

Estudio de la reflectancia espectral para estimar concentraciones de flúor en la hoja de maíz

Study of spectral reflectance to estimate fluorine concentration in maize leaf

Fátima Ojeda-Rodríguez^{1*}, Adriana Saldaña-Robles¹, Mónica Trejo-Durán²,
Glenda Edith Cea-Barcia³, Luis Pérez-Moreno⁴, Alberto Saldaña-Robles¹,
Jesús Alfonso Laguna-Pérez¹, Noé Saldaña-Robles¹

¹Departamento de Ingeniería Mecánica Agrícola de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Calzada Antonio Narro 1923. Buenavista, CP 25315. Saltillo, Coahuila, México. ²Departamento de Estudios Multidisciplinario, División de Ingenierías, Campus Irapuato-Salamanca de la Universidad de Guanajuato. Av. Universidad, col. Yacatita, CP 36500. Yuriria, Guanajuato. ³Departamento de Ingeniería Ambiental y ⁴Departamento de Agronomía de la División de Ciencias de la Vida (DICIVA), de la Universidad de Guanajuato, Ex Hacienda El Copal Km 9, Carretera Irapuato-Silao, A.P. 311, CP 36500. Irapuato, Guanajuato. Correo electrónico: f.ojedarodriguez@ugto.com [*Autor responsable]

RESUMEN

El flúor (F) es uno de los elementos químicos de alto riesgo por su alta toxicidad. El uso excesivo de agua subterránea contaminada con fluoruro para el riego es frecuente en muchas áreas endémicas de fluoruro, que afectan considerablemente los cultivos. En particular, el maíz es uno de los alimentos básicos para el ser humano, ya que aporta proteínas y carbohidratos. Las técnicas de percepción remota han sido utilizadas con éxito en la detección de metales pesados en diferentes cultivos, y se basan en la reflectancia espectral, característica conocida como firma espectral. Este trabajo tuvo como objetivo evaluar la efectividad de la reflectancia en el visible e infrarrojo cercano para estimar la concentración de flúor en la planta de maíz. Se indujeron cuatro niveles de flúor en plantas de maíz: 0, 5, 10 y 20 ppm. Los espectros de reflectancia de las hojas se adquirieron en un rango de longitud de onda de 190 a 1100 nm. Se cuantificó la concentración de flúor y la concentración de clorofila en la hoja de maíz, y se midió el crecimiento de la planta. La máxima relación entre la reflectancia y la concentración de flúor en planta se ve en R^2 de 0.40, a una longitud de onda de 405 nm, y la máxima relación entre la primera derivada y la concentración de flúor con un R^2 de 0.67, a una longitud de onda de 255 nm. En comparación con el blanco, la concentración de clorofila disminuyó 17.88% para la concentración de 5 ppm, un 20.53% para la concentración de 10 ppm y 18.98% para el tratamiento de concentración de 20 ppm, y en la semana cinco se observó un crecimiento del blanco mayor a cada uno de los tratamientos con flúor.

Palabras clave: Firma espectral, longitud de onda, flúor.

ABSTRACT

Fluorine (F) is one of the high risk chemical elements due to its high toxicity. Overuse of fluoride-contaminated groundwater for irrigation is prevalent in many fluoride-endemic areas, greatly affecting crops. In particular, corn is one of the basic foods for humans since it provides proteins and carbohydrates. Remote sensing techniques have been used successfully in the detection of heavy metals in different crops and are based on spectral reflectance, a characteristic known as spectral signature. This work aimed to evaluate the effectiveness of reflectance in the visible and near infrared to estimate the concentration of fluorine in corn plants. Four levels of fluoride were induced in corn plants at 0, 5, 10 and 20 ppm. The reflectance spectra of the sheets were acquired in a wavelength range of 190 to 1100 nm. The fluorine concentration in the corn leaf was quantified, the chlorophyll concentration in the corn leaf was quantified and the growth of the plant was measured. The maximum relationship between reflectance and fluorine concentration in plant is seen at R^2 of 0.40, at a wavelength of 405 nm, and the maximum relationship between the first derivative and fluorine concentration with an R^2 of 0.67 at a length of 255 nm wave. Compared to the blank, the chlorophyll A concentration decreased by 17.88% for the 5 ppm concentration, 20.53% for the 10 ppm concentration, and 18.98% for the 20 ppm concentration treatment, and the blank at week 5 was observe greater growth with each of the fluoride treatments.

Keywords: spectral signature, wavelength, fluorine.

INTRODUCCIÓN

La calidad del agua para uso agrícola se considera un problema mundial, debido a que ha ido en aumento y cada vez hay más afectaciones a la salud. El flúor (F) es uno de los contaminantes más tóxicos que afectan al medio ambiente (Zouari *et al.*, 2017). Se ha determinado que se distribuye ampliamente en los suelos agrícolas (Bandaru *et al.*, 2016). El F está presente de forma natural en el medio ambiente y es un componente común del agua subterránea (Scholz *et al.*, 2015).

Diversos estudios han reportado y comprobado la absorción de flúor por varias especies de plantas, los cuales determinan que, a bajas concentraciones de F en el suelo, las plantas pueden absorberlo rápidamente, y que luego es posible que se transfiera rápidamente de las raíces a los tallos y las hojas; también se determinó el contenido de F en diferentes partes de la planta, donde se exhibió la siguiente tendencia: raíz > tallo > hoja (Zhang *et al.*, 2018). Lo anterior ocasiona que el F presente en el suelo y el agua sea capturado por los cultivos, incluyendo la parte comestible, lo cual resulta

crítico para la salud humana. En particular, el maíz es uno de los alimentos básicos para el ser humano, ya que aporta proteínas y carbohidratos; actualmente México ocupa el octavo lugar a nivel mundial en producción de maíz con más de 27 millones de toneladas, y en 2016 la producción anual de maíz en el estado de Guanajuato ascendió a 1.4 toneladas.

A partir de estos datos sobre el estado de contaminación del agua subterránea y la contaminación de los cultivos agrícolas, se vuelve de suma importancia, no sólo estudiar los mecanismos de absorción y transporte en los cultivos agrícolas, sino la búsqueda de técnicas de remoción de flúor, así como su detección de una manera más eficiente que las utilizadas hasta ahora. Las técnicas de percepción remota han sido utilizadas con éxito en la detección de metales pesados en diferentes cultivos (Bandaru *et al.*, 2016), que se basan en la reflectancia espectral característica conocida como firma espectral, la cual cambia de acuerdo con el estado de salud del cultivo. A partir de tales estudios, este trabajo tiene como finalidad evaluar la efectividad de la reflectancia espectral visible e infrarroja cercana en las hojas, para así cuantificar los niveles de F acumulados en la planta de maíz.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para la evaluación de la firma espectral de la hoja de maíz contaminada con flúor, se sembró en macetas maíz híbrido ocelote marca Asgrow, con una mezcla de sustratos de tezontle, perlita y vermiculita, con un porcentaje de 50, 25 y 25%, respectivamente, a un volumen de 20 L, los cuales fueron contaminados con soluciones de flúor de 0, 5, 10 y 20 ppm (B= 0ppm, F1= 5ppm, F2= 10ppm y F3= 20ppm); para hacerlo se utilizó fluoruro de sodio (Figura 1). Este estudio se realizó en el área experimental de la Universidad de Guanajuato, campus Irapuato-Salamanca, ubicada a 10 km de Irapuato (20° 44' 39" N, 101° 20' 12" O). La siembra se llevó a cabo en marzo de 2020. A cada maceta se le dosificó la solución con la concentración correspondiente, procurando que el riego con la solución fuera homogéneo en la maceta. Los tratamientos fueron por quintuplicado y las muestras destructivas en la etapa fenológica V7-V10. Se analizó la firma espectral, la concentración de clorofila y la concentración de flúor en hoja. También se midió el crecimiento de la planta cada dos semanas y se contó el número de hojas en cada planta

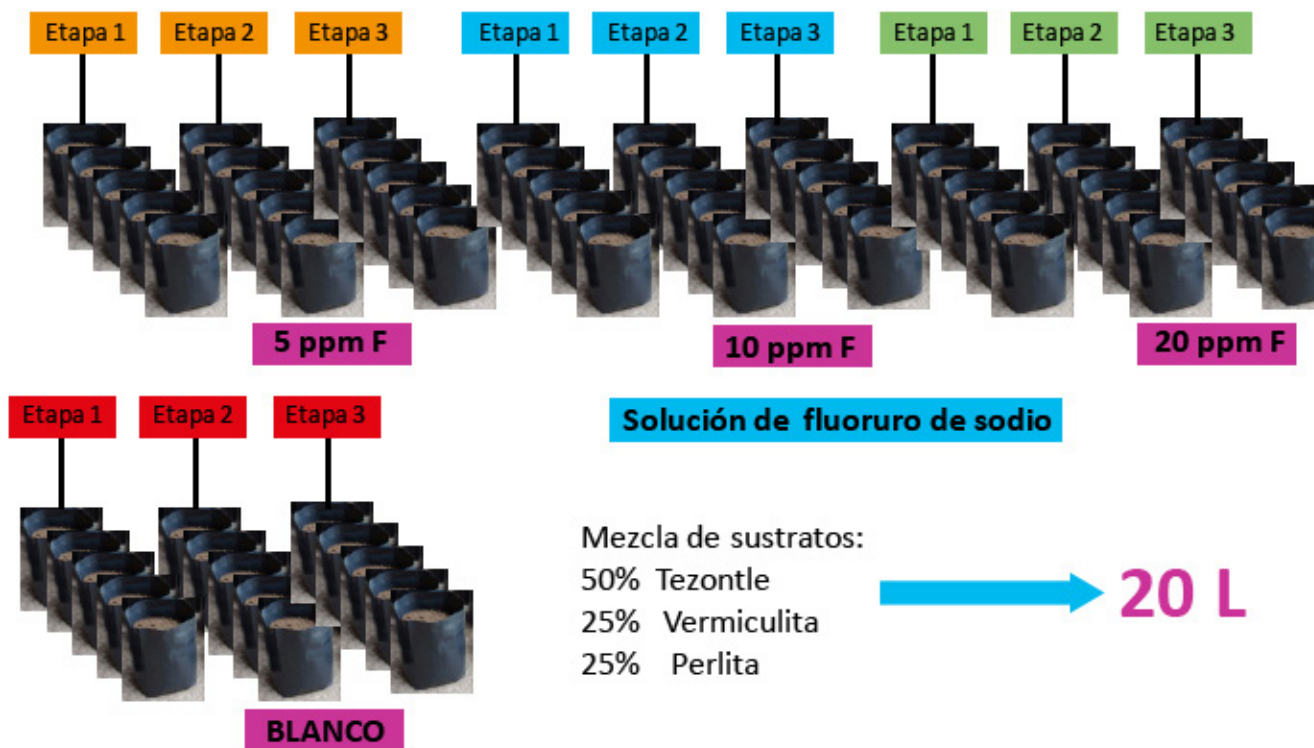


Figura 1. Experimento de maíz contaminado con fluoruro de sodio.

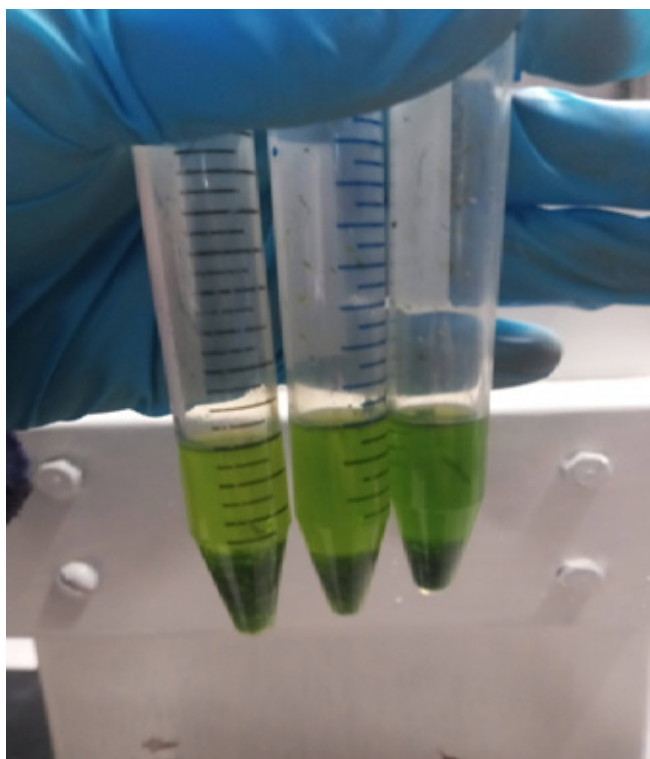


Figura 2. Muestras para la extracción de clorofila.

En este experimento la nutrición de la planta del maíz fue fundamental, ya que de esto depende su crecimiento, por lo que se le aplicaron los macronutrientes y micronutrientes. Respecto a los macronutrientes, se agregaron 17.85 g por planta de sulfato de amonio (3.74 g N por planta), 2.17 g por planta de súper fosfato triple (0.999 g P por planta) y 2.08 g por planta de cloruro de potasio (1.24 g K por planta). También se añadió 0.31 g de mezcla de micronutrientes por planta.

En una etapa de crecimiento se tomó la hoja verdadera completamente expandida para la medición de la reflectancia espectral. La reflectancia de la hoja se midió por el haz de la hoja, con una esfera integradora acoplada a un espectrómetro Lambda 365 UV-VIS. La reflectancia se midió en el rango de longitud de onda de 200 a 1100 nm a una resolución de 1 nm.

Para el análisis de los datos que se obtuvieron en la lectura de reflectancia y la determinación de arsénico, se determinó el coeficiente de correlación entre los datos de reflectancia y los datos de la concentración de arsénico. Por la necesidad de los datos, se determinó la primera derivada, así como la correlación entre los datos de la primera derivada de la reflectancia contra la concentración de arsénico.

Para la cuantificación de flúor en las estructuras de maíz se separaron cada una de las estructuras de la

planta de maíz: hoja, tallo y raíz, y se secó a 60° C por 72 horas. Se tomaron 50 mg de hoja de maíz previamente secada con 0.5 g de carbonato de sodio, y se calcinó en un horno de mufla a 450° C durante 5 horas. Luego, el material calcinado se disolvió en HCl a 5 M y el pH del extracto de HCl se ajustó a 5,3 mediante la adición gradual de ácido acético glacial (Zouari *et al.*, 2017). Después de eso, se mezclaron 1.5 mL de la solución de extracción con 1.5 mL de solución tampón de ajuste de fuerza iónica total (TISAB), y la determinación de fluoruro se realizó con un electrodo de ion selectivo ORIONStar A214 de Thermo Scientific.

El procedimiento para la determinación de clorofila se llevó a cabo pesando 25 mg de hoja seca, la cual se trituro y sumergió en un volumen de 5 mL de acetona al 80% (v/v), como disolvente extractor de los pigmentos. Se agitó y se dejó reposar en la oscuridad a 4° C durante 24 horas. Después de este periodo, se llevó a temperatura ambiente y como blanco se utilizó el propio disolvente. Las muestras (Figura 2) se midieron en un espectrofotómetro Lambda 365 de Perkin Elmer a 663 y 646 nm. Las concentraciones de clorofila a y b se calcularon usando las ecuaciones publicadas por Lichtenthaler (1987).

$$Ca = 12.21A_{663} - 2.81A_{646}$$

$$Cb = 20.13A_{663} - 5.03A_{646}$$

Donde:

Ca: Clorofila a

Cb: Clorofila b

A_{663} : La absorbancia a 663 nm

A_{646} : La absorbancia a 646 nm

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la gráfica de crecimiento que se muestra en la Figura 3 se observa que el crecimiento es mayor en el blanco, respecto a los tratamientos que fueron regados con flúor en las semanas 2 y 4. Sin embargo, el blanco en la semana 5 observa un crecimiento menor a cada uno de los tratamientos. También fueron importantes las características de las hojas; pero estas no presentaron clorosis o algún defecto visible en las hojas. Al respecto, algunos autores reportan que puede haber cambios en las características bioquímicas y biofísicas, por lo que se refleja en los síntomas visibles de la planta y un menor crecimiento de la planta, a la vez que la decoloración marrón rojiza de las raíces en plantas tratadas con flúor.

En la Figura 3b se muestra el crecimiento del número de hojas respecto al tiempo y se puede observar que el número de hojas en el blanco es superior al trata-

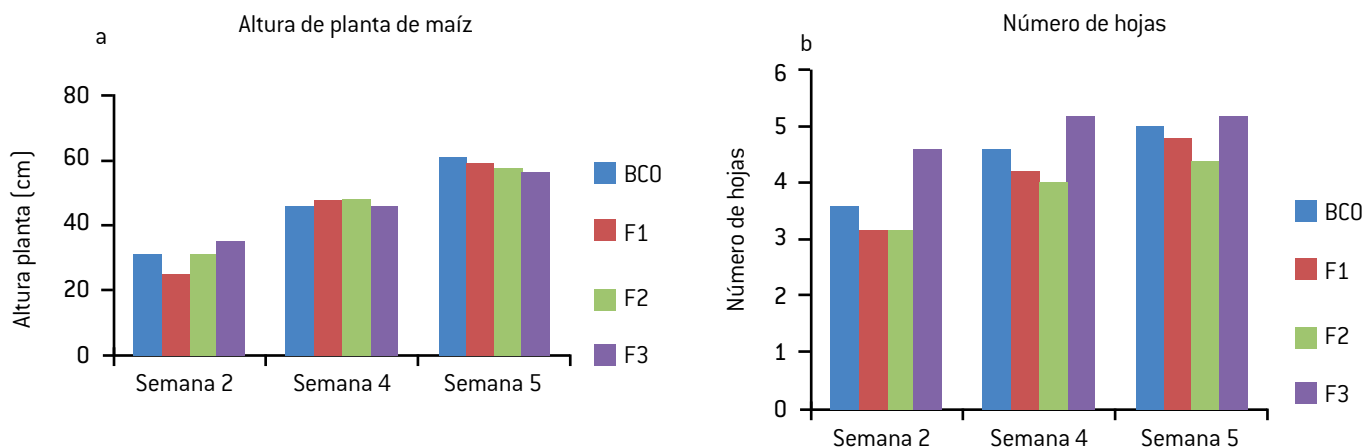


Figura 3. Crecimiento (a) y número de hojas (b) de planta de maíz en presencia de flúor.

miento F1 y F2, que corresponden a las concentraciones de 5 y 10 ppm, respectivamente. Sin embargo, el tratamiento F3 que corresponde a una concentración de 20 ppm supera el número de hojas respecto al blanco, lo cual difiere de un estudio donde reportan una disminución en las hojas de *Artemisia absinthium*, ya que no mostró ninguna reducción en el número de hojas a concentraciones de NaF de 30 ppm y 50 ppm, mientras que *Cannabis sativa* mostró una disminución en el número de hojas y se encontró que la reducción porcentual fue de 15% tanto a la concentración de 30 ppm como a la de 50 ppm (Bano *et al.*, 2020).

Las firmas espectrales de las reflectancias de la hoja de maíz tomadas en cada una de las macetas, se muestran en la Figura 4. Aunque se observa cierta diferencia entre tratamiento, no es posible argumentar una conclusión sobre el efecto del flúor sobre la planta de maíz.

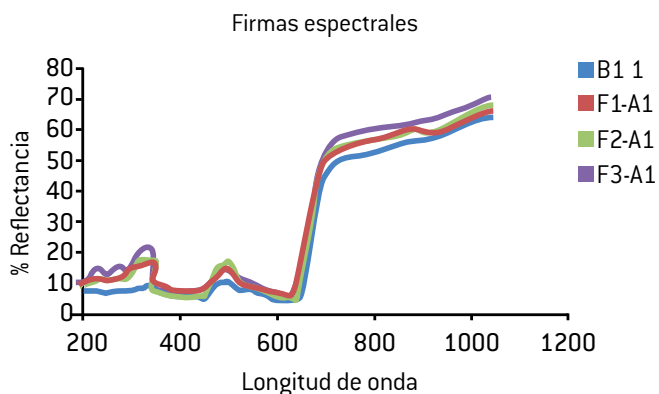


Figura 4. Firmas espectrales de la hoja de maíz contaminada con flúor.

Se determinó el coeficiente de correlación entre los valores promedio de las reflectancias con la concentración de arsénico, al graficar los valores de R^2 contra longitudes de onda (Figura 5). La máxima relación entre la reflectancia y la concentración de flúor en planta que se ve en R^2 , es de 0.23, correspondiente a una longitud de onda de 657 nm, la cual es muy baja, por lo que ayuda a predecir la concentración de arsénico en la planta de maíz. Por lo tanto, se procede a determinar la primera derivada de los datos de reflectancia.

Posteriormente, se calculó la primera derivada de los promedios de las reflectancias de cada una de las lecturas de la hoja de maíz y se determinó el coeficiente de correlación entre la primera derivada y las concentraciones de flúor. En la Figura 6 se observa la máxima relación entre la primera derivada y la concentración de flúor con un R^2 de 0.70 a una longitud de onda de 255

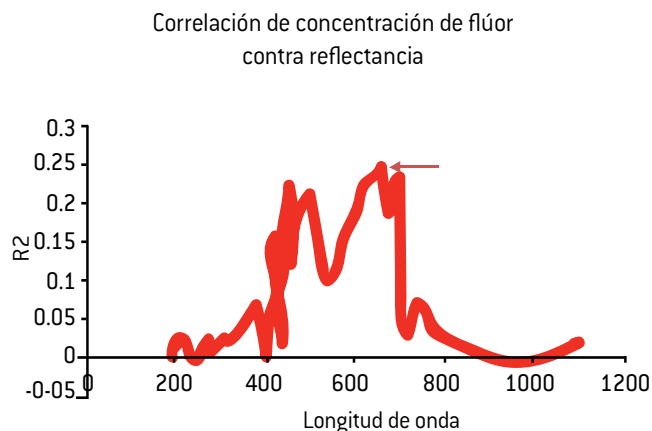


Figura 5. Gráfica de correlación entre reflectancia y concentración de flúor contra longitud de onda. La flecha indica el valor máximo de R^2 .

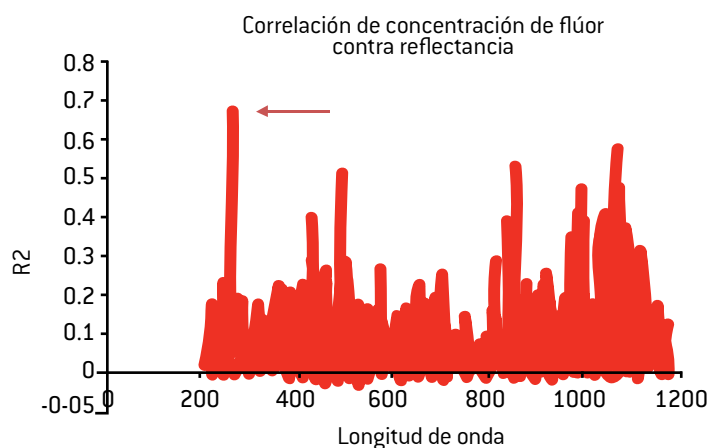


Figura 6. Correlación de primera derivada contra la concentración de flúor. La flecha indica el valor máximo de R^2 .

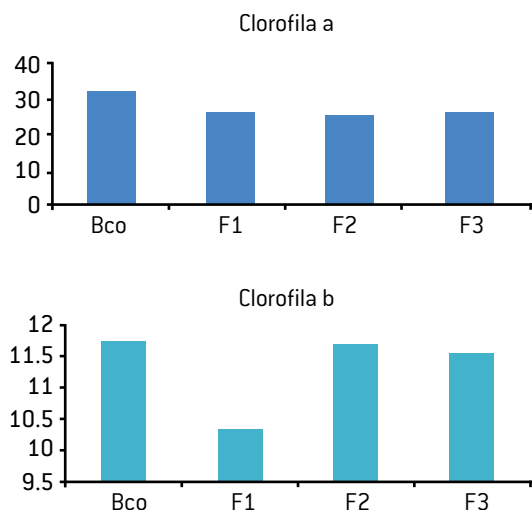


Figura 7. Cuantificación de clorofila a y b en hoja de maíz contaminada con flúor.

nm. Algunos autores reportan en estudios de reflectancia que este coeficiente de correlación es aceptable para otros contaminantes. Por lo tanto, podría determinarse la concentración de flúor en la hoja de maíz.

Respecto a las mediciones de clorofila b, se puede observar que presentan pequeñas diferencias entre los distintos tratamientos y el blanco. Para el caso de la clorofila respecto a si presentan diferencias entre todas las concentraciones, la acumulación de alteraciones inducidas por el flúor en las características biofísicas y bioquímicas de la planta se indica en el contenido de clorofila de la hoja (Figura 7). Los resultados mostraron que, en comparación con el tratamiento de blanco, la concentración de clorofila A disminuyó en 17.88%

para la concentración de 5 ppm (F1), 20.53% para la concentración de 10 ppm (F2) y 18.98% para el tratamiento de concentración de 20 ppm (F3). En un estudio de diferentes variedades de arroz contaminados artificialmente con NaF, mostró una marcada degradación de la clorofila a y clorofila b con el aumento de la concentración de fluoruro de 5 a 20 mg/L (Mondal, 2017). Por lo tanto, a partir de estos resultados, queda claro que el flúor puede interferir en la biosíntesis del pigmento, que es un síntoma principal de la clorosis inducida por flúor (Sreedevi y Damodharam, 2013). También se ha reportado que el F puede interferir bloqueando la desfosforilación de la proteína de membrana (en particular, el complejo proteico clorofila a / b) que es fosforilada por la quinasa activada por luz (Kumar y Singh, 2015).

CONCLUSIONES

Fue notorio que el crecimiento de la planta se ve afectado con la presencia de flúor, así como por el incremento del número de hojas en la planta. Se pudo observar que la concentración de clorofila en la hoja de maíz disminuye con la presencia de flúor en el agua de riego, lo que lleva a perjudicar la salud de la planta. Por otro lado, en las correlaciones de las reflectancias con las concentraciones de flúor y con la primera derivada, no fue posible obtener un coeficiente R^2 alto, por lo que se sugiere someter los datos a un análisis con un modelo matemático que permita predecir una relación entre los datos de reflectancia y las concentraciones de flúor determinadas en la hoja de maíz.

LITERATURA CITADA

- BANDARU, V., Daughtry, C. S., Codling, E. E., Hansen, D. J., White-Hansen, S., & Green, C. E. (2016). Evaluating Leaf and Canopy Reflectance of Stressed Rice Plants to Monitor Arsenic Contamination. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 13(6), 606. <https://doi.org/10.3390/ijerph13060606>
- BANO, R., Khayyam, U., & Khalid, S. (2020). Effects of Increasing Soil Fluoride on the Growth of Vegetation in the Vicinity of Brick Kilns: A Case Study from Rawalpindi, Pakistan. *Polish Journal of Environmental Studies*, 29(2), 1535-1544. <https://doi.org/10.15244/pjoes/101610>
- KUMAR, S., & Singh, M. (2015). *Effect of fluoride contaminated irrigation water on Eco-physiology, biomass and yield in Gossypium hirsutum L.* 9.
- LICHTENTHALER, H. K. (1987). [34] Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. En *Methods in Enzymology* (Vol. 148, pp. 350-382). Academic Press. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(87\)48036-1](https://doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1)
- MONDAL, N. K. (2017). Effect of fluoride on photosynthesis, growth and accumulation of four widely cultivated rice (*Oryza sativa L.*) varieties in India. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 144, 36-44. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.06.009>
- SCHOLZ, L. M., Kopittke, P. M., Menzies, N. W., Dalzell, S. A., Macfarlane, D. C., & Wehr, J. B. (2015). Use of Fluoride-Containing Water for the Irrigation of Soil-Plant Systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(19), 4737-4745. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b01001>
- SREEDEVI, R., & Damodharam, T. (2013). *Exterminate consequence of NaF on seed germination and some morphological changes of major pulse crop Cicer aritinum L. Cv. Anuradha (Bengal gram).* 4.
- ZHANG, J., Yu, L., Yang, H., & Ye, B.-C. (2018). *Migration and transformation of fluoride through fluoride-containing water for the irrigation of a soil-plant system.* 12.
- ZOUARI, M., Elloumi, N., Bellassoued, K., Ben Ahmed, C., Krayem, M., Delmail, D., Elfeki, A., Ben Rouina, B., Ben Abdallah, F., & Labrousse, P. (2017). Enzymatic antioxidant responses and mineral status in roots and leaves of olive plants subjected to fluoride stress. *South African Journal of Botany*, 111, 44-49. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2017.03.039>