
Sulfato de Potasio	167.152724	339.675608	208.940906
Acido fosfórico	68.1145284ml	0	0

4.4.3 Trasplante de lechugas en camas flotantes

El trasplante se llevó a cabo 18 días después de la siembra en camas de hidroponía de 1m² de área por 10 cm de altura, a una densidad 30 plantas por m², cuando la plántula contaba de 3 a 4 hojas verdaderas (Figura 4.7). Se extrajo cuidadosamente la plántula de la charola de germinación y se lavaron las raíces en una cubeta con agua limpia para desprender el sustrato, posteriormente se introdujo la raíz a los orificios de las placas de unicel (Figura 4.7).



Figura 4.7 Trasplante de lechugas en camas flotantes.

4.4.4 Cuidados del cultivo hidropónico

Consintió en mantener la cantidad de oxígeno y de nutrientes aptos en la solución nutritiva para el crecimiento óptimo de la planta.

4.4.4.1 Aireación de las camas flotantes

Al oxigenar la SN y no ser limitante la disponibilidad de oxígeno, las raíces tienen mayor capacidad de absorber agua y nutrimentos, lo que incide positivamente en su desarrollo. Si no hay aire (oxígeno) en el área de las raíces, ellas primero dejarán de absorber nutrientes y agua y luego comenzaran a morir. Para mantener niveles de oxígeno disuelto aptos se removió la solución nutritiva durante 5 minutos por tratamiento en las mañanas.

4.4.4.2 Cambio de la solución nutritiva

Debido a que el ciclo de cultivo de esta variedad es relativamente corto, no fue necesario cambiar la SN, la opción tomada fue rellenar de agua la cama y posteriormente aplicar solución madre.

4.3 Variables medidas

Es la parte esencial del experimento, consistió en realizar las determinaciones de nitratos a través de los diferentes instrumentos para su posterior comparación y ratificar su posible correlación. Para esto, se realizaron mediciones los días 45, 47 y 49 días después de la siembra(dds) alrededor de las 12:00 y 15:00 hrs. Cada día se seleccionaron cinco plantas por tratamiento de las cuales se midió su bioimpedancia, cantidad de nitratos y nitrógeno total. Adicionalmente para tener una mejor interpretación del fenómeno se monitorearon para cada medición variables como temperatura, humedad e intensidad lumínica.

4.3.1 Medición de bioimpedancia

A las cinco plantas de cada tratamiento se midió su bioimpedancia, usando un medidor japonés LCR HiTESTER, marca HIOKI, modelo 3532-50. Este medidor puede ser conectado a una computadora sobre la cual se arrojan los datos. Se utilizaron como electrodos un par de agujas insulínicas de acero inoxidable de 0.75 cm de longitud, la distancia entre electrodos fue de 1.5 cm, estos se colocaron en el tallo de hojas jóvenes (Figura 4.8 y 4.9). Cada medición tomada consistió en un barrido de impedancia de 100 muestras, el rango de medición fue de 1 KHz a 100 KHz. Se aplicó una corriente constante rms de 50 μ A, el resultado proporcionado por el medidor de impedancia consistió en el valor de la impedancia $Z(\omega)$ y el ángulo de fase θ . Ver ecuaciones 2.8-2.11.

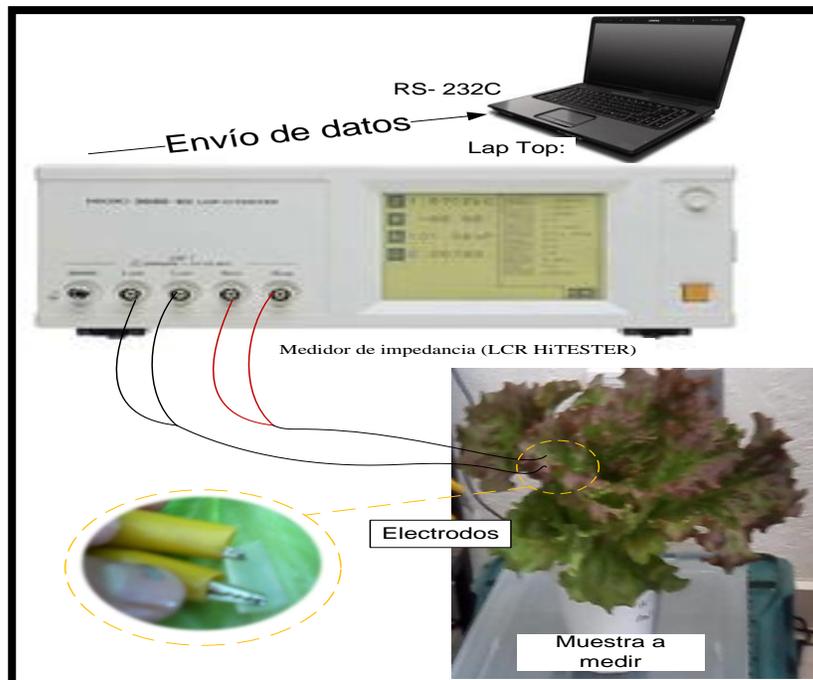


Figura 4.8 Sistema de medición de bioimpedancia.



Figura 4.9 Localización de los electrodos.

4.3.2 Medición de nitratos y nitrógeno total

Paralelo a la medición de bioimpedancia se realizó la determinación de nitratos y nitrógeno total. Los nitratos se midieron en tres de las cinco plantas con un sensor de electrodo de ion específico marca Marca Horiba Ltd USA, modelo C-141(Cardi NO_3^-) (Figura 4.10). Para esta medición se llevó a cabo el corte de una hoja basal y se trituro para obtener una cantidad suficiente de savia y llevar a cabo la lectura.



Figura 4.10. Medición del contenido de nitratos en hoja de lechuga. Equipo Compact Ion Meter Card Ion Modelo C-141

Por último, en laboratorio se determinó el nitrógeno total a través del método Kjeldahl de dos de las cinco plantas restantes.

4.3.4 Monitoreo de otras variables

Al momento de cada medición se monitoreo y registraron variables como: temperatura, humedad e intensidad lumínica. La temperatura y humedad se realizó a través de un datalogger: WatchDog Series 1000 Micro, de la marca Spectrum Technologies, Inc. Por su parte la radiación solar se determino mediante un medidor de luz de la marca Extech instruments modelo 401036 (Figura 4.11).



Figura 4.11 Instrumentos de medición a) Datalogger, b) Medidor de luz.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Manejo del cultivo

La diferencia de nutrición entre tratamientos propició diferencias fenotípicas tanto en tamaño como en coloración. Las plantas del tratamiento 1 (100% de nitrógeno) mostraron un tamaño superior al tratamiento 2 (75% de nitrógeno) y éste, al tratamiento 3 (50% de nitrógeno). Adicional al tamaño, en color también hubo diferencias: “entre mayor cantidad de nitrógeno las plantas mostraron un color verde más intenso” (Figura 5.1).

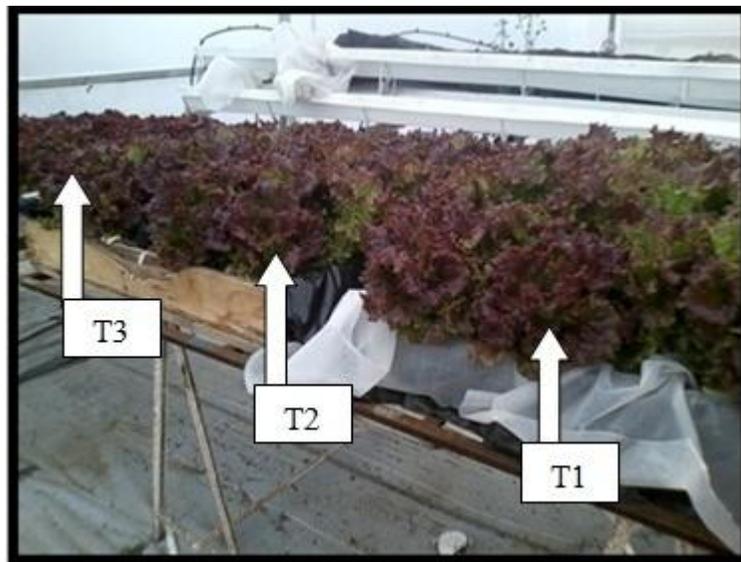


Figura 5.1 Tratamientos con diferentes concentraciones de N.

5.2 Medición bioimpedancia contra nitratos

Las Figuras 5.2, 5.3 y 5.4, muestran las curvas de impedancia vs frecuencia, y sus respectivas concentraciones de nitratos en cada día por tratamiento. A excepción del tratamiento dos, en el día tres, se observa una relación entre la cantidad de nitratos presentes en la savia y la medición de bioimpedancia. La relación cumplida: *“a mayor acumulación de nitratos menor valor de impedancia”*.

Se sugiere que esta correlación es debido a que una mayor cantidad de este anión disminuye la resistividad y por ende disminuye la impedancia (ley de ohm). En tejido vegetal se deben tener en cuenta que los electrodos, al cruzar el tallo, tienen contacto con diferentes tejidos y los haces vasculares. En los haces vasculares es donde se encuentra dicho ion el cual es estimado por la bioimpedancia.

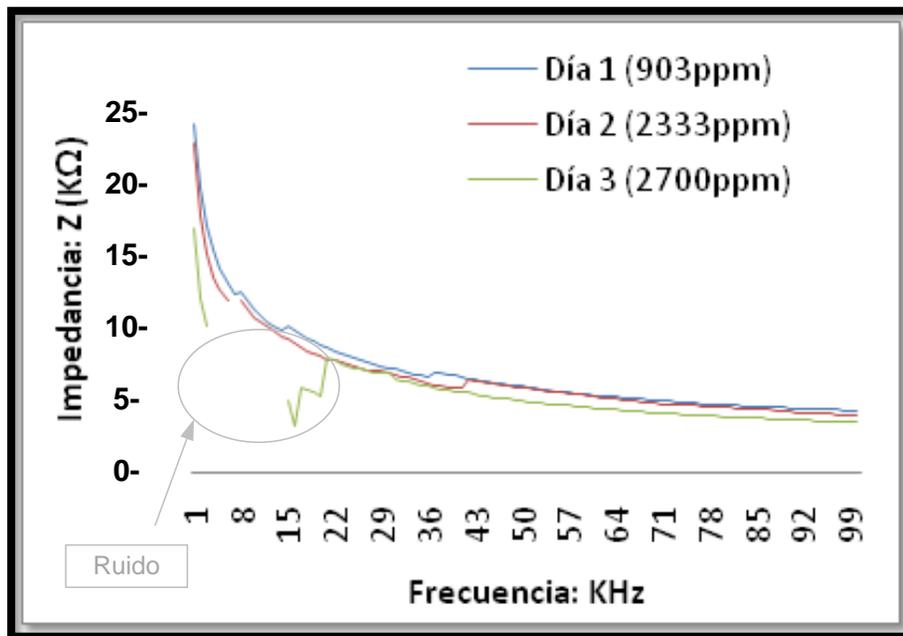


Figura 5.2 Variación de la curva de bioimpedancia y concentraciones de nitrato, durante los diferentes días de medición, del tratamiento 1(100% de N).

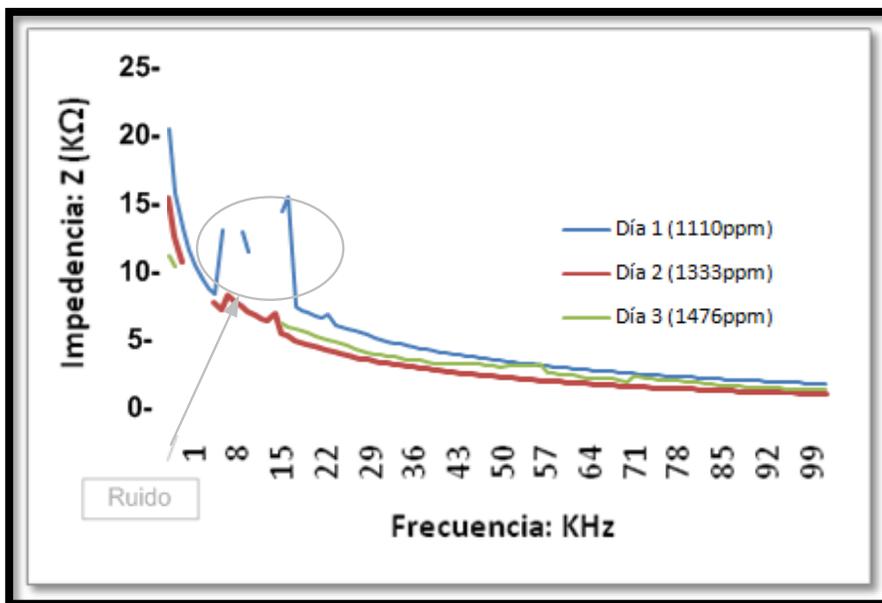


Figura 5.3 Variación de la curva de bioimpedancia y concentraciones de nitrato, durante los diferentes días de medición, del tratamiento 2 (75% de N).

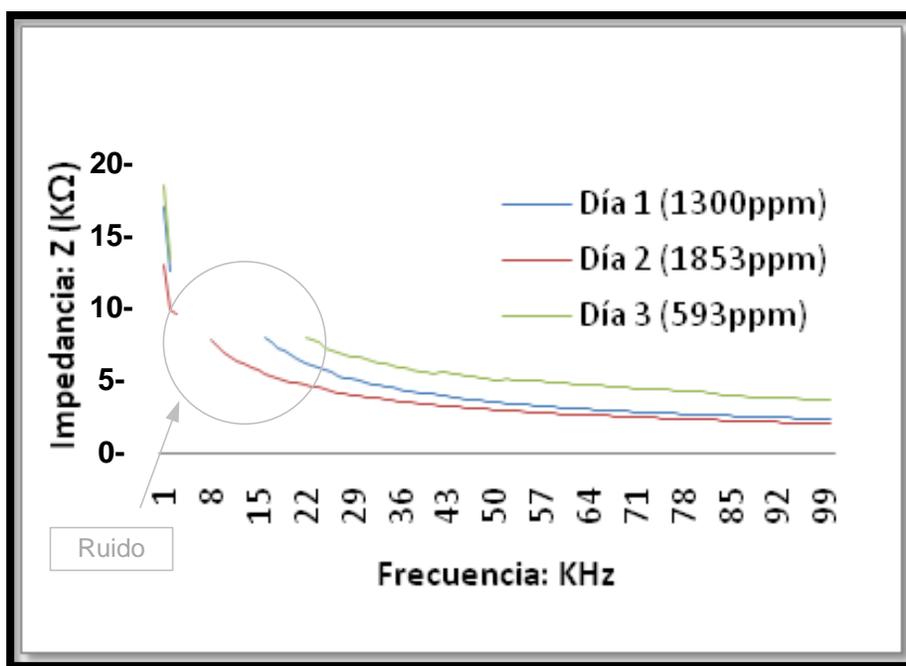


Figura 5.4 Variación de la curva de bioimpedancia y concentraciones de nitratos, durante los diferentes días de medición, del tratamiento 3 (50% de N).

5.3 Medición de bioimpedancia contra nitrógeno total

Por último, la Figura 5.5 muestra las curvas de impedancia vs frecuencia, sus respectivas concentraciones de nitratos y su porcentaje de nitrógeno total para cada tratamiento.

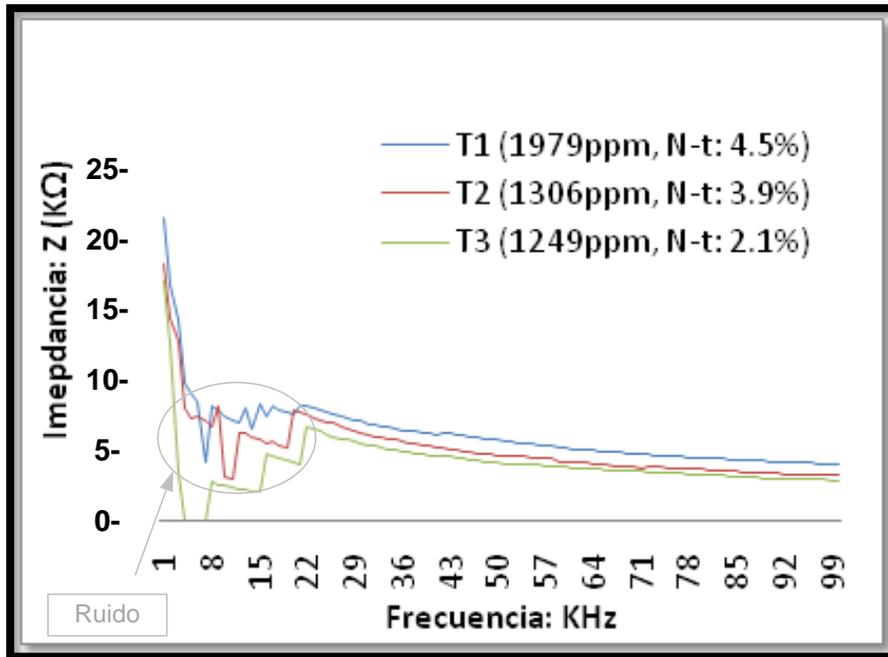


Figura 5.5 Variación de la curva de bioimpedancia, concentraciones de nitrato y concentraciones de nitrógeno total para los diferentes tratamientos.

En la Figura 5.5, se observa que la aseveración antes mencionada: “a mayor acumulación de nitratos menor valor de impedancia” no se cumple. Esto sugiere que el factor nitrógeno total tiene un efecto inverso y mayor que el efecto de los nitratos en la medición de impedancia. Es decir: “a mayor concentración de nitrógeno total, mayor valor de impedancia”.

VI. CONCLUSIONES

Los resultados presentados en el documento apoyan la hipótesis de que la bioimpedancia puede ser una herramienta para monitorear la concentración de nitrógeno (Nitratos y nitrógeno total) en plantas de lechuga.

Es importante mencionar que este trabajo abre las puertas para posteriores investigaciones, se recomienda evaluar de manera cuantitativa la relación que existe entre la concentración de nitratos y la bioimpedancia. Además, se podría continuar con el diseño y fabricación de un prototipo portátil (no destructivo), seguro, de rápida obtención de resultados que pueda ser usado como alternativa a los instrumentos convencionales. El método también podría ser utilizado para determinar o estimar otros iones como: sodio, calcio, o amonio, existiendo la posibilidad de desarrollar un instrumento (no destructivo) que determine la cantidad dichos iones en diferentes tejidos vegetales, con la gran ventaja de ser un método no destructivo que puede permitir conocer el estado nutrimental en la planta a tiempo y hacer las correcciones necesarias para asegurar un mayor rendimiento en los cultivos.

LITERATURA CITADA

Adams, P. and L.C. Ho. 1992. The susceptibility of modern cultivars to bossom-end rot in relation to salinity. *J. Hort. Sci.* 67: 827-839.

Alcántar González, G. e I.L. Trejo Tellez. 2007. *Nutrición de Cultivos*, Editorial Mundi-Prensa, México S.A. de C.V. 454 p.

Anne D. Bauchot, F. R. (2000). The use of electrical impedance spectroscopy to assess the physiological condition of kiwifruit. *Postharvst Biology and Technology* , 9-18.

Bertrand Hirel, Thierry Tétu, Peter J. Lea, 2011, Improving Nitrogen Use Efficiency in Crops for Sustainable Agriculture, *Sustainability*, 1452-1485.

Craddock, V. M. 1983. Nitrosamines and human cancer: proof on association. *Nature(London)* 306:638.

Dariusz Tomkiewicz, Tomasz Piskier., 2011. A plant based sensing method for nutrition stress monitoring, *Precision Agric*,13:370-383.

Davis, R. M., K. V. Subbarao, R. N. Raid y E. A. Kurtz. 2002. *Plagas y enfermedades de la lechuga*. Primera edición. Ed. Ediciones mundi-prensa. España. 79.

Day, R. A. 1979. *How to write and publish a scientific paper*, ISI Press, Philadelphia, PA.

Di Gioia, F.; Simonne, E.H.; Gonnella, M.; Santamaria, P.; Gazula, A.; Sheppard, Z. Assessment of ionic interferences to nitrate and potassium analyses with ion-selective electrodes. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 2011, 41, 1750–1768.

Dich, J., R. Jivinen, P. Knekt y P. Penttil (1996). Dietary intakes of nitrate, nitrite and NDMA in the Finish Mobile Clinick Health Examination Survey. Food addit Contam 15: 541-552.

FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. <http://www.fao.org>.

Favela Chávez, E., P. Preciado Rangel, A. Benavides Mendoza. 2006. Manual para la preparación de las soluciones nutritivas. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, 148 p.

Filho PB (2002) Tissue characterisation using an impedance spectroscopy probe. PhD thesis, Department of Medical Physiscs and Chemical Engineering, University of Sheffield.

Forbes, F. R. (1997). Ripening and development of chilling injury in persimmon fruit: An electrical impedance study. New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science , 25:2, 149-157.

Granstedt, R. and R. C. Huffaker. 1982. Identification of the leaf vacuole as major nitrate storage pool. Plant Physiology 79: 410-413.

Harker¹, P. J. (2000). Apple Bruise Detection by Electrical Impedance Measurement. HORTSCIENCE , 104–107.

[Hernando Valentin; Cadahia Carlos](#). El análisis de savia como índice de fertilización. Editorial: csic, madrid, 1973

Hill, M., J. 1990. Nitrates and nitrites from food and water in relation to human disease. En:Ellis Wood (ed.) Food Science and Technology. London, p. 163-193.

Hoffland, E.; Dicke, M.; van Tintelen, W.; Dijkman, H.; van Beusichem, M.L. Nitrogen availability and defense of tomato against two-spotted spider mite. *J. Chem. Ecol.* 2000, 26, 2697–2711.

Ivorra A. (2003). Bioimpedance monitoring for physicians: An overview. Centre Nacional de Microelectrònica Biomedical Applications Group.

Jian-xin He, Z.-y. W.-l.-j. (2010). A Prototype Portable System for Bioelectrical Impedance Spectroscopy. *SENSORS LETTERS* , 1151-1156.

Liedtke R., 1997, Principles of bioelectrical impedance analysis. RJI Systems Inc., Clinton 10. En: G. VOLKOV, Alexander, Plant Electrophysiology Methods and Cell Electrophysiology. USA: Springer, 2012. 359 p. ISBN 978-3-642-29118-0.

Liu Wen Ding, L. H. (2010). Low-power and Portable Design of Bioelectrical Impedance Measurement System. International Conference on Information Engineering , 38-41.

Marschner, H. 1995. Mineral nutrition of higher plants. 2. ed. New York: Academic Press. London UK. 889 p.

Martínez FS (2007) Electrical bioimpedance cerebral monitoring: Fundamental steps towards clinical application, thesis for the degree of doctor of philosophy. School of Engineering, University College of Borås, Sweden. Printed by Chalmers Reproservice Göteborg, Sweden.

Mensinga, T., G. Speijers y J. Meulenbelt. 2003. Health implication of exposure to environmental nitrogenous compounds. *Toxicol Review* 22: 41-51.

Montserrat Cortina-Puig, X. M.-B.-L. (2007). Characterization of an ion-selective polypyrrole coating and application to the joint determination of potassium, sodium and ammonium by electrochemical impedance spectroscopy and partial least squares method. *ANALYTICA CHIMICA ACTA* , 231-237.

Navarro, G, 2003, Química Agrícola “El suelo y los elementos químicos esenciales para la vida vegetal”. 2ª ed. Mundi-Prensa, 487 p

Pannala, A. S., A. R. Mani, J. P. Spencer, V. Skinner, K. R. Bruckdorfer, K. P. Moore y C. A. Rice-Evans. 2003. The effect on dietary nitrate metabolism in humans. *Free Rad.Biol. Med.* 34: 576-584.

Pänke O, Balkenhohl T, Kafka J, Schäfer D, Lisdat F (2008) Impedance spectroscopy and biosensing. *Adv Biochem Eng Biotechnol* 109:195–237.

Patricia, Salinas. (2010). Efecto del Acido Salicílico sobre la tolerancia a estrés hídrico en lechuga (*Lactuca sativa* L.). Querétaro: Universidad Autónoma de Querétaro.

Reference, N. N. (7 de Diciembre de 2011). National Nutrient Database for Standard Reference. Recuperado el 20 de Mayo de 2013, de <http://ndb.nal.usda.gov/>

Rafael F. Muñoz-Huerta, Ramón G. Guevara-González, Luis M. Contreras-Medina, Irineo Torres-Pacheco, Juan Prado-Olivarez, Rosalía V. Ocampo-Velázquez (2013). A Review of Methods for Sensing the Nitrogen Status in Plants: Advantages, Disadvantages and Recent Advances. *Sensors*. 13, 10823-10843.

Rhoades, J.D. 1993. Electrical conductivity methods for measuring and mapping soil salinity. pp: 201-251. *In*: Sparks D. L (ed). *Advances in Agronomy*.

Rodríguez Delfín, A., M. Hoyos Rojas, M. Chang La Rosa. 2001. Soluciones nutritivas en hidroponía. Primera edición. Centro de investigaciones de hidroponía, Universidad Nacional Agraria La Molina. 99p.

Sady. W., S. Rozek, J. Myczkowski. 1995. Effect of different forms of nitrogen on the quality of lettuce yield. In: Growing media e plant nutrition. Acta Horticulturae 401: 409-416.

SAGARPA-SIAP: Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo rural, Pesca y Alimentación-Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera.2010. www.siap.gob.mx

Schröder J., Doerner S., Schneider T., Hauptmann P., 2004, Analogue and digital sensor interfaces for impedance spectroscopy, Meas Sci Technol 15:1271–1278.

Schwarz, G., and Mendel, R. R. 2006. Molybdenum cofactor biosynthesis and molybdenum enzymes. Annu. Rev. Plant. Biol. 57: 623-647.

Services, N. C. (s.f.). NCDA&CS. Recuperado el 20 de Mayo de 2013, de <http://www.ncagr.gov/>

Sinfield, J.V.; Fagerman, D.; Colic, O. Evaluation of sensing technologies for on-the-go detection of macro-nutrients in cultivated soils. *Comput. Electron. Agric.* 2010, 70, 1–18.

Socaciu, C. y A. Stanila, 2007. In Case Studies in food Safety and Environmental Health.Pag. 11-19.

Steiner, A. A. 1973. The selective capacity of tomato plant for ions in a nutrient. pp.43-53 In: Proceedings 3th International Congress on Soiles Culture. Wageningen. The Netherlands.

Steiner, A. A. 1984. The universal nutrient solution . pp. 633-650 *In*: Proceedings 6th International Congress on Solies Culture. Wageningen. The Netherlands.

Steingrover, E., W. Sttenhuizen and J. Van der Boon. 1993. Effect of low light intensities at night on nitrate accumulation in lettuce grown on a recirculating nutrient solution. *Neth. J. Agric. Sci.* 41: 13-21.

Taiz, L.; Zeiger, E. *Plant Physiology*, 5th ed.; Sinauer Associates Inc.: Sunderland, MA, USA, 2010; pp. 67–86.

Teresa M. Vasconcelos, I. M. (2013). Assessment of Physiological States of Plants in situ. *BIOTECHNO* .

Ursula G. kyle, I. B. (2004). Bioelectrical impedance analysis. *Clinical Nutrition* , 1226-1243.

Urrestarazu, M., M. Abad, B., P. Adams., J. Gómez, V., T. Moreno, Iniesta., M. del C. Salas, S. J., M. Santos, Hernández., C. Sonneveld., D. L. Varela M. 2004, Tratado de cultivos sin suelo. Ediciones Mundi-prensa 3^a edición 914 p.

Yang Cao, T. R. (2011). Analysis of the willow root system by electrical impedance. *Journal of Experimental Botany* , 351–358.

Zheng, S. (2009). An Investigation on Electrical Properties of Major Constituents of Grape Must Under Fermentation Using Electrical Impedance Spectroscopy. School of Electrical and Computer Engineering Science, Engineering and Health College RMIT University.