



ESTUDIO DE LA DINÁMICA DE HIDRATACIÓN
DE PLANTAS BAJO ESTRÉS HÍDRICO POR
MEDIO DE ESPECTROSCOPIA E IMAGEN DE
TERAHERTZ



MAESTRÍA EN CIENCIAS (ÓPTICA)

Asesor: Dr. Enrique Castro Camus

Estudiante: Oscar Andres Naranjo Montoya

Julio de 2016
León, Guanajuato, México



Estudio de la dinámica de hidratación de plantas bajo estrés hídrico por medio de espectroscopía e imagen de terahertz

Tesis presentada por:

Oscar A. Naranjo-Montoya

Como requisito parcial para obtener el grado de
Maestro en Ciencias (Óptica).

Asesor de tesis:

Dr. Enrique Castro-Camus

Centro de Investigaciones en Óptica A.C
León, Guanajuato-México

2016

*Dedicado a mis padres, Reinel y Teresa,
y a mi querida Liss.*

Agradecimientos

Agradezco a todas las personas que de alguna u otra manera han hecho parte de mi formación integral. Especialmente al Dr. Enrique Castro-Camus por la asesoría en este trabajo, A la Dra. Alejandra Covarubias y a Miguel Palomar por su contribución con el crecimiento y preparación de las plantas usadas en este estudio y por las discusiones que tanto aportaron a este trabajo; a Enrique Noe Arias por las modificaciones en la interfase gráfica del sistema de mediciones; a Chuy, Marco y Luis por la fabricación de las piezas mecánicas necesarias en los arreglos experimentales; y finalmente a todos mis compañeros del grupo de terahertz, Goretti, Arturo y Felipe por el apoyo y las valiosas contribuciones que hicieron a esta tesis.

Trabajos en conferencias y presentaciones

- Oscar A. Naranjo-Montoya, M. Palomar, R. Gente, N. Born, N. VoB, W. Sannemann, J. León, M. Koch, A.A. Covarrubias, and E. Castro-Camus; *Study of the dynamics of plant hydration under water stress by terahertz spectroscopy and imaging* (TeraHertz radiation: the dark gap between microwaves and infrared, Cuernavaca, México, marzo de 2016.)
- Oscar A. Naranjo-Montoya, M. Palomar, R. Gente, N. Born, N. VoB, W. Sannemann, J. León, M. Koch, A.A. Covarrubias, and E. Castro-Camus; *Estudio de la dinámica de hidratación de diferentes especies de plantas bajo estrés hídrico por medio de espectroscopía e imagenología de terahertz* (Primera Reunión Mexicana de Ciencia y Tecnología de Terahertz, León, México, octubre de 2015.)

Resumen

En este trabajo se presentan los resultados del estudio de la dinámica de hidratación de dos variedades de frijol (la variedad Pinto Saltillo y la variedad Bayo Madero) de la especie *Phaseolus vulgaris* L. por medio de espectroscopía en terahertz en el dominio del tiempo. Esta técnica resulta ser una poderosa herramienta para monitorear la cantidad de agua en muestras biológicas debido a que es una de las pocas que permite hacer mediciones *in vivo* sin tener contacto con las muestras. Fue posible obtener las propiedades ópticas como la permitividad compleja de hojas deshidratadas que junto con la permitividad compleja del agua y con ayuda de un modelo de medio efectivo sirvieron para encontrar la permitividad compleja efectiva de hojas de frijol con cualquier fracción volumétrica de agua. Se diseñaron y construyeron diferentes arreglos experimentales para obtener periódicamente información de la cantidad de agua en las hojas de diferentes plantas de frijol simultáneamente y para hacer imágenes periódicas de terahertz en la superficie y el canto del sustrato depositado en una charola de polietileno. Como resultado se pudo monitorear la respuesta a la sequía de las dos variedades de frijol para tener información de mecanismos de defensa de estas plantas a la falta de agua. Uno de los mecanismos observados fue una menor regulación en la cantidad de agua en las hojas durante los ciclos de día-noche y una posterior pérdida de estas para las plantas más resistentes al estrés por sequía que para las menos resistentes. Por último, también se pudo observar por medio de imágenes en terahertz, la dinámica de deshidratación del sustrato Turface (sustrato de interés botánico), lo que abre la posibilidad de nuevos estudios en los que se puedan modelar propiedades de difusión de agua en los sustratos

para optimizar la forma en la que se utilizan en el estudio de plantas.

Índice general

1. Introducción	3
1.1. La banda de Terahertz	5
1.1.1. Aplicaciones de la radiación de terahertz	7
1.2. Descripción del trabajo	9
2. Espectroscopía en terahertz en el dominio del tiempo (THz-TDS)	11
2.1. Descripción del sistema THz-TDS	11
2.1.1. Generación y detección por medio de antenas fotocon- ductivas	14
2.2. Caracterización de materiales mediante THz-TDS en configu- ración de transmisión	16
2.3. Caracterización de materiales mediante THz-TDS en configu- ración de reflexión	21
2.4. Teoría de medio efectivo	22
3. Estudio de la dinámica de deshidratación de plantas	25
3.1. Crecimiento y preparación de las plantas	25

3.2.	Determinación de la función dieléctrica de las hojas de frijol	27
3.3.	Arreglo experimental para las mediciones en plantas	36
3.4.	Obtención de la cantidad de agua en las hojas de las plantas	36
3.5.	Mediciones periódicas en plantas	38
4.	Estudio de la dinámica de deshidratación de sustratos	41
4.1.	Determinación de la función dieléctrica del sustrato Turface	41
4.2.	Arreglo experimental para las mediciones en sustratos	44
4.3.	Mediciones e imágenes del sustrato	45
5.	Resultados y Discusión	47
5.1.	Evolución temporal de la cantidad de agua en las plantas de frijol	47
5.2.	Imágenes de la evolución temporal del agua en el sustrato Turface	55
6.	Conclusiones	60

Capítulo 1

Introducción

La creciente demanda de alimentos a nivel global [1], el avance de las zonas áridas del planeta [2, 3], el hecho de que según la Organización Mundial para la Agricultura y la Alimentación alrededor del 70 % del agua dulce que se consume en el planeta está destinado a la agricultura, y las previsiones de Cambio Climático Global realizadas por organismo internacionales que aseguran que las limitaciones a la disponibilidad de agua serán mucho mayores en los próximos años [4]; tornan indispensable identificar variedades de plantas de importancia alimentaria que requieran un menor suministro de agua para ser cultivadas. Para esto es importante entender los procesos defensivos de las plantas, en particular las de relevancia agronómica; bajo condiciones adversas, especialmente bajo estrés por sequía, por lo que es necesario encontrar un método que permita medir la hidratación de los tejidos *in vivo*, en tiempo real. Actualmente este parámetro se puede determinar en tejidos vegetales usando técnicas bien conocidas como la termogravimetría, en la que se compara la masa del tejido “fresco” recién extraído del espécimen con la

masa del tejido una vez deshidratado [5]; o con la medición de su potencial osmótico, que también implica la extracción de tejido de la planta [6]. Estas técnicas usadas convencionalmente son destructivas y no permiten realizar mediciones del estado de hidratación de un tejido en tiempo real. En los últimos años se ha desarrollado una técnica llamada espectroscopia en terahertz, que entre muchas cosas permite tener información de la cantidad de agua que hay en casi cualquier muestra de una manera no invasiva [7, 8]. Esta técnica es el único método no destructivo que actualmente existe para el monitoreo de hidratación de plantas *in vivo* como se detalla en las siguientes secciones.

La técnica de espectroscopia en terahertz utiliza radiación electromagnética en el rango de frecuencias de los terahertz (THz). Esta radiación tiene la particularidad de que es fuertemente absorbida por el agua líquida [9], hecho que convierte la técnica en una poderosa herramienta sin precedentes para monitorear cambios muy pequeños en la cantidad de agua de tejidos delgados [7, 10–13] como las hojas de una planta [14, 15]. A la fecha se han desarrollado una cantidad considerable de aplicaciones medicas y biológicas en las cuales se usan ondas de THz, y grupos de investigación en campos como espectroscopía en terahertz y biología empiezan a colaborar fuertemente [16–19]. La capacidad de detectar la presencia de agua sin necesidad de contacto físico vuelve a esta radiación una excelente forma de detección *in vivo* de la dinámica de hidratación en tejidos biológicos. El Grupo de Ciencia y Aplicaciones de Terahertz en el que se realizó esta tesis recientemente reportó un estudio que describe el efecto de las sequías, los ciclos de luz y oscuridad y la aplicación de hormonas en el estado hídrico *in vivo* de la

especie *Arabidopsis thaliana* usando esta técnica [13]. Dicho estudio provee una nueva perspectiva sobre la forma en que estos organismos reaccionan ante diversos estímulos ambientales y demuestra que la radiación de terahertz permite dar un seguimiento con una alta precisión del contenido de agua de las plantas. Basados en este principio, se propuso estudiar la dinámica de hidratación de plantas de dos variedades de frijol: Pinto Saltillo y Bayo Madero, de las cuales la primera resulta ser agronómicamente más resistente a la sequía que la segunda, es decir que bajo condiciones de escasez de agua continúan siendo productivas [20].

En este trabajo se diseñó y construyó un sistema automatizado para realizar mediciones periódicas *in-vivo* del porcentaje de humedad de varias plantas simultáneamente, en tiempo real y sin destruir los especímenes; usando espectroscopía en terahertz en el dominio del tiempo (THz-TDS). Con el sistema se pudo tener control sobre tiempos de medición, y repetitividad en las mediciones de las plantas y con los datos adquiridos se pudieron conocer algunos mecanismos de defensa de las plantas ante condiciones de estrés por sequía. Además se diseñaron y construyeron dos arreglos experimentales más para estudiar la dinámica de deshidratación de sustratos de interés biológico por medio de imágenes de terahertz.

1.1. La banda de Terahertz

Cuando se habla de Rayos T, infrarrojo lejano o radiación de terahertz, típicamente se refiere a la porción del espectro electromagnético ubicado en-

tre la región infrarroja y las microondas que en frecuencia se ubica entre 30 GHz y 10 THz (de 1 cm^{-1} a 300 cm^{-1} , de $30\text{ }\mu\text{m}$ a $10000\text{ }\mu\text{m}$ o de 1 meV a 41 meV), como se muestra en la figura 1.1. Hasta hace aproximadamente treinta años era imposible acceder a esta región del espectro debido a la falta de dispositivos emisores y detectores para estas frecuencias en particular [21]. Cuando se intentó acceder por el lado de las bajas frecuencias (microondas), se usaron dispositivos electrónicos que finalmente presentaban un problema fundamental en los transistores que en el mejor de los casos tenían tiempo de tránsito de los electrones del orden de picosegundos, tiempo que está determinado por el tamaño del dispositivo y por la movilidad del portador de carga [22]. Tampoco fue posible acceder por el lado de las altas frecuencias puesto que no existían detectores capaces de observar esta radiación, debido a que la energía térmica a temperatura ambiente es de aproximadamente 25 meV ($\kappa_{\text{B}}T$), que en este caso implica ruido térmico ambiental, esta energía es comparable con la energía de un fotón de THz [23]; esto hace que los detectores basados en foto-exitación de portadores de cargas deban ser mantenidos a temperaturas criogénicas, lo que resulta ser muy costoso y poco estable [24]. Por otra parte ya existían algunas moléculas con transiciones adecuadas para terahertz [25, 26], sin embargo estas transiciones no logran emitir en todo el espectro de THz, sólo presentaban unas pocas líneas discretas de emisión en esa banda [27]. Fue sólo hasta la aparición de los láseres de pulsos ultracortos que se pudo tener acceso a toda la región de THz [28], cuando al hacer incidir un haz láser pulsado de femtosegundos en un semiconductor (como se detalla en el capítulo 2.1.1) se pudo generar y detectar esta radiación [29]. A partir de esa fecha se reportaron un significativo número de trabajos en los

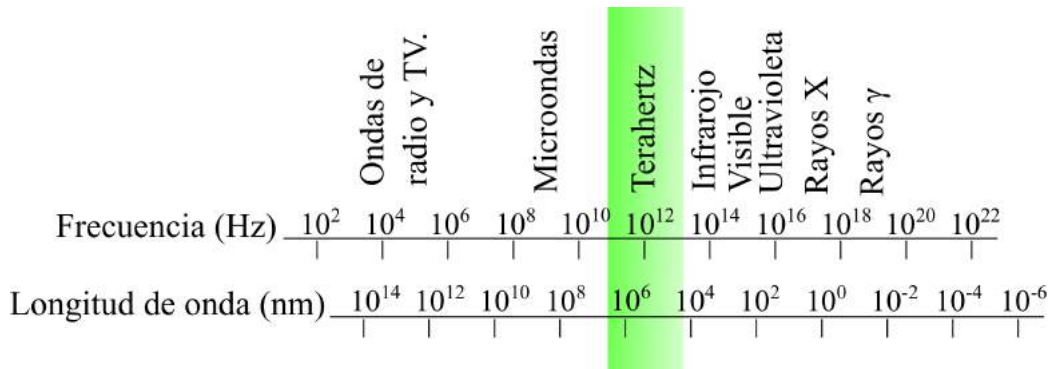


Figura 1.1: El espectro electromagnético en el que se muestra la banda de terahertz en función de la frecuencia y de la longitud de onda.

que se presentaron nuevas formas de generar THz mediante rectificación óptica usando cristales no lineales [30]. Los dispositivos para generar y detectar THz continúan evolucionando, y ahora existen algunos que emiten y detectan pulsos coherentes de esta radiación como los láseres de cascada cuántica [31] y las antenas fotoconductoras que se describe en detalle en el capítulo 2, y son precisamente estos dispositivos los que se usan en la espectroscopía en terahertz en el dominio del tiempo (THz-TDS).

1.1.1. Aplicaciones de la radiación de terahertz

Las principales aplicaciones de la radiación de terahertz se basan en la técnica de espectroscopía de terahertz en el dominio del tiempo que se describe en detalle en el capítulo 2. A la fecha el número de aplicaciones sigue aumentando y cada vez es más amplio su campo de acción. A continuación se listan algunas de las aplicaciones más destacadas de los THz.

- **Medicina:** Como la radiación de terahertz es no ionizante (la energía para ionizar un átomo es aproximadamente 1000 veces más grande que

la de un fotón de THz), y altamente sensible a pequeños cambios en la cantidad de agua en tejidos, es posible monitorear la dinámica de hidratación y hacer imágenes de tejidos de interés médico. Basados en la hipótesis de que los tejidos con alguna patología presentan una cantidad de agua diferente a la de un tejido sano, se han reportado trabajos en los que han detectado tumores [32,33], cancer de piel [34,35], enfermedad de la cornea [36] y quemaduras de piel [37] usando este tipo de radiación.

- **Seguridad:** Se ha demostrado que las imágenes espectroscópicas de THz se pueden obtener utilizando niveles bajos de esta radiación no ionizante. Estas imágenes se han usado para detectar objetos ocultos como armas en la ropa, en el equipaje, en materiales comunes no metálicos, en sobres, etc. Por otra parte algunas sustancias como explosivos y algunos agentes químicos y biológicos pueden ser detectados ya que presentan picos de absorción en esta región del espectro electromagnético [38,39]. Esto demuestra el potencial de la tecnología de terahertz en los controles de seguridad [40].
- **Biología:** La espectroscopía en terahertz es una técnica no invasiva que permite tener información de la cantidad de agua que hay en casi cualquier muestra biológica y además es el único método no destructivo que actualmente existe para el monitoreo de hidratación de plantas *in vivo* [12,41]. También se ha usado para identificar modos conformacionales de biomoléculas [42] entre muchas otras aplicaciones [17].
- **Estudio de sólidos, líquidos y biomoléculas:** La radiación de te-

rahertz excita modos colectivos de algunas moléculas incluyendo las de agua [43, 44], debido a esto se ha desarrollado todo un campo de investigación para determinar concentraciones de diferentes sustancias como glucosa, alcohol y petróleo [45–47].

- **Estudio de semiconductores:** Se sabe que los semiconductores juegan un papel muy importante en la tecnología moderna y haciendo uso de la radiación de terahertz es posible entender la dinámica de los portadores de carga en estos [48–51].

1.2. Descripción del trabajo

En este trabajo se presentan los resultados del estudio de la dinámica de hidratación de diferentes plantas de las variedades de frijol Pinto Saltillo y Bayo Madero de la especie *Phaseolus vulgaris L.*. Los resultados se obtuvieron haciendo uso de la técnica de espectroscopia en terahertz en el dominio del tiempo (THz-TDS) que se presenta en el capítulo 2. En ese mismo capítulo se discuten los detalles técnicos del sistema y su funcionamiento, las configuraciones de reflexión y transmisión y su método de procesamiento de datos. Como parte final del capítulo 2 se discute el modelo de medio efectivo empleado para modelar las muestras. En el capítulo 3 se describe en detalle el proceso de crecimiento, selección y adaptación de las plantas al laboratorio de terahertz, el arreglo experimental, el proceso de adquisición de datos y el modelo matemático usado para la extracción de los parámetros ópticos de interés de las plantas. En el capítulo 4 se presentan los arreglos experimentales para la obtención de imágenes de la superficie y el canto de los sustratos. En

el capítulo 5 se presentan y discuten los resultados obtenidos y por último, en el capítulo 6 se presentan las conclusiones y las perspectivas del trabajo.

Capítulo 2

Espectroscopía en terahertz en el dominio del tiempo (THz-TDS)

La espectroscopía en terahertz en el dominio del tiempo (THz-TDS) es por mucho la técnica más usada para hacer espectroscopia en terahertz. En este capítulo se presenta una descripción detallada de sus principios de funcionamiento y sus configuraciones más usadas.

2.1. Descripción del sistema THz-TDS

Los sistemas THz-TDS funcionan gracias al desarrollo de de láseres que emiten pulsos del orden de femtosegundos [52] como los láseres con medio activo de titanio zafiro o los más recientes, económicos, compactos y estables de fibra de erbio [53, 54]. En la imagen 2.1 se presenta el esquema de el sistema

THz-TDS usado en esta investigación. Este sistema el láser de Menlo Systems tiene dos salidas acopladas por fibra por donde salen los pulsos de femtosegundos generados en él. Una de las fibras de salida es acoplada directamente a la antena emisora y la otra fibra es conectada a la unidad de retardo óptico (ODU) cuya salida se conecta al detector. El pulso de femtosegundos que viaja a través de la primera fibra llega a la antena fotoconductiva del emisor y genera pares electrón-hueco que son acelerados para generar un pulso de terahertz como se detalla en el capítulo 2.1.1. Este pulso divergente de terahertz es colimado por un arreglo de una lente de silicio y una de polímero para después ser enfocado en la muestra por una segunda lente también de polímero con una distancia focal efectiva de aproximadamente 54 mm. Una vez que pasa a través la muestra es colimado nuevamente y enfocado en la antena fotoconductiva del detector por un arreglo de lentes igual al que lo enfocó en la muestra. El pulso de femtosegundos que se acopla a la segunda fibra óptica es guiado a la ODU, pasa por un amplificador “lock-in” y posteriormente es guiado hasta una antena fotoconductiva en la unidad de detección. Variando la diferencia de camino óptico entre los dos pulsos de femtosegundos es posible acoplar el pulso de THz y el de femtosegundos que llega al detector en diferentes tiempos a lo largo de la duración temporal del primero. Lo que resulta es un muestreo del campo eléctrico del pulso de THz que también se discute con detalle en el capítulo 2.1.1.

En este trabajo se utilizó un sistema de THz-TDS comercial acoplado por fibra óptica marca Menlo Systems GmbH® que usa un laser de erbio fibra que emite pulsos con duración de 90 fs centrados en 1550 nm, con potencia

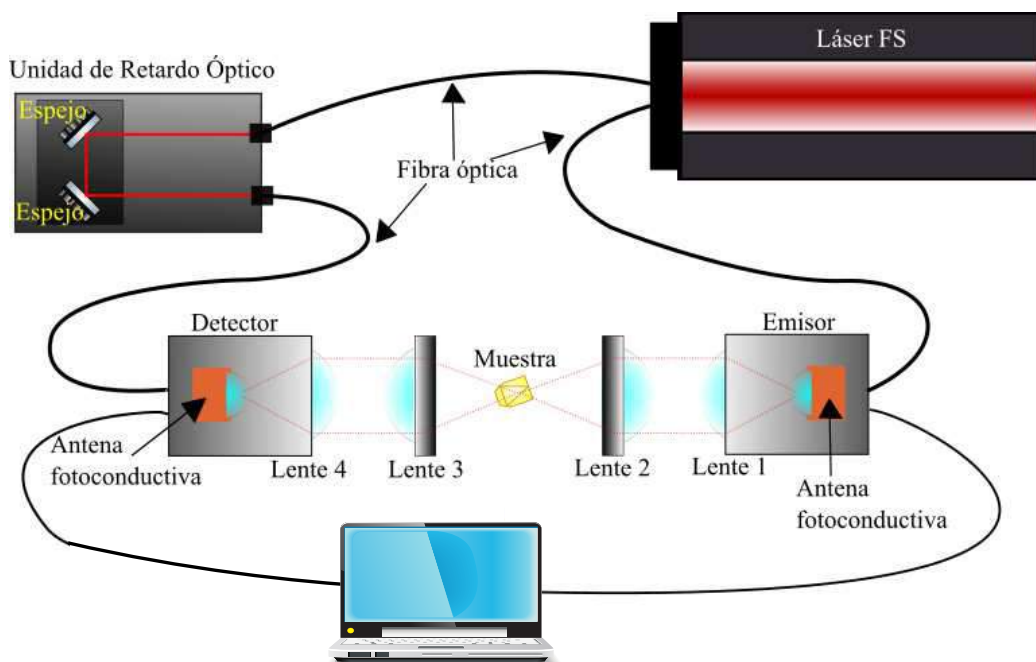


Figura 2.1: Arreglo para THz-TDS en configuración de transmisión. En la cavidad láser un haz pulsado de femtosegundos es dividido en dos y los haces resultantes viajan por fibras ópticas para que uno de ellos llegue al emisor e incida sobre una antena fotoconducativa para generar THz. El pulso de THz generado es colimado por la lente 1, y enfocado en la muestra por la lente 2, posteriormente es colimado por la lente 3 y enfocado en el detector por la lente 4. El otro haz se lleva a una unidad de retardo óptico donde se hace variar su camino óptico con respecto al haz que fue al emisor, para después llevarlo al detector y así acoplar en diferentes tiempos el pulso de femtosegundos con el de terahertz generado.

promedio de 120 mW a una tasa de repetición de 100 MHz y genera terahertz por antenas fotoconductoras de InGaAs.

2.1.1. Generación y detección por medio de antenas fotoconductoras

La generación de pulsos de THz en las antenas fotoconductoras ocurre cuando un pulso óptico con ancho temporal del orden de femtosegundos es enfocado entre dos electrodos metálicos depositados sobre un sustrato semiconductor [55]; el pulso de femtosegundos con longitud de onda cuya energía excede la del bandgap del semiconductor que generalmente es de arseniuro de galio crecido a bajas temperaturas (LT-GaAs) [52], genera pares electrón-hueco en él y por un momento lo vuelve conductor. Estos pares electrón-hueco son acelerados por una diferencia de potencial aplicada en los electrodos y posteriormente son recapturados dentro del semiconductor en una escala de tiempo de algunas decenas de nanosegundos o hasta algunas centenas de femtosegundos para regresar al equilibrio, lo que depende únicamente de las propiedades del semiconductor [56]. Ese transiente de cargas aceleradas genera un campo eléctrico E_{THz} que en el dominio de frecuencias tiene un espectro en la banda de terahertz [57]. De este modo se generan pulsos individuales de THz de un único ciclo como se muestra en la figura 2.2.

En el proceso de detección el pulso de femtosegundos que pasa por la unidad de retardo óptico crea pares electrón-hueco en la antena fotoconductoras del detector. Estos pares electrón-hueco en este caso no son acelerados por una diferencia de potencial, sino que son acelerados en un instante por

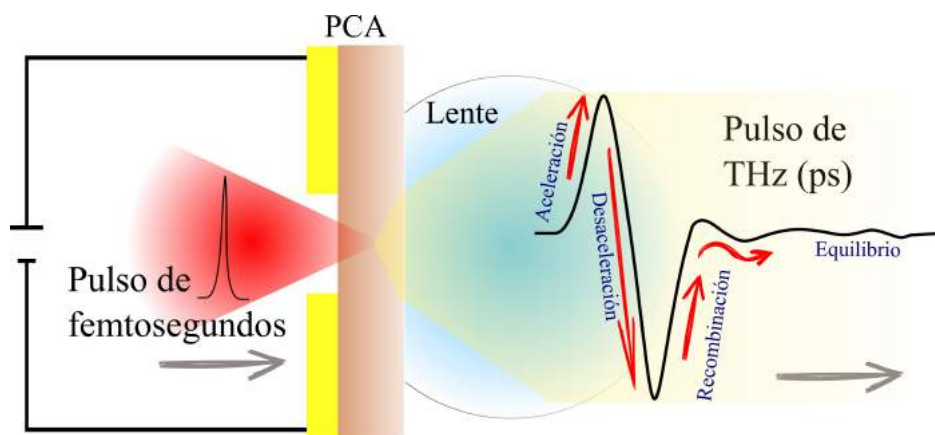


Figura 2.2: Antena fotoconduccionada (PCA) para generar radiación de terahertz. Cuando el pulso óptico incide en el semiconductor crea pares electrón-hueco. La diferencia de potencial aplicada a los electrodos acelera las cargas creando un transiente electromagnético que contiene frecuencias en la banda de THz. Un lente hiperhemisférico de silicio ubicado detrás de la antena colima la radiación de THz generada. A la derecha de la imagen se ve que la primera parte del pulso de THz se genera por la aceleración de los pares electrón-hueco, la segunda parte por la desaceleración y la tercera por el atrapamiento de los portadores de carga.

el campo eléctrico del pulso de terahertz, que también incide en la antena fotoconduccionada, para después ser recombinados en el semiconductor, esta aceleración se convierte en una corriente eléctrica entre los electrodos dada por

$$J(t) = \int_{-\infty}^{\infty} E_{\text{THz}}(t')\sigma(t-t')dt', \quad (2.1)$$

donde t es el retraso temporal relativo entre ambos pulsos y σ es la conductividad inducida por el pulso de femtosegundos que se describe en detalle en [58]. Esta corriente es amplificada y convertida en una señal de voltaje. La unidad de retardo óptico sirve para que los pulsos de femtosegundos (que son temporalmente aproximadamente cien veces más cortos que los de THz) lleguen a diferentes tiempos con respecto al pulso de terahertz para muestrearlo y reconstruirlo completamente.

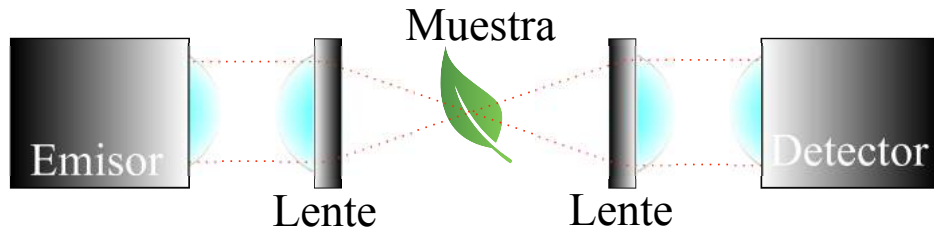


Figura 2.3: Sistema Thz-TDS en configuración de transmisión. El pulso de terahertz generado en el emisor es enfocado en la muestra por un arreglo de lentes de polietileno y posteriormente es guiado al detector por otro arreglo de lentes igual al primero.

2.2. Caracterización de materiales mediante THz-TDS en configuración de transmisión

En la figura 2.3 se presenta un THz-TDS en configuración de transmisión. La radiación que sale del emisor está colimada y se enfoca en la muestra con una lente que en general es de polímero con poca absorción. Posteriormente, esta radiación es nuevamente colimada por una lente idéntica a la primera y así es llevada al detector ubicado en frente del emisor, en el mismo eje.

THz-TDS proporciona un pulso de THz con información de la amplitud y la fase, por lo que es posible encontrar el índice de refracción complejo de diferentes materiales con esta técnica. Para esto se graba un primer pulso de referencia $E_{\text{ref}}(t)$ en ausencia de muestra y posteriormente se monta la muestra en el foco del sistema y se graba el campo eléctrico $E_{\text{mue}}(t)$ del pulso transmitido a través de ésta. En la figura 2.4 se muestra una medición de $E_{\text{ref}}(t)$ y $E_{\text{mue}}(t)$, donde se ve que el pulso que pasa a través una muestra de una roca de sustrato Turface presenta un retraso temporal, una amplitud diferente y un cambio general en su forma con respecto al pulso de referencia.

La explicación de estos cambios se discute en detalle en los resultados de este trabajo. Se aplica la transformada de Fourier a los campos $E_{\text{ref}}(t)$ y $E_{\text{mue}}(t)$ para obtener la amplitud y la fase espectral de ambos pulsos como función de la frecuencia, y también se muestran en la figura 2.4. Estos campos eléctricos en el espacio de frecuencias se pueden expresar como

$$\tilde{E}_{\text{ref}}(\omega) = \varepsilon_{\text{ref}} e^{i\phi_{\text{ref}}(\omega)} \quad (2.2)$$

$$\tilde{E}_{\text{mue}}(\omega) = \varepsilon_{\text{mue}} e^{i\phi_{\text{mue}}(\omega)}, \quad (2.3)$$

donde ε_{ref} y ε_{mue} son las amplitudes espectrales del pulso de referencia y de la muestra respectivamente, y $\phi_{\text{ref}}(\omega)$ y $\phi_{\text{mue}}(\omega)$ sus respectivas fases. La transmitancia compleja a través de una muestra se define como el cociente del campo eléctrico que pasa por la muestra entre el campo eléctrico de referencia, ambos en el dominio de las frecuencias. Así la transmitancia se expresa como

$$\tilde{T}(\omega) = \frac{\tilde{E}_{\text{mue}}(\omega)}{\tilde{E}_{\text{ref}}(\omega)} = \frac{\varepsilon_{\text{mue}}(\omega)}{\varepsilon_{\text{ref}}(\omega)} e^{i[\phi_{\text{mue}}(\omega) - \phi_{\text{ref}}(\omega)]}. \quad (2.4)$$

Las mediciones en transmisión de este trabajo se hicieron a incidencia normal, y en ese caso la teoría dice que la transmitancia se puede escribir como

$$\tilde{T}(\omega) = t_{12}(\omega)t_{21}(\omega)e^{i\frac{\omega d}{c}[-n(\omega)+i\kappa(\omega)-1]}\text{FP}(\omega), \quad (2.5)$$

donde $n(\omega)$ y $\kappa(\omega)$ son la parte real e imaginaria del índice de refracción complejo ($\tilde{n}(\omega)$) respectivamente, y que también se muestra en la figura 2.4, d es el espesor de la muestra, $\omega = 2\pi f$ es la frecuencia angular, c es la velocidad

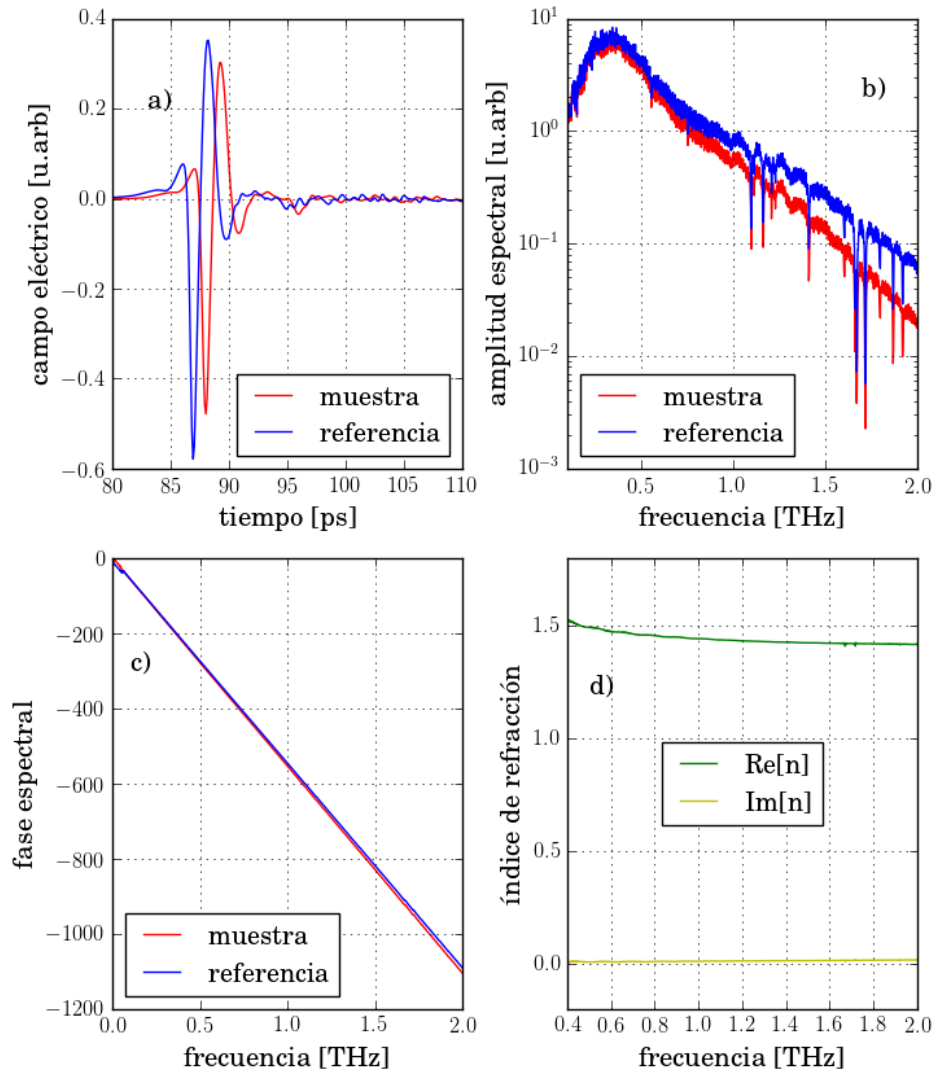


Figura 2.4: Representación esquemática de el método de extracción del índice de refracción complejo a partir de los datos de campo eléctrico en el dominio del tiempo. En la figura superior derecha se muestran el campo eléctrico de referencia (azul) y el de muestra (rojo), en la superior izquierda se muestran sus respectivas amplitudes espectrales, en la figura inferior izquierda se observan sus fases espectrales extrapoladas a cero y en la figura inferior derecha se puede ver la parte real del índice de refracción (verde) y la parte imaginaria o coeficiente de extinción (amarillo).

de la luz en el vacío, $t_{12}(\omega) = 2/(\tilde{n}(\omega) + 1)$ y $t_{21}(\omega) = 2\tilde{n}(\omega)/(\tilde{n}(\omega) + 1)$ son los coeficientes de Fresnel de transmisión, y finalmente $FP(\omega)$ es el termino de Fabry-Perot que surge como consecuencia de las múltiples reflexiones del pulso de THz dentro de la muestra y está dado por

$$FP(\omega) = \sum_{k=0}^{\infty} \left\{ -\frac{[\tilde{n}(\omega) - 1]^2}{[\tilde{n}(\omega) + 1]^2} e^{i\omega d[2\tilde{n}(\omega)]/c} \right\}^k, \quad (2.6)$$

que para una ventana temporal que sólo contenga el pulso principal, como se hizo en este trabajo, se aproxima a 1 y se puede obviar en las ecuaciones.

Para muestras con superficies rugosas se toma en cuenta la rugosidad de la superficie por medio de una corrección a la parte imaginaria del índice de refracción en la ecuación 2.5 agregando el siguiente término de esparcimiento [59]

$$\kappa_{\text{esp}}(\omega) = \frac{c}{\omega d} \left[(\sqrt{\epsilon} - 1) \frac{4\pi\tau \cos \theta}{\lambda} \right]^2, \quad (2.7)$$

donde ϵ es la permitividad relativa de la muestra, τ es la rugosidad de la superficie (desviación estándar del perfil de la muestra) que generalmente se mide con un perfilómetro y θ el ángulo de incidencia; entonces la ecuación 2.5 se convierte en

$$\tilde{T}(\omega) = t_{12}(\omega)t_{21}(\omega)e^{i\frac{\omega d}{c}[-n(\omega)+i\kappa(\omega)+i\kappa_{\text{esp}}(\omega)-1]}. \quad (2.8)$$

Combinando las ecuaciones 2.4 y 2.5 se tiene

$$n(\omega) = 1 + \frac{c[\phi_{\text{mue}}(\omega) - \phi_{\text{ref}}(\omega)]}{\omega d} \quad (2.9)$$

$$\kappa(\omega) = -\frac{c}{\omega d} \ln \left[\frac{1}{t_{12}(\omega)t_{21}(\omega)} \frac{\varepsilon_{\text{mue}}(\omega)}{\varepsilon_{\text{ref}}(\omega)} \right], \quad (2.10)$$

que es una aproximación válida para muestras delgadas. Como se ve en la ecuación 2.9, $n(\omega)$ es función de la fase, y esta fase también se define como

$$\phi_{\text{mue}}(\omega) - \phi_{\text{ref}}(\omega) = \tan^{-1} \left\{ \frac{\text{Im}[\tilde{T}(\omega)]}{\text{Re}[\tilde{T}(\omega)]} \right\}, \quad (2.11)$$

y como la función tangente es periódica se debe desenvolver la fase obtenida, para esto se deben sumar o restar múltiplos de la periodicidad de la función, en este caso de 2π en cada punto de la discontinuidad de la fase

$$\phi(\omega) = \angle \tilde{T}(\omega) \pm 2\pi N, \quad (2.12)$$

donde N es un entero y \angle denota ángulo. En la practica la fase resultante tiene mucho ruido a bajas frecuencias y esto genera discontinuidades, lo que genera que la fase, que debe ser una línea recta para un material no dispersivo, no extrapole a cero como predice la teoría [60]. Para solucionar ese problema se ajusta una función lineal de la forma $ax + b$ a la parte no ruidosa de la fase, y teniendo a b que es la intersección al eje vertical, se le resta este valor b a la fase para que ésta extrapole a cero.

2.3. Caracterización de materiales mediante THz-TDS en configuración de reflexión

En un THz-TDS configurado en reflexión como se muestra en la figura 2.5, el detector y el emisor forman un ángulo con respecto a la normal de la muestra. La función de transferencia, al igual que en la configuración de transmisión, se expresa como $\tilde{R}(\omega) = \tilde{E}_{\text{mue}}(\omega)/\tilde{E}_{\text{ref}}(\omega)$. El pulso de referencia puede ser obtenido poniendo en lugar de la muestra una superficie metálica uniforme, entonces el campo eléctrico de referencia se puede escribir como

$$\tilde{E}_{\text{ref}}(\omega) = \tilde{E}_{\text{in}}(\omega)r_{\text{met}}, \quad (2.13)$$

donde r_{met} es el coeficiente de fresnel asociado a la reflexión en la superficie, que para un metal se puede aproximar a 1, y \tilde{E}_{in} es el campo eléctrico que incide sobre el metal (el pulso que sale del emisor). Por otra parte el campo eléctrico que se refleja en la muestra se puede escribir como

$$\tilde{E}_{\text{mue}}(\omega) = \tilde{E}_{\text{in}}(\omega)r_{\text{mue}} \quad (2.14)$$

donde r_{mue} es el coeficiente de fresnel asociado a la reflexión en la superficie de la muestra. Reemplazando las ecuaciones 2.13 y 2.15 en la ecuación 2.4 obtenemos

$$\tilde{R}(\omega) = \frac{\tilde{E}_{\text{mue}}(\omega)}{\tilde{E}_{\text{ref}}(\omega)} = \frac{\tilde{E}_{\text{in}}(\omega)r_{\text{mue}}}{\tilde{E}_{\text{in}}(\omega)} = r_{\text{mue}}. \quad (2.15)$$

Los coeficientes de reflexión al igual que los de transmisión están determinados por el índice de refracción de los medios por los que se propaga la

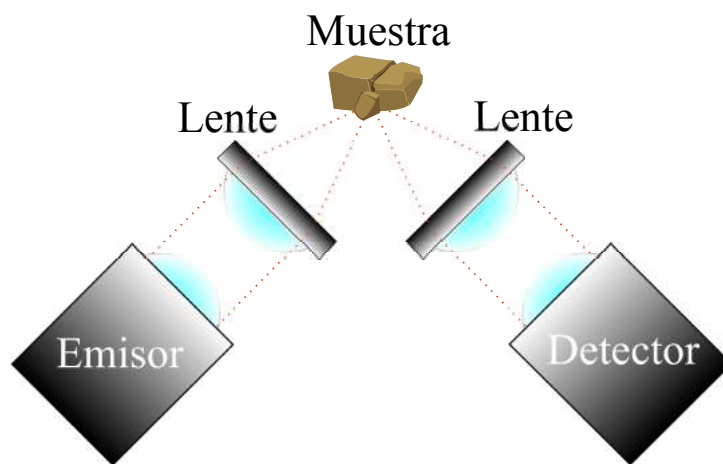


Figura 2.5: Sistema Thz-TDS en configuración de reflexión. El pulso de terahertz es generado en el emisor y enfocado en la muestra por un arreglo de lentes de polietileno. El pulso reflejado es guiado al detector por otro arreglo de lentes igual al que lo enfocó en la muestra.

radiación y por el ángulo con el que incide en ellos.

2.4. Teoría de medio efectivo

La teoría de medio efectivo esquematizada en la figura 2.6 resulta ser muy útil para encontrar la permitividad de una mezcla conformada por dos o más componentes siempre y cuando se conozca la permitividad de cada uno de estos y la fracción volumétrica que ocupan por separado [61]. Esta teoría tiene la restricción de que las inclusiones de los componentes en el medio deben ser lo suficientemente pequeñas para que el esparcimiento de la radiación sea despreciable [62]. En este trabajo se usó el modelo extendido de Landau-Lifshitz-Looyenga (LLL) [63], que supone valores pequeños para las diferencias entre las permitividades de los materiales que componen la mezcla comparados con el valor de la permitividad de ésta. El modelo relaciona la

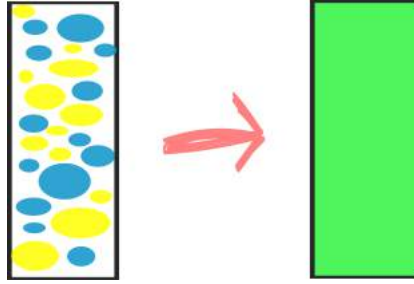


Figura 2.6: Representación esquemática de la teoría de medio efectivo. En la parte izquierda se observa un material que contiene diferentes componentes. El rectángulo de la derecha representa un medio con propiedades homogéneas equivalente al medio inhomogéneo de la parte izquierda.

función dieléctrica de la mezcla heterogénea con las funciones dieléctricas de sus componentes y no supone alguna forma específica para los componentes. La forma matemática del modelo está dada por

$$\sqrt[3]{\varepsilon} = \sum_j a_j \sqrt[3]{\varepsilon_j}, \quad (2.16)$$

donde j es el contador que indica cada uno de los componentes de la mezcla y ε_j y a_j son la permitividad compleja y la fracción volumétrica del j -ésimo compuesto.

Existen otros modelos de medio efectivo como el de Clausius-Mossotti, cuya deducción únicamente depende del concepto de campo eléctrico molecular, y su principal desventaja es que supone un campo uniforme para todas las moléculas; el modelo de Maxwell-Garnet que siendo una extensión del modelo de Clausius-Mossotti tiene la desventaja de que asume una forma esférica para las inclusiones de material dentro del medio receptor; y el modelo de Bruggeman que mejora al modelo de Clausius-Mossotti, debido a que toma en cuenta un campo eléctrico diferente que afecta a cada molécula

dentro del material pero que desafortunadamente también supone inclusiones esféricas dentro del material [64].

Capítulo 3

Estudio de la dinámica de deshidratación de plantas

En este capítulo se presenta la metodología usada para el estudio de la dinámica de deshidratación de dos variedades de frijol (Bayo Madero y Pinto Saltillo). Se describe cómo fue el crecimiento de las plantas, la obtención de la función dieléctrica de las hojas, la preparación del arreglo experimental, y el proceso de obtención de datos.

3.1. Crecimiento y preparación de las plantas

En este trabajo se utilizaron dos cultivares domésticos de plantas de frijol común (*Phaseolus vulgaris L.*): Pinto Saltillo (agronómicamente resistente a la sequía) y Bayo Madero (agronómicamente sensible), ambos cultivares de hábito de crecimiento indeterminado. Las semillas fueron desinfectadas en 70 % etanol por 2 minutos, 20 % cloro comercial por 3 minutos y se enjuaga-

ron de seis a siete veces con agua corriente, posteriormente se sembraron en semilleros (3 x 3 x 10 *cm*) en Metromix (3:1:1 Mezcla 3, Perlita y Vermiculita (Hummert), respectivamente y adicionado con 10 *g* / 5 *L* de fertilizante (osmocote)).

La germinación y el crecimiento de las plantas se realizó en condiciones de invernadero con temperatura de $27 \pm 3^\circ\text{C}$, humedad relativa de 40 a 70 %, fotoperiodo con luz natural y suministro constante de agua por la parte inferior de los semilleros en el Instituto de Biotecnología de la Universidad Autónoma de México (UNAM) del campus de Cuernavaca, Morelos, México en febrero del presente año. Cuando las plantas expanden por completo las primeras hojas embrionarias (ver figura 3.1), se transfirieron a macetas individuales de 9 *cm* de diámetro por 11 *cm* de alto con una composición de sustrato de 120 *g* de Turface Athletics (sustrato de secado rápido), y en la parte superior 40 *g* de una mezcla 4:3:3 metromix:vermiculita:perlita que tiene una mayor retención de agua que el Turface y se adiciona con 10 *g* de osmocote en la interfase. En promedio la mezcla de sustratos tiene una retención de entre 1.5 y 1.6 *g* H₂O / *g* sustrato. Las plantas se mantuvieron con suministro de agua constante por la parte inferior hasta su traslado.

Las plantas se dejaron adaptar al trasplante por 5 días y posteriormente doce de estas fueron transportadas a León, Guanajuato. Una vez allí se procedió a adaptarlas a las condiciones ambientales del laboratorio de terahertz durante una semana. El laboratorio se mantuvo a una temperatura promedio de $23 \pm 1^\circ\text{C}$ y una humedad promedio de $35 \pm 1\%$ y durante este

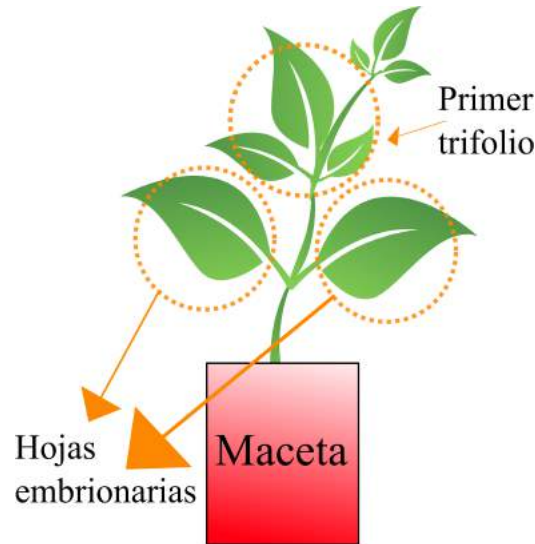


Figura 3.1: Esquema de una planta de frijol donde se muestra su primer trifolio (las primeras tres hojas que se encuentran juntas), y sus dos hojas embrionarias.

tiempo las plantas se mantuvieron bien hidratadas y con sus respectivos ciclos de iluminación de $16h$ luz - $8h$ oscuridad a una irradiancia aproximada de 21.88 Wm^{-2} ($92 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-2}$).

3.2. Determinación de la función dieléctrica de las hojas de frijol

Los parámetros ópticos relacionados con la función dieléctrica de un material brindan información de cómo la radiación electromagnética interactúa con él, y a su vez la función dieléctrica de cualquier material está directamente relacionada con la cantidad de agua contenida en éste. Por esta razón se determinó la función dieléctrica de las hojas de las plantas de frijol como función de la frecuencia en el rango de THz.

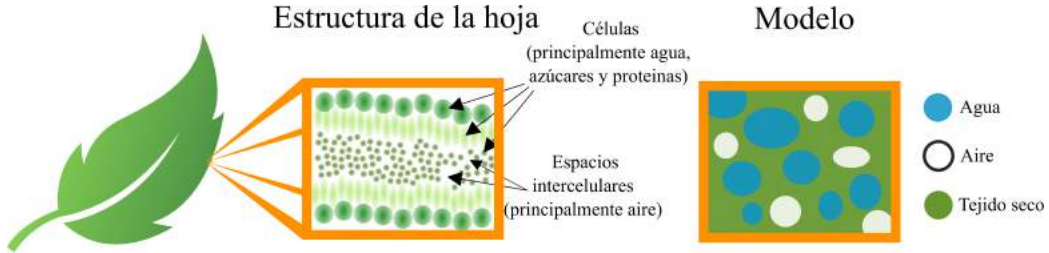


Figura 3.2: Sección transversal de la estructura de una hoja. Se muestra cómo la hoja se compone de células y cavidades de aire entre ellas. Las células están compuestas principalmente por agua, proteínas y azúcares. Suponiendo que la hoja se puede modelar como una mezcla de agua y tejido seco con aire, es posible encontrar la función dieléctrica de la hoja usando un modelo de medio efectivo.

Como se describió en el capítulo 2.4, la teoría de medio efectivo LLL permite calcular la función dieléctrica de una mezcla conociendo las funciones dieléctricas y las fracciones volumétricas de cada uno de los compuestos por separado. En este caso nos interesa conocer la función dieléctrica de las hojas de frijol que se compone generalmente de una mezcla heterogénea de agua, aire y tejido orgánico; y este último a su vez se compone principalmente de proteínas, azúcares y otros compuestos [65]. Para fines prácticos se supone que la fracción volumétrica relativa del tejido orgánico y el aire contenidos en la hoja no cambian con el tiempo, entonces la estructura de una hoja se puede modelar como una mezcla de agua y tejido orgánico seco, como se ilustra en la figura 3.2.

Usando la ecuación 2.16, se tiene que la función dieléctrica para una hoja se puede escribir como:

$$\sqrt[3]{\varepsilon_H(f)} = a_A \sqrt[3]{\varepsilon_A(f)} + a_S \sqrt[3]{\varepsilon_S(f)}, \quad (3.1)$$

donde ε_A y ε_S son las funciones dieléctricas del agua y del tejido seco (mezcla de aire y tejido orgánico) respectivamente; a_A , y a_S las respectivas fracciones volumétricas contenidas en la mezcla. La función dieléctrica del agua fue obtenida del modelo doble de Debye [9], y para obtener la función dieléctrica del tejido seco se recolectaron cinco hojas de las plantas de frijol y se dejaron secar prensadas con papel filtro durante 15 días (tiempo suficiente para una deshidratación total). Posteriormente se ubicaron las hojas, una por una, en el foco del sistema de terahertz para realizar mediciones en configuración de transmisión. Para cada una de las hojas se grabó el campo eléctrico del pulso que pasaba a través de ellas además de un pulso de referencia (sin muestra en el camino óptico) que se pueden ver en la figura 3.3. En esta figura se puede ver cómo los pulsos que pasan a través de las hojas secas presentan un retraso temporal con respecto al pulso de referencia, dicho retraso se debe a que el índice de refracción de la hoja seca, que es mayor que el del aire, produce un aumento en el camino óptico del pulso agregando fase a éste. Los pequeños retrasos temporales entre los pulsos que pasaron a través de las hojas, se deben a los diferentes espesores de las hojas medidas (ver tabla 3.1), estos cambios en los espesores de una hoja a otra inducen también un cambio en el camino óptico, y entre más gruesa sea la hoja mayor es el retraso temporal en el pulso que pase a través de ella. La disminución en la amplitud de los pulsos que pasan a través de las hojas deshidratadas con respecto al pulso de referencia está relacionada con la absorción de las hojas, propiedad óptica que está directamente relacionado con el esparcimiento que presentan las superficies de las hojas.

Muestra	Espesor [μm]
Hoja seca 1	114 ± 1
Hoja seca 2	123 ± 1
Hoja seca 3	143 ± 1
Hoja seca 4	118 ± 1
Hoja seca 5	109 ± 1

Cuadro 3.1: Espesor de cada una de las hojas deshidratadas.

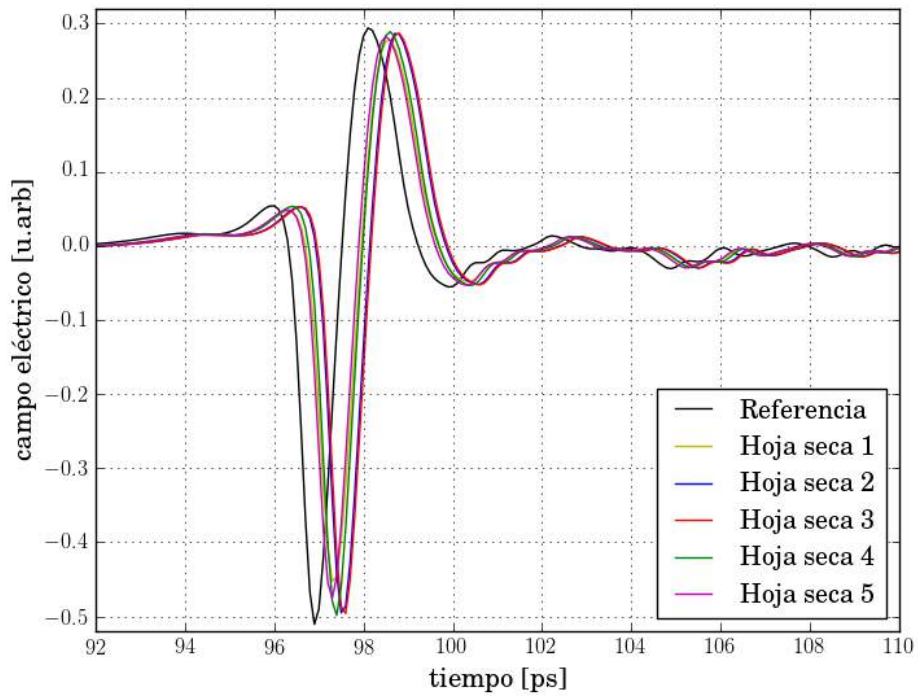


Figura 3.3: Campos eléctricos de los pulsos que pasaron a través de las muestras y el pulso de referencia en función de la frecuencia dada en terahertz.

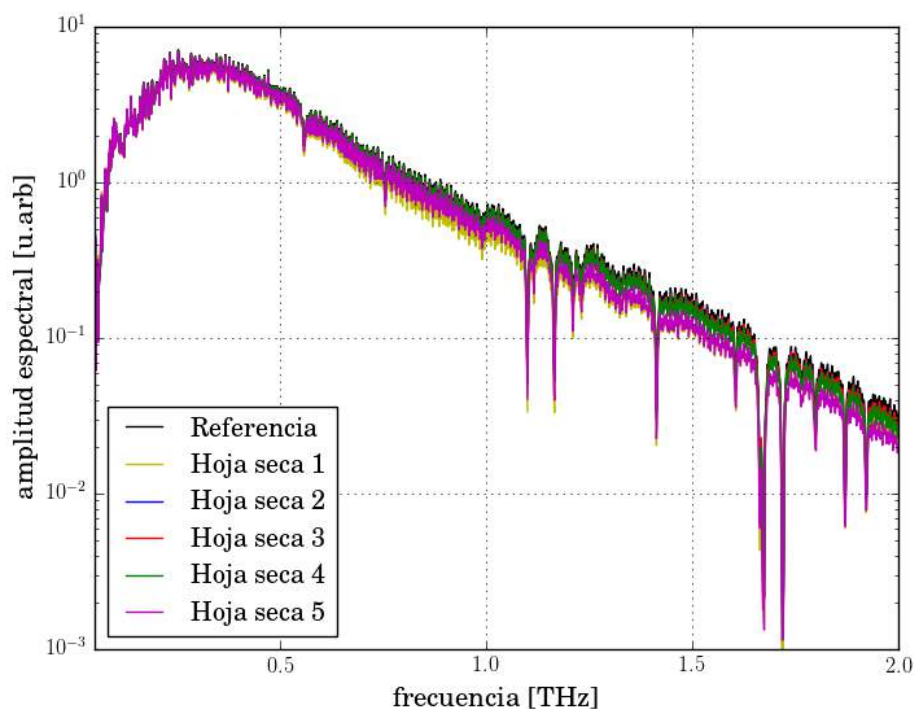


Figura 3.4: Amplitudes espectrales de los pulsos obtenidos de las muestras de hoja seca y del pulso de referencia.

Al aplicar la transformada de Fourier a los pulsos anteriores se obtienen sus amplitudes y fases espectrales. En la figura 3.4 se muestran dichas amplitudes y se puede observar que el espectro de las 5 muestras presentan los mismos picos que el espectro del pulso de referencia, lo que sugiere que los componentes de las hojas secas no presentan picos representativos de absorción en la región de terahertz en la que fueron medidos. Los picos que se observan en estos espectros son bien conocidos en la literatura y se deben al vapor de agua que hay en la atmósfera [43, 66].

Estos campos eléctricos, en el dominio de la frecuencia, para cada hoja

seca se introdujeron en la ecuación 2.4 y se obtuvo la transmitancia de cada una de ellas, posteriormente se introdujo la transmitancia y el espesor de cada una de las hojas en las ecuaciones 2.9 y 2.10 y se calculó el índice de refracción complejo promedio que se presenta en la figura 3.5. En esta figura se puede observar que tanto la parte real, como la parte imaginaria o coeficiente de extinción no presentan variaciones significativas con la frecuencia en el rango de 0.3 a 1 THz. También se observa que las hojas secas presentan un muy bajo coeficiente de extinción a bajas frecuencias (de 0.2 a 0.5 THz), lo que indica que las hojas secas presentan una muy baja absorción en esta región de THz. Se calcularon la parte real e imaginaria de la función dieléctrica promedio de las hojas secas y se le ajustaron dos polinomios de segundo grado como se muestra en la figura 3.6, con el fin de obtener una expresión analítica de la función dieléctrica válida desde 0.3 a 0.8 THz.

Cuando se introdujo el polinomio que reproduce la función dieléctrica promedio de las hojas secas y la función dieléctrica del agua calculada a partir del modelo de Debye en la ecuación del modelo de medio efectivo LLL (ecuación 3.1) se pudo encontrar la función dieléctrica efectiva de las hojas de frijol para diferentes porcentajes de agua. En la figura 3.7 se muestra esta permitividad efectiva para porcentajes de agua desde el 0% hasta el 100% con incrementos de 10%. Se puede observar que cuando se tiene 0% de agua, la parte real e imaginaria de la permitividad reproducen la permitividad de la hoja seca mostrada en la figura 3.6, mientras que cuando la muestra es 100% agua la permitividad reproduce las curvas del modelo doble de Debye [9], que son precisamente las curvas de la función dieléctrica del agua.

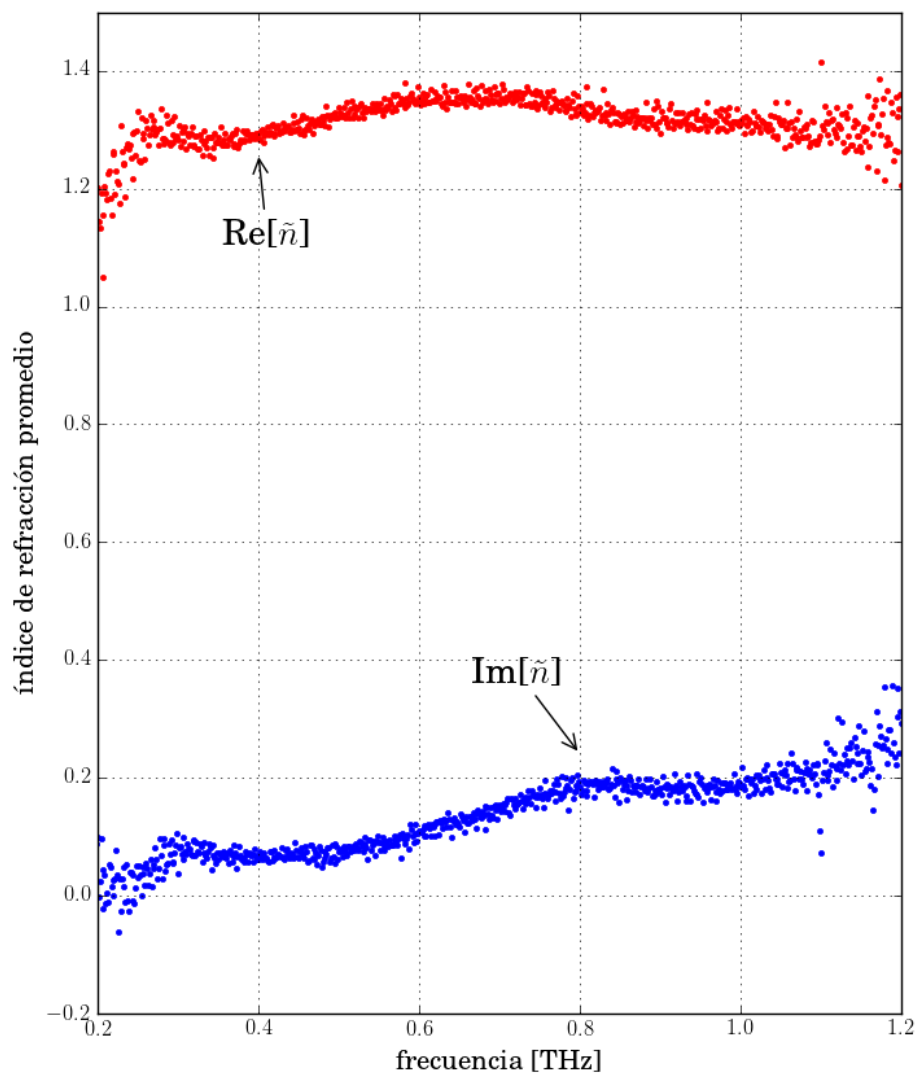


Figura 3.5: Índice de refracción complejo promedio de las hojas secas de frijol. La línea roja representa parte real, mientras que la línea azul representa la parte imaginaria o coeficiente de extinción.

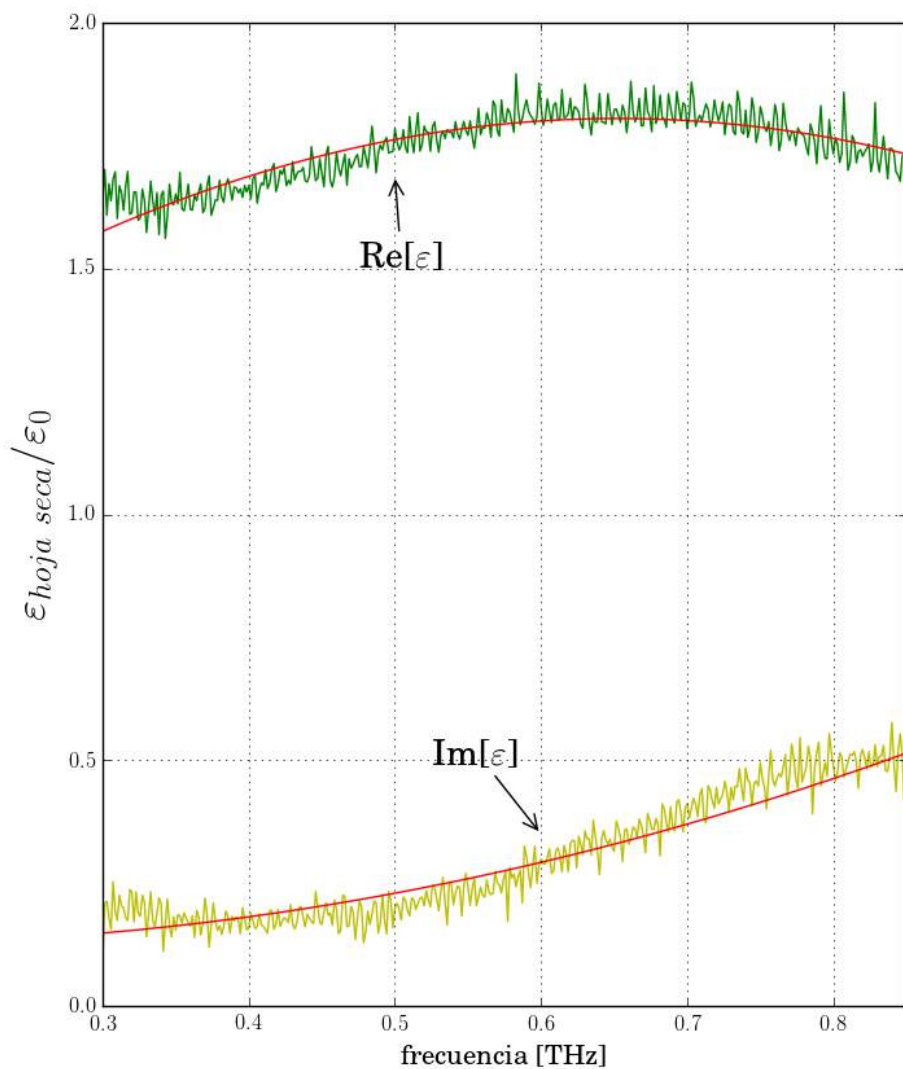


Figura 3.6: Permitividad compleja de las hojas secas de frijol. La línea verde representa la parte real mientras que la línea amarilla representa la parte imaginaria, ambos obtenidos experimentalmente. A estos datos se les ajustaron polinomios de segundo grado con el fin de obtener una expresión analítica de la permitividad compleja a cualquier frecuencia dentro del rango de 0.3 hasta 0.8 THz.

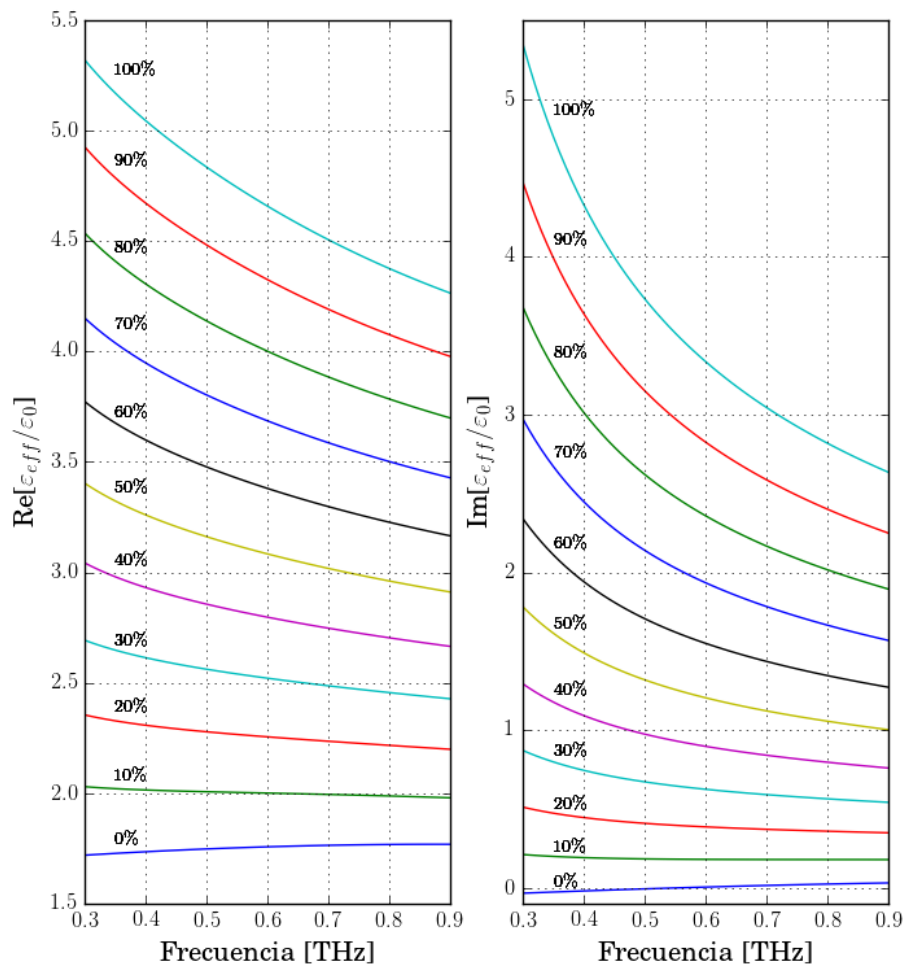


Figura 3.7: Permitividad compleja de las hojas de frijol. En la figura de la izquierda se muestra la parte real y el la figura de la derecha la parte imaginaria de la permitividad para diferentes porcentajes de agua (desde 0 % hasta 100 % con incrementos del 10 %).

3.3. Arreglo experimental para las mediciones en plantas

Para realizar las mediciones en plantas se diseñó y se fabricó un arreglo experimental como el que se muestra en la figura 3.8. Sobre una plataforma traslacional se montó una base de aluminio a la cual se fijaron vástagos a los que se les colocaron pinzas en uno de sus extremos. La base sirve para poner las plantas y trasladarlas en un sólo eje y las pinzas de los vástagos sirven para sujetar las hojas a medir. El sistema de emisión y detección de terahertz en configuración de transmisión se sujetó a un puente de hierro para que el foco del sistema coincidiera con las ranuras de las pinzas que sujetan las hojas. Con esta configuración las hojas de las plantas a medir pasan justo por el foco del sistema de terahertz. Para esto se desarrollo un programa computacional que controla la plataforma para que periódicamente ubique las hojas de las plantas en el foco del sistema y adquiera la señal de terahertz que pasa a través de éstas.

3.4. Obtención de la cantidad de agua en las hojas de las plantas

Con el modelo teórico de medio efectivo discutido en el capítulo 2.4 para describir la función dieléctrica en frecuencias de terahertz de las hojas de plantas de frijol con cualquier porcentaje de agua se obtuvo el índice de refracción complejo, que a su vez contiene el índice de refracción y el coeficiente de extinción, esta vez para para cualquier porcentaje de agua en ellas.

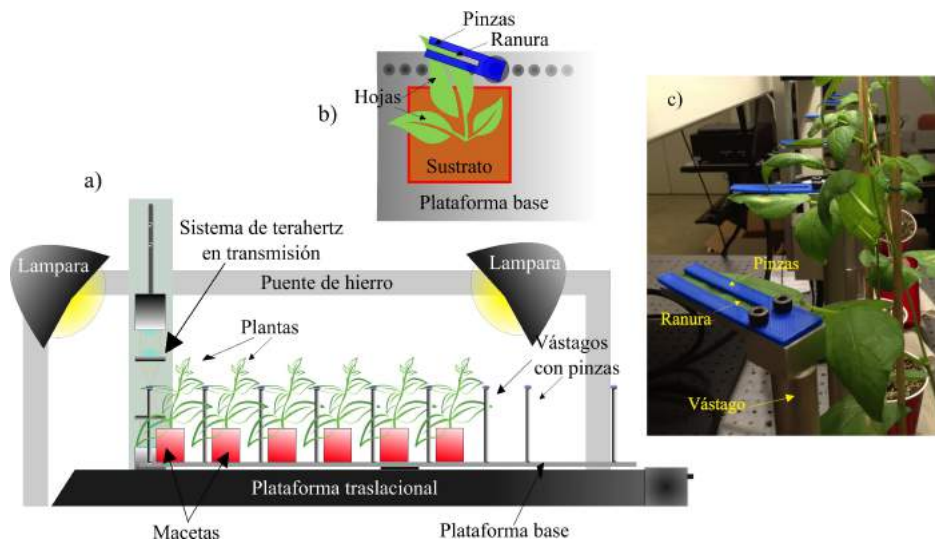


Figura 3.8: a) Arreglo experimental para estudiar la dinámica de hidratación *in-vivo* de diferentes plantas de manera simultánea. La plataforma traslacional mueve las plantas hasta el sistema de terahertz en configuración de transmisión (sujeto a un puente de hierro) donde es medida la cantidad de agua. En el sistema también se observan dos lámparas que simulan ciclos de día y noche. b) Vista superior del sistema de fijación de las hojas. Las hojas son sujetadas por pinzas que contienen ranuras por donde pasará la radiación de terahertz. c) Foto del sistema con que se sujetan las hojas de las plantas.

Usando la ecuación 2.5

$$\tilde{T}(\omega) = t_{12}(\omega)t_{21}(\omega)e^{i\frac{\omega d}{c}[-n(\omega)+i\kappa(\omega)+i\kappa_{\text{esp}}(\omega)-1]},$$

se obtuvieron los valores de la función de transferencia teóricos como función de la frecuencia y de la cantidad de agua como se observa en la figura 3.9. Para una hoja seca la función de transferencia tiene valores cercanos a uno y este valor disminuye a medida que la cantidad de agua aumenta, como era de esperarse. Ahora bien, con la ecuación 2.4

$$\tilde{T}(\omega) = \frac{\tilde{E}_{\text{mue}}(\omega)}{\tilde{E}_{\text{ref}}(\omega)} = \frac{\varepsilon_{\text{mue}}(\omega)}{\varepsilon_{\text{ref}}(\omega)}e^{i[\phi_{\text{mue}}(\omega)-\phi_{\text{ref}}(\omega)]},$$

Es posible obtener la función de transferencia experimental a partir de el cociente entre el campo eléctrico que pasa a través de la muestra y el campo eléctrico de referencia, ambos en el dominio de la frecuencia. Así, para encontrar la cantidad de agua presente en una hoja se calculó su función de transferencia experimental y a esa función se le ajustó, por mínimos cuadrados, una función de transferencia teórica, dejando como parámetro de ajuste la fracción volumétrica de agua. Un ejemplo es la curva experimental que se muestra también en la figura 3.9 que resulta ajustarse a la transmitancia correspondiente a 71 % de agua.

3.5. Mediciones periódicas en plantas

Después de 13 días de adaptación en el laboratorio de terahertz, 32 días después e haber sido sembradas, se iniciaron las mediciones con cuatro plan-

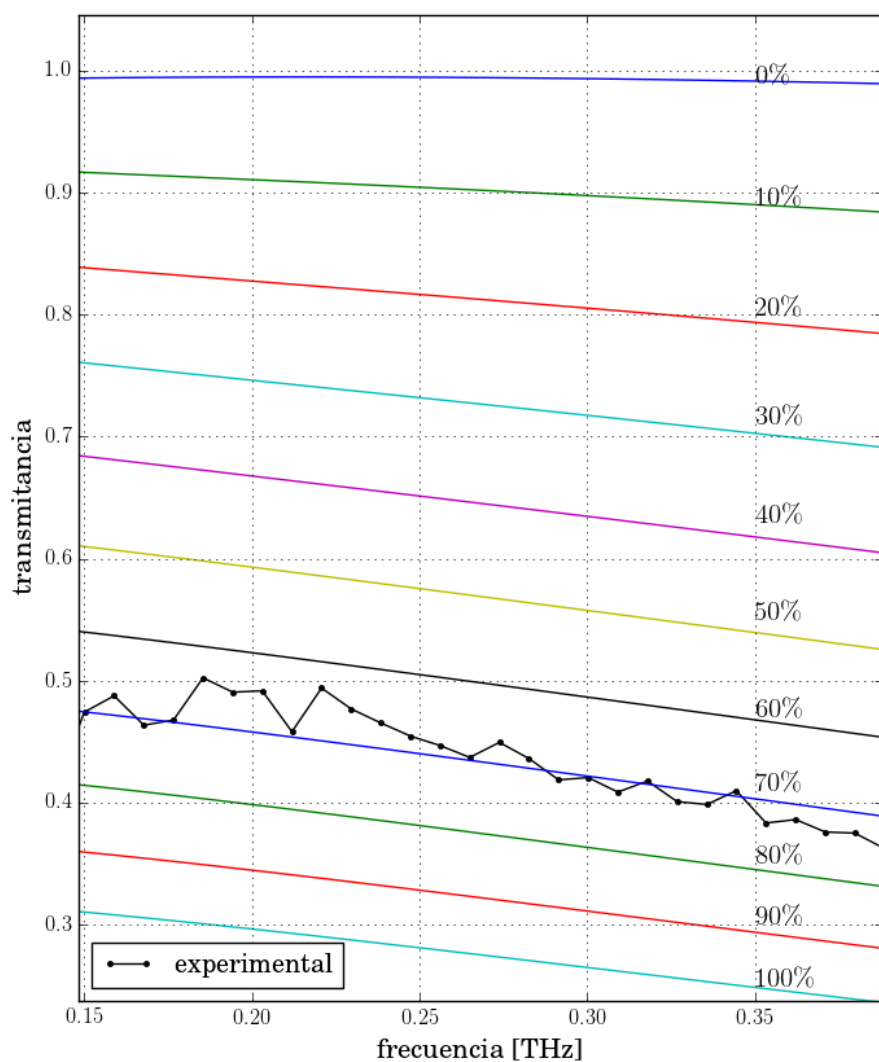


Figura 3.9: Función de transferencia teórica en función de la frecuencia y de la cantidad de agua para una hoja frijol. La línea negra es la función de transferencia experimental de una de las hojas medidas en este trabajo.

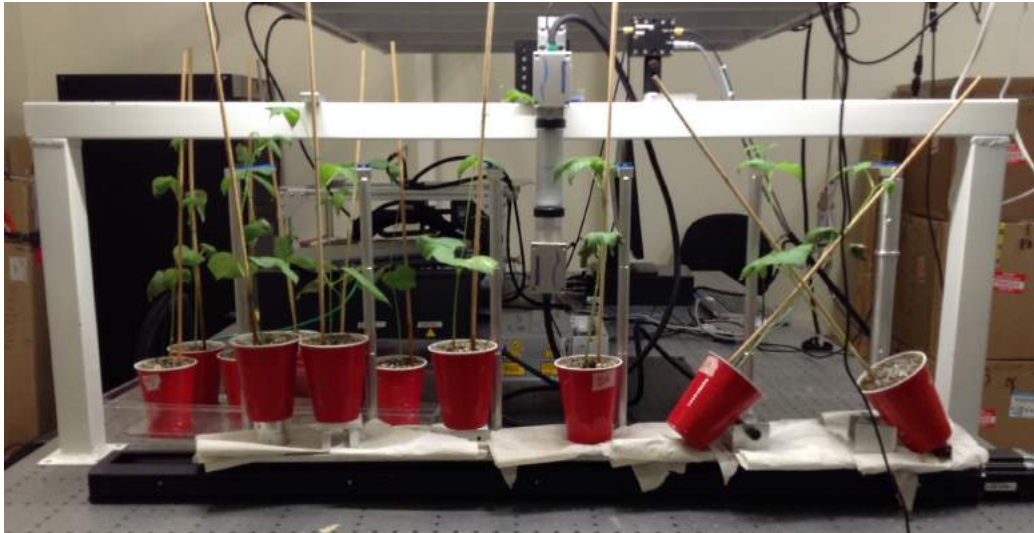


Figura 3.10: Arreglo experimental para las mediciones periódicas de la cantidad de agua en las hojas de plantas de frijol. Las plantas están montadas sobre una plataforma traslacional que sitúa una hoja de cada planta en el foco del sistema de terahertz configurado en transmisión.

tas que soportaron las condiciones ambientales. Justo antes de empezar las mediciones, los sustratos fueron regados una última vez para que alcanzaran una capacidad de 100% agua y en ese momento se suspendió el suministro de agua para empezar el sometimiento a estrés por sequía. Lo siguiente fue ubicar las plantas en la plataforma traslacional y sujetar con las pinzas de los vástagos la hoja central del primer trifolio de cada una de ellas (ver figura 3.10). El sistema se programó para obtener pulsos de terahertz que pasaran a través de cada una de las hojas seleccionadas cada diez minutos mientras se continuaba con los ciclos de iluminación de 16h luz - 8h oscuridad. Las mediciones periódicas fueron continuas hasta que las plantas ya no presentaran cambios en la respuesta a los terahertz.

Capítulo 4

Estudio de la dinámica de deshidratación de sustratos

En este capítulo se presenta la metodología usada para el estudio de la dinámica de deshidratación del sustrato Turface (sustrato de secado rápido), esto se hizo haciendo imagen de la superficie y del canto (corte transversal) del sustrato contenido en una charola de polietileno; la metodología para encontrar la función dieléctrica del sustrato; los arreglos experimentales para la obtención de imágenes de la superficie y del canto; y el proceso de obtención de las imágenes.

4.1. Determinación de la función dieléctrica del sustrato Turface

Se seleccionaron siete de las rocas más grandes del sustrato Turface Athletics (ver figura 4.1) y con papel lija se aplanaron dos caras de cada una hasta



Figura 4.1: Sustrato Turface. En la parte inferior se pueden ver 8 rocas individuales del sustrato luego de que se aplanaran dos de sus caras hasta que quedaran paralelas.

que quedaran paralelas y se llevaron a un horno a 90°C durante 12 horas para eliminar por completo los residuos de agua en ellas. Una vez libres de agua se hicieron mediciones con el sistema de THz en configuración de transmisión a cada una de las rocas. Al igual que con las hojas en el capítulo 3.2, para cada una se grabó el campo eléctrico del pulso de THz que la atraviesa y se grabó también un pulso de referencia (sin muestra en el camino óptico). Uno de los pulsos obtenidos de una de las muestras y el pulso de referencia se muestran en la figura 4.2 a). En la figura se observa el retraso temporal, la disminución en amplitud y el cambio de forma del pulso que pasa a través de la roca con respecto al pulso de referencia. Estos cambios son producidos por los mismos factores que se explicaron en el capítulo 3.4.

En la figura 4.2 b) se muestra también el espectro de los pulsos y se puede observar que al igual que las hojas de frijol, el sustrato Turface tampoco presenta picos de absorción en la banda de terahertz. Al obtener el índice de refracción complejo (figura 4.2 c)) se puede ver que el sustrato presenta un muy bajo coeficiente de extinción. Esto abre la posibilidad de usar este tipo de sustrato para crecer plantas en él y hacer tomografía de las raíces de las plantas usando radiación de terahertz. Las personas que trabajan en ciencia de las plantas no tienen un método que permita hacer algo similar, y sería

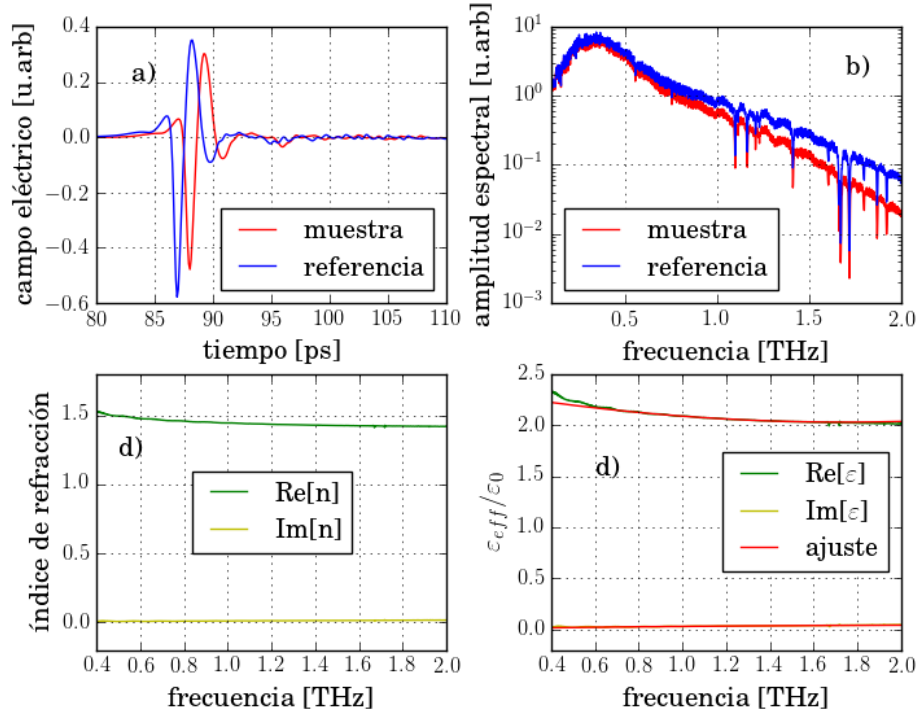


Figura 4.2: En la imagen a) se muestra el campo eléctrico de un pulso de terahertz que pasa a través de una muestra de sustrato y uno que sólo pasa por el aire. En la figura b) se puede observar el espectro de estos pulsos y en las figuras c) y d) se muestran en índice de refracción y la función dieléctrica del sustrato Turface respectivamente.

de gran relevancia científica poder obtener imágenes tridimensionales *in vivo* de las raíces de las plantas.

Los campos eléctricos en función de la frecuencia de todas las rocas se introdujeron en la ecuación 2.4 para obtener la transmitancia y posteriormente se introdujeron esta transmitancia y el espesor de cada una de las muestras en las ecuaciones 2.9 y 2.10 para obtener la función dieléctrica de cada una de ellas y al final obtener la función dieléctrica promedio de dicho sustrato. En la figura 4.2 d) se muestra la función dieléctrica del sustrato con el cual

se pueden extraer muchas propiedades ópticas de este.

4.2. Arreglo experimental para las mediciones en sustratos

Para las mediciones en el sustrato se diseñaron y fabricaron dos arreglos experimentales, uno para hacer imagen de la superficie del sustrato, que comúnmente se deposita en una charola con dimensiones específicas, y otro para hacer imagen transversal del mismo. El primer arreglo experimental se puede ver en la figura 4.3, donde se usó una plataforma traslacional en la que se montaría la charola con el sustrato. El sistema de terahertz se configuró en reflexión y se montó sobre otra plataforma traslacional que a su vez se ubicó en el mismo puente de hierro usado en las mediciones de las plantas para así lograr que el foco del sistema quedara en la superficie del sustrato. El eje de traslación de la plataforma del sustrato es perpendicular al eje de traslación del sistema de terahertz para hacer escaneos de la superficie del sustrato.

El último arreglo experimental se diseñó y fabricó para hacer imagen del canto del sustrato (corte transversal) y se puede ver en la figura 4.4. En esta oportunidad se construyó una charola de polietileno (polímero con muy poca absorción en frecuencias de terahertz) la cual se montó sobre una plataforma traslacional con eje de traslación paralelo a la mesa óptica. El sistema de terahertz se configuró en reflexión y se montó sobre una plataforma traslacional con eje de traslación perpendicular a la mesa óptica. El sistema de terahertz se enfocó en la superficie que separa el polietileno del sustrato

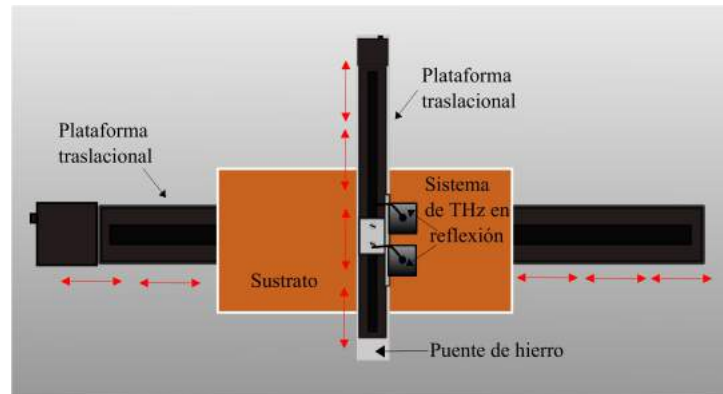


Figura 4.3: Arreglo experimental para la obtención de imágenes de la superficie del sustrato Turface Athletics. El Turface puesto en una charola es montado sobre una plataforma traslacional que se mueve en un sólo eje. El sistema de terahertz está montado sobre una plataforma traslacional con eje de traslación perpendicular al de la plataforma de la charola, éste a su vez está montado sobre un puente de hierro que permite que el plano focal del sistema configurado en reflexión quede en la superficie del sustrato.

y así, con las dos plataformas fué posible hacer imágenes transversales del sustrato. En estos dos arreglos experimentales también se usó el programa computacional que controla las plataformas y captura las señales de terahertz para hacer imágenes periódicas de las muestras.

4.3. Mediciones e imágenes del sustrato

Una vez listo el arreglo experimental para hacer imágenes de la superficie del sustrato se depositó el sustrato en la charola de polietileno (que es transparente a frecuencias de terahertz) y se sumergió en agua durante 5 minutos para que alcanzara una capacidad de 100% de agua y así empezar las mediciones. Se ubicó la charola con el sustrato mojado y se hicieron imágenes del sustrato cada 6 horas aproximadamente hasta que el sustrato ya no presen-

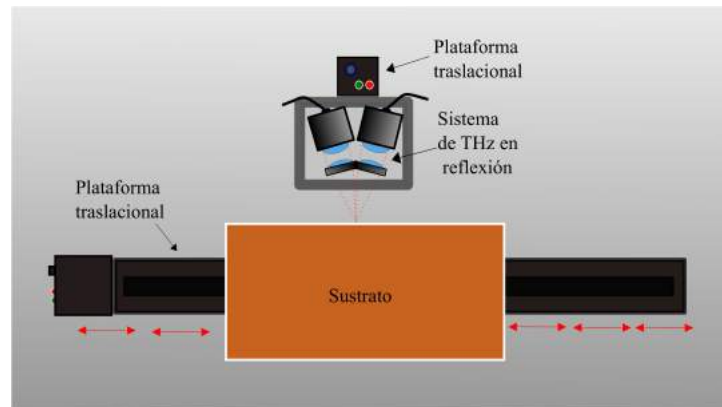


Figura 4.4: Arreglo experimental para la obtención de imágenes del canto del sustrato Turface Athletics. El Turface puesto en una charola de polietileno es montado sobre una plataforma traslacional que se mueve en un sólo eje. El sistema de terahertz está montado sobre una plataforma traslacional con eje de traslación perpendicular al de la plataforma de la charola y a la mesa óptica, para que el plano focal del sistema configurado en reflexión quede en el canto del sustrato.

tara un cambio en la respuesta a los terahertz. Este procedimiento se repitió para la toma de imágenes del corte transversal del sustrato.

Capítulo 5

Resultados y Discusión

5.1. Evolución temporal de la cantidad de agua en las plantas de frijol

En la figura 5.1 se presenta la evolución temporal de la fracción volumétrica de agua en las hojas de sólo dos de las plantas medidas, una de la variedad Pinto Saltillo (línea color magenta) y una de la variedad Bayo Madero (línea color cyan), las cuales presentaron resultados que consideramos relevantes para esta investigación. En la figura se puede observar que ambas variedades presentan un comportamiento similar en cuanto a la dinámica de hidratación de sus hojas que se puede contemplar en tres etapas. En la primera etapa se presentan pequeñas oscilaciones en la cantidad de agua contenida en las hojas con periodos de 24 horas. Estas oscilaciones se deben a que los estomas (grupos de dos o más células epidérmicas especializadas cuya función es regular el intercambio gaseoso y la transpiración) presentes en las hojas se

abren durante el día para intercambiar gases, que incluyen vapor de agua, con la atmósfera y se cierran en las noches. En la Pinto Saltillo estas oscilaciones tienen una mayor amplitud que en la Bayo Madero, siendo la primera agrónomicamente más resistente que la segunda. Este importante resultado observado sugiere que esta variedad, presenta una mayor conductancia de agua hacia la atmósfera que la Bayo Madero.

En la segunda etapa se presenta un decaimiento exponencial en fracción volumétrica de agua en las hojas. En la Pinto Saltillo esto ocurre aproximadamente después de las 280 horas (día 12) de la suspensión del suministro de agua mientras que en la Bayo Madero ocurre aproximadamente después de las 424 horas (día dieciocho), lo que evidencia que la primera deshidrata sus hojas más rápido que la segunda. Este importante resultado sugiere entonces que uno de los mecanismos de defensa de las plantas de frijol es precisamente evitar la pérdida de agua a través de las hojas (que son el principal mecanismo de pérdida del líquido), suspendiendo el flujo hacia estas por lo que la hoja termina secándose, lo que nos hace suponer que la planta conserva por más tiempo el agua en las raíces y el tallo. En esta segunda etapa también se puede observar que en los primeros 5 días desde que empieza a decaer exponencialmente la cantidad de agua en las hojas, ellas siguen teniendo una respuesta a la luz. Esto sugiere que si las plantas son hidratadas antes de ese momento, probablemente podrían recuperar sus hojas semideshidratadas. Después de esos 5 días las hojas ya no presentan respuesta a los ciclos de luz, lo que sugiere que la planta ya no está teniendo pérdidas de agua por ese medio. Cabe destacar que la Pinto Saltillo se deshizo por completo de las hojas 5 días antes que la Bayo Madero por lo que la Bayo Madero

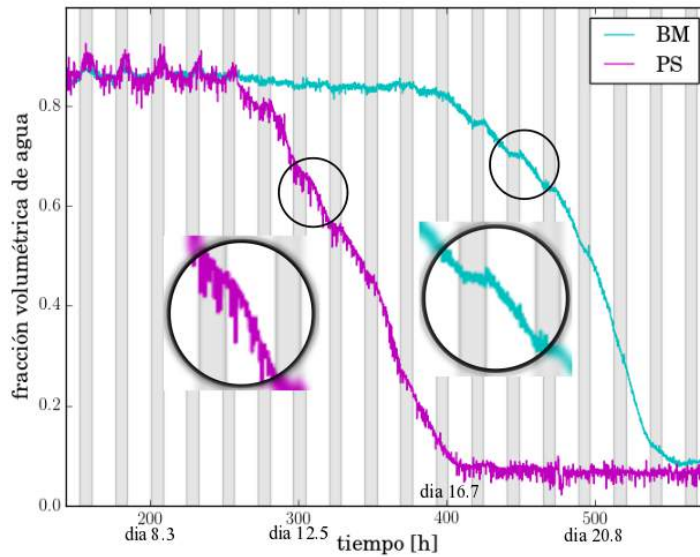


Figura 5.1: Evolución temporal de la fracción volumétrica de agua en las hojas de las plantas de la primera medición. La línea color magenta representa la planta Pinto Saltillo y la cian representa la Bayo Madero. Se muestran con blanco y gris los ciclos de día y noche respectivamente.

seguía perdiendo agua a través de sus hojas durante todo ese tiempo. Luego de ya no presentar respuesta a los ciclos de luz, las hojas se deshidratan por completo hasta que alcanzan la tercera etapa. En esta última etapa las hojas están completamente deshidratadas y ya no se pueden recuperar.

Cabe resaltar que se asumió que la pérdida de agua del sustrato por evaporación fue igual para ambas variedades, por lo que la diferencia en pérdida de agua entre las dos variedades únicamente está relacionada con la dinámica propia de cada planta.

Para confirmar los anteriores resultados se crecieron nuevas plantas para repetir las mediciones. Las nuevas plantas se crecieron en condiciones idénticas a las primeras (ver capítulo 3.1) con la única diferencia de que esta vez

la composición del sustrato fue de de 80 *g* de Turface Athletics (sustrato de secado rápido), y en la parte superior 60 *g* de una mezcla 4:3:3 metro-mix:vermiculita:perlita; esto con el fin de tener una mayor retención de agua para que las plantas resistieran mejor el transporte de Cuernavaca a León. En total llegaron a León doce plantas (seis de Bayo Madero y seis de Pinto Saltillo) que apenas presentaban las hojas embrionarias. Esto se hizo con la intención de que los primeros trifolios crecieran en el laboratorio de terahertz para que las plantas estuvieran adaptadas por completo al las condiciones ambientales de éste al momento de empezar las nuevas mediciones. Cuando las plantas ya presentaban sus primeros trifolios de aproximadamente 4 *cm* de largo se empezaron las mediciones periódicas con 10 de las plantas (dos no se adaptaron a las condiciones del laboratorio). Dos se utilizaron como plantas de control (una de cada variedad) y tuvieron suministro permanente de agua. Las mediciones se hicieron igual que con las primeras plantas, a excepción de que esta vez las plantas eran 10 días mas jóvenes que las primeras cuando se empezaron a medir.

Durante el proceso de adquisición de datos, las plantas de control crecieron normalmente por el suministro constante de agua y al ser plantas enredaderas, la Bayo Madero se enredo al sistema de terahertz y en un movimiento de la plataforma traslacional se cayó del sistema de mediciones arrastrando con ella 3 plantas más. Los resultados obtenidos de esta nueva medición se analizaron igual a los de la anterior medición y se presentan en la figura 5.2. Cabe notar que dos de las plantas medidas en este intento presentaron la extraña respuesta a los terahertz que creemos que se debe a que las mediciones en esas plantas en particular se hicieron sobre venocidades de las hojas

y como mencionamos anteriormente el análisis de estos datos no cabe dentro de esta tesis.

En la figura 5.2 se puede observar el mismo comportamiento presentado en la figura 5.1 y discutido en los párrafos anteriores, lo que ratifica los resultados presentados y analizados anteriormente. En esta oportunidad se puede observar que aproximadamente en las primeras 200 horas de las mediciones se presentó un aumento en la cantidad de agua de todas las plantas. Esto se le atribuye a que el modelo para obtener la cantidad de agua depende de la transmitancia que a su vez depende del espesor de las hojas, y cómo estas plantas se empezaron a medir muy jóvenes este espesor aumentó durante los primeros días porque las hojas aún estaban creciendo, aumentando así la capacidad de almacenar agua en ellas. En la figura se presenta también la evolución temporal de una planta de control que se mantuvo hidratada todo el tiempo, y se puede ver que su cantidad de agua se mantuvo constante después del aumento que se presentó por el crecimiento de las hojas. La figura muestra una disminución en la cantidad de agua de la planta de control cerca del día 20 (480 horas), que realmente se puede interpretar como una obstrucción de la radiación que pasa a través de la hoja, y esa obstrucción ocurrió cuando una de las hojas embrionarias de esa planta de control se atravesó en el camino óptico del sistema, problema que se solucionó en cuanto nos enteramos. La discontinuidad que se ve en una de las Bayo Madero alrededor de la hora 250 se debe a que en el momento en que la planta Pinto Saltillo de control se enredó con el sistema y derribó las demás, también movió un poco esa planta y las mediciones se siguieron haciendo en otro punto de la hoja, que según la discontinuidad era un área donde el espesor de la hoja era

más delgado que el espesor donde estaba el area focal original.

Basados en los resultados obtenidos se planteó un modelo matemático que describe la dinámica de hidratación de las plantas de frijol cuando son sometidas a estrés por sequía. La dinámica se modeló con el siguiente sistema de ecuaciones diferenciales,

$$\frac{\partial A_h}{\partial t} = k_1(A_s - A_h) - k_2 A_h \quad (5.1)$$

$$\frac{\partial A_s}{\partial t} = -k_3 A_s - k_1(A_s - A_h). \quad (5.2)$$

La primera ecuación representa el cambio de la cantidad de agua en las hojas, donde A_h representa la cantidad de agua en las hojas, k_1 es el flujo de agua hacia las hojas, A_s es la disponibilidad de agua en el sustrato y k_2 representa la conductancia de las hojas. La segunda ecuación representa la el cambio de la cantidad de agua en el sustrato, donde k_3 representa la evaporación del agua de éste. Estos términos se ilustran en la figura 5.3

La solución de estas ecuaciones diferenciales para la cantidad de agua en las hojas ajustadas a las primeras mediciones se muestra en la figura 5.4, y en ella se pueden observar también los valores de la conductancia k_2 y de el flujo de agua hacia las hojas k_1 . En la figura superior se puede ver que el modelo se ajusta relativamente bien a los datos experimentales. Se puede observar que las oscilaciones en la cantidad de agua en los ciclos día noche está dado por las variaciones en la conductancia de las hojas, y que esas oscilaciones son más amplias para la Pinto Saltillo que para la Bayo Madero. Se puede observar también que el decremento exponencial en la cantidad de agua en las hojas es una consecuencia directa de la suspensión del flujo de agua que

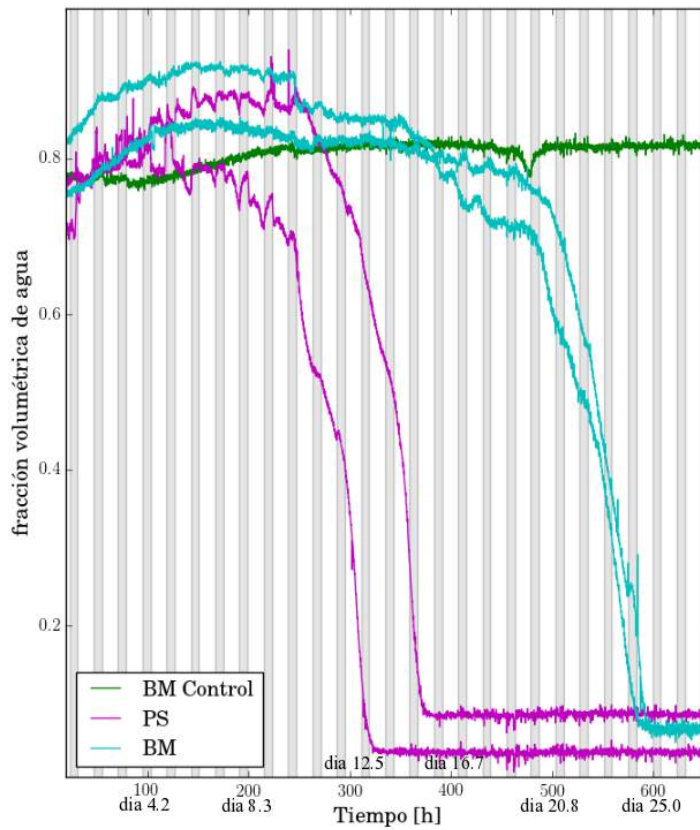


Figura 5.2: Evolución temporal de la fracción volumétrica de agua en las hojas de las plantas de la segunda tanda de mediciones. Las líneas color magenta representan las plantas Pinto Saltillo y las cyan representan las bayo madero, toda sometidas a estrés por sequía. La línea verde representa una planta de control que se mantuvo irrigada todo el tiempo. Se muestran con blanco y gris los ciclos de día y noche respectivamente.

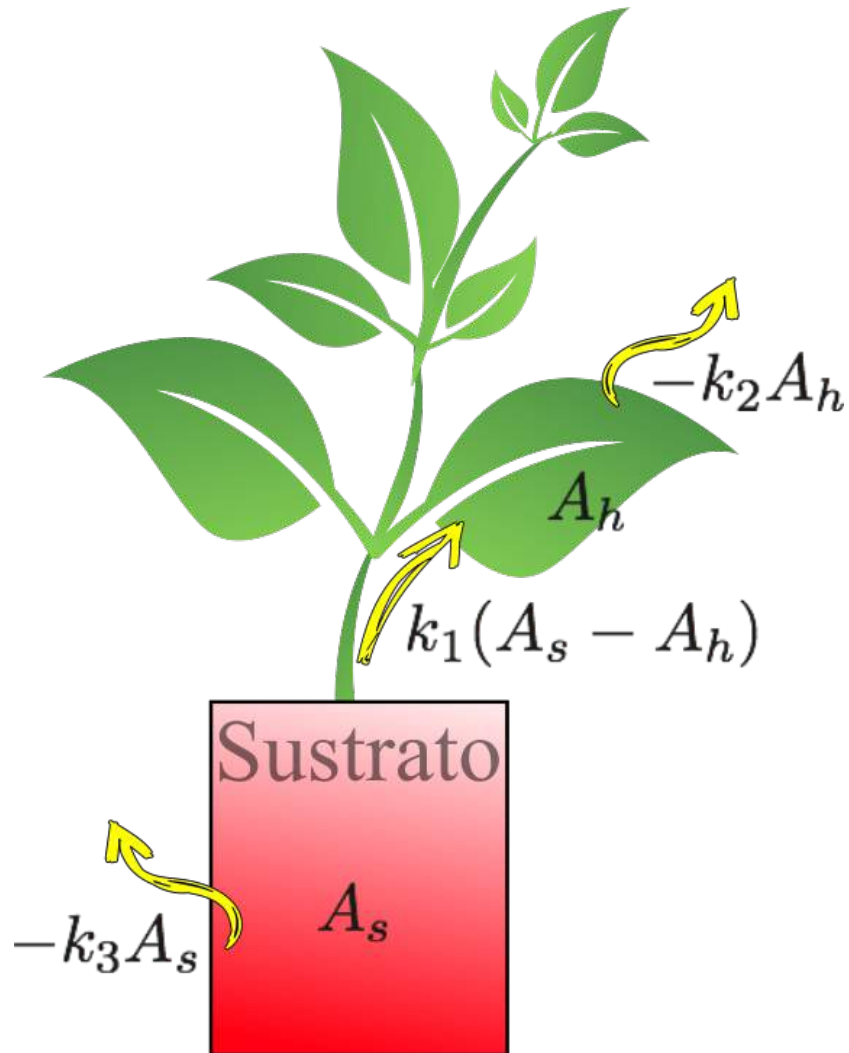


Figura 5.3: Esquema representativo del modelo de la dinámica de hidratación de las plantas de frijol. La disponibilidad de agua en el sustrato se representa por A_s , la cantidad de agua en las hojas por A_h ; la pérdida de agua del sustrato por evaporación depende de una función K_3 y de la disposición de agua en él y por el flujo de agua hacia las hojas dado por $-K_1(A_s - A_h)$; y finalmente la cantidad de agua en las hojas en función del tiempo está dada por $k_1(A_s - A_h) - K_2 A_h$ donde k_1 es la conductancia de las hojas.

hay en la planta hacia las hojas, que para la Pinto Saltillo ocurre primero que para la Bayo Madero (ver figura inferior). Esto implica que cuando la Pinto Saltillo “detecta” poca disponibilidad de agua en el sustrato, rápidamente suspende el flujo de agua hacia las hojas, mientras que la Bayo Madero tarda más en suspender el flujo de agua hacia las plantas después de la detección de la insuficiente disponibilidad de agua en el sustrato.

5.2. Imágenes de la evolución temporal del agua en el sustrato Turface

Luego de hacer un escaneo con el sistema de terahertz en configuración de reflexión como se detalló en la secciones 4.2 y 4.3 se procesaron los datos recolectados para obtener las imágenes de la evolución temporal de la respuesta a los terahertz en la superficie y el canto del sustrato. Las imágenes 5.5 se obtuvieron de procesar los campos eléctricos de los pulsos de terahertz obtenidos, y lo que se grafica en cada pixel es la amplitud pico a pico del pulso, que está relacionado con la humedad, normalizada al valor promedio de todos los pixeles. Se puede observar que el sustrato presenta una más rápida disminución en la amplitud pico a pico del pulso de terahertz reflejado en los bordes, comparado con el centro. Lo que sugiere que el sustrato se seca con más rapidez en los bordes. Entonces, para que las plantas que se siembran en estas charolas estén en las mismas condiciones de humedad en el sustrato deben ubicarse alejadas de los bordes de la charola.

Las imágenes del canto de la charola con el sustrato se presentan en la figura 5.6, en ellas se puede observar cómo el proceso de secado de los sus-

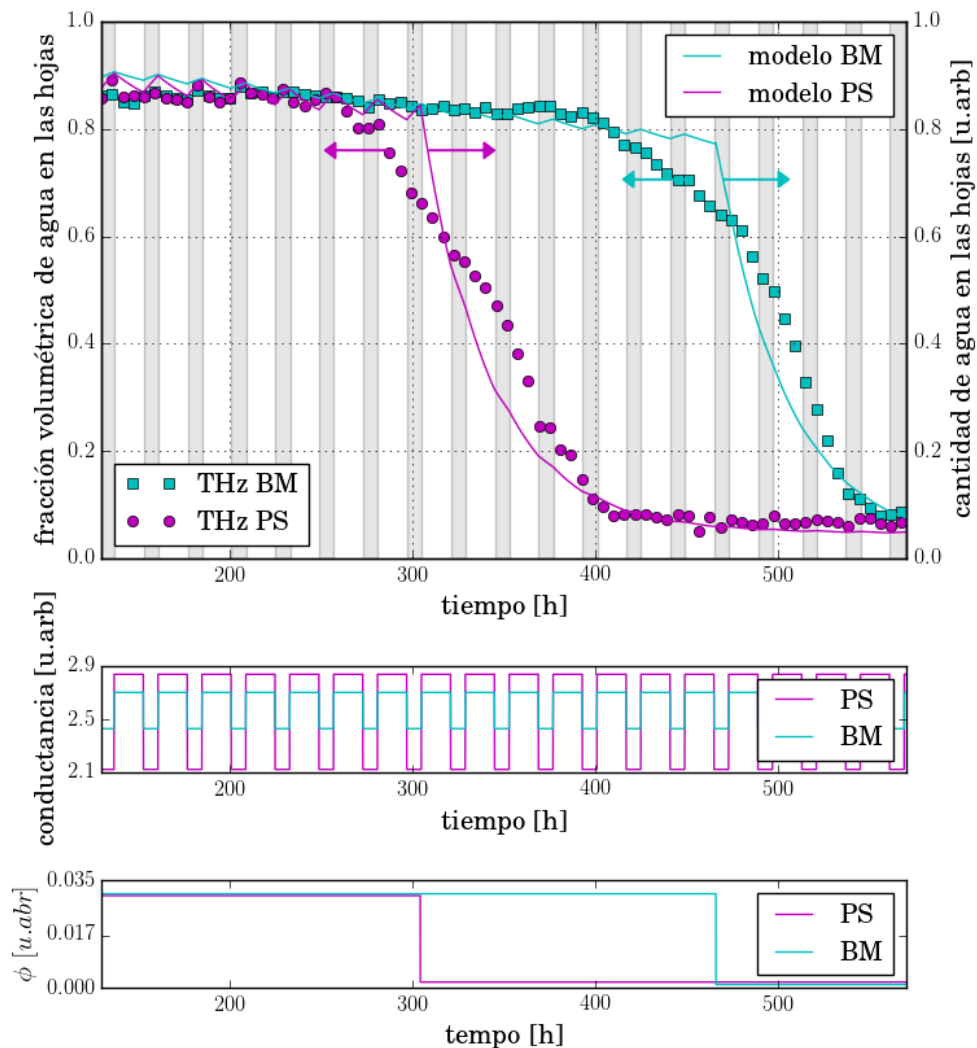


Figura 5.4: En la figura superior se observan los datos experimentales y teóricos de la evolución temporal de la cantidad de agua en las plantas de frijol sometidas a estrés por sequía. las líneas continua y discontinua son la solución al sistema de ecuaciones diferenciales para la BM y la PS respectivamente; los cuadrados y los círculos son los datos experimentales obtenidos con la técnica de THz para la BM y la PS respectivamente. La figura del centro muestra la conductancia de las hojas, y la figura inferior es el flujo de agua hacia las hojas en función del tiempo.

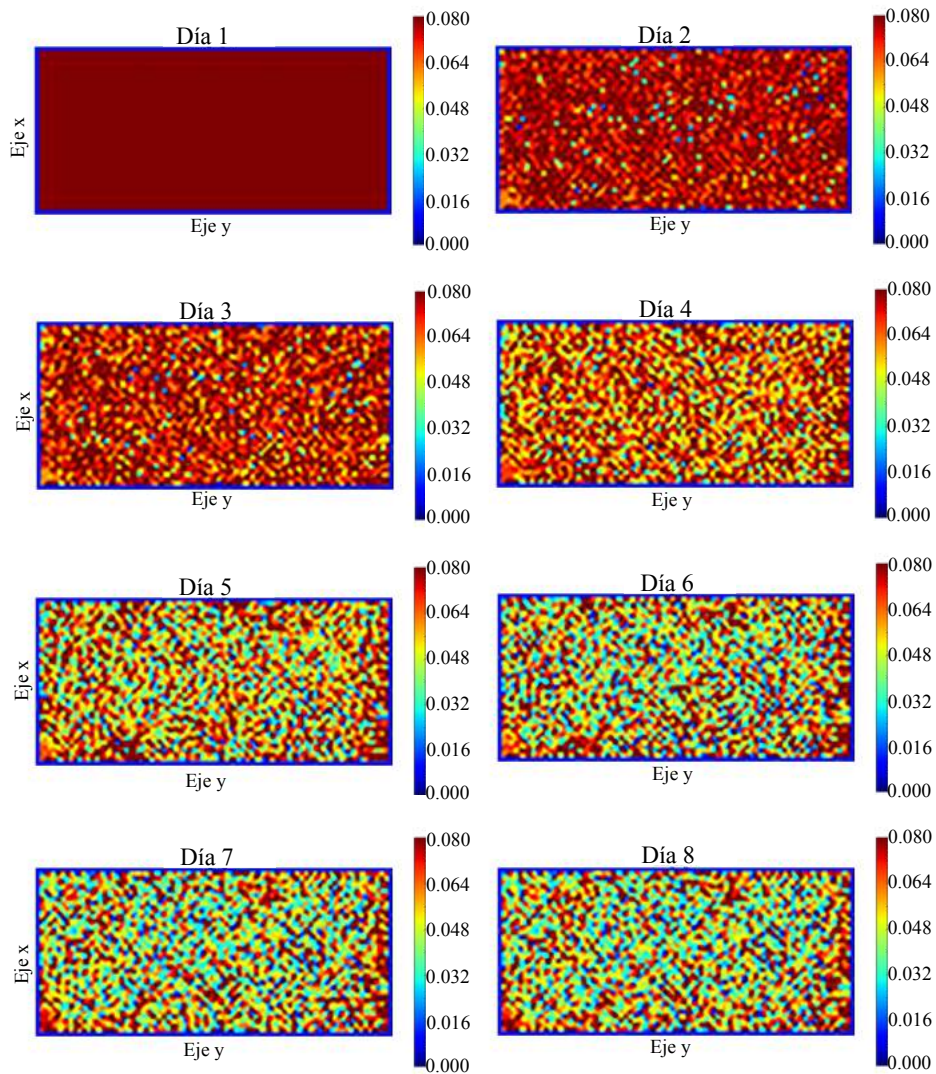


Figura 5.5: Vista superior del proceso de secado del sustrato Turface dentro de una charola convencional de laboratorio. Se puede ver como el sustrato se va secando casi homogéneamente en la superficie, a excepción de las orillas que se fueron secando más rápido que el centro. La barra de colores muestra la amplitud pico a pico del pulso de terahertz reflejado.

tratos empieza por la parte superior. Esto se debe a la gran area de contacto con el aire en la superficie que permite que el agua se evapore fácilmente. Los espacios en forma de clavos que se ven a partir de las 60 horas son los tornillos con los que están sujetas las caras de la charola de polietileno, que antes de ese tiempo no era posible observarlas por la alta humedad que presentaban las paredes de la charola.

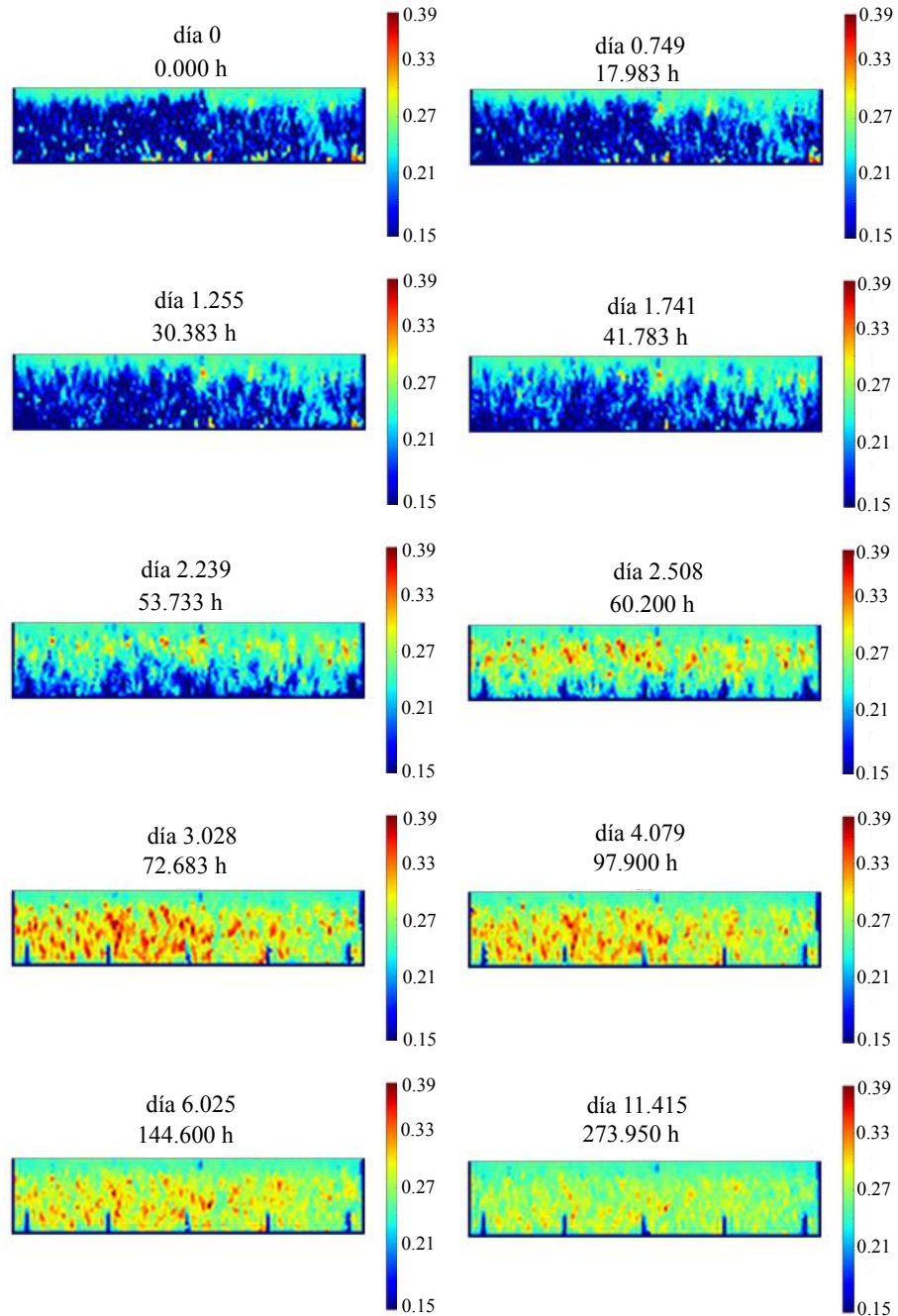


Figura 5.6: Vista transversal del proceso de secado del sustrato Turface dentro de una charola convencional de laboratorio. Se puede ver como el sustrato se va secando desde la parte superior hasta la parte inferior. La barra de colores muestra la amplitud pico a pico del pulso de terahertz reflejado.

Capítulo 6

Conclusiones

En este trabajo se demostró el potencial que tiene la espectroscopía en terahertz en el dominio del tiempo para monitorear simultáneamente, *in vivo*, la cantidad de agua presente en las hojas de diferentes plantas. Lo que permitió estudiar procesos fisiológicos en dos variedades contrastantes de frijol común.

Se observaron por primera vez algunos mecanismos de defensa contra la sequía que están directamente relacionados con el uso eficiente del agua en las hojas. Se pudo identificar que la variedad de frijol Pinto Saltillo resiste mejor la sequía que la variedad Bayo Madero debido a que cuando la primera empieza a ser afectada por esta condición, rápidamente se deshace de sus hojas para evitar pérdida de agua cuando estas intercambian gases (que contienen vapor de agua) con la atmósfera por medio de los estomas; mientras que la variedad Bayo Madero tarda aproximadamente entre cinco y seis días más que la primera en deshacerse de sus hojas, lo que genera mayor pérdida de agua por intercambio con la atmósfera.

También se pudo identificar que las plantas presentan cambios en la cantidad de agua de sus hojas como respuesta a los ciclos de día y noche, y se observó que estas oscilaciones presentan una amplitud mayor para la variedad que resulta ser más resistente a la sequía que para la menos resistente. Esto sugiere que además de tener una mejor respuesta a las condiciones de estrés, al deshacerse rápidamente de sus hojas, la variedad Pinto Saltillo aumenta la amplitud de esas oscilaciones en cuanto el suministro de agua a través del sustrato se va agotando, creemos que esto acelera el proceso de deshidratación de las hojas para deshacerse de ellas y así no perder agua por los estomas. La variedad Bayo Madero también aumenta la amplitud de las oscilaciones, en menor proporción a la pinto saltillo.

Se propuso un primer modelo matemático, en particular un sistema de ecuaciones diferenciales, que modela la evolución temporal del agua en las hojas como función de la disponibilidad de agua en el sustrato, el flujo de agua hacia las hojas y la conductancia de estas que varía en ciclos de día y noche.

Se comprueba una vez más el potencial que tiene la espectroscopía en terahertz en el dominio del tiempo para estudiar procesos fisiológicos en plantas, con el valor agregado de que además se pueden hacer estudios comparativos simultáneamente en diferentes especímenes, lo que abre la posibilidad de realizar estudios estadísticos *in vivo* de procesos biológicos que generen cambios en la cantidad de agua de las muestras.

Por otra parte se abre la posibilidad usar imágenes de terahertz para hacer tomografía de las raíces de plantas, usando el agua en ellas como medio de contraste y aprovechando el hecho que el sustrato Turface (con propiedades

de baja retención de agua) presenta un muy bajo coeficiente de absorción en la región de terahertz.

Finalmente se demuestra que las imágenes de terahertz son una poderosa herramienta para estudiar procesos de difusión y pérdida de agua en sustratos, lo que podría servir para encontrar las condiciones óptimas de los sustratos para evitar estrés por sequía en las plantas.

Bibliografía

- [1] Ronald Trostle et al. *Global agricultural supply and demand: factors contributing to the recent increase in food commodity prices*. US Department of Agriculture, Economic Research Service Washington, DC, USA, 2008.
- [2] Craig D Allen, Alison K Macalady, Haroun Chenchouni, Dominique Bachelet, Nate McDowell, Michel Vennetier, Thomas Kitzberger, Andreas Rigling, David D Breshears, EH Ted Hogg, et al. A global overview of drought and heat-induced tree mortality reveals emerging climate change risks for forests. *Forest ecology and management*, 259(4):660–684, 2010.
- [3] David D Breshears, Neil S Cobb, Paul M Rich, Kevin P Price, Craig D Allen, Randy G Balice, William H Romme, Jude H Kastens, M Lisa Floyd, Jayne Belnap, et al. Regional vegetation die-off in response to global-change-type drought. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(42):15144–15148, 2005.
- [4] Hipólito Medrano Gil, Josefina Bota, Josep Cifre Llompart, Jaume Flexas, and Javier Gulías León. Eficiencia en el uso del agua por las plantas.

- Investigaciones geográficas*, (43):63–84, 2007.
- [5] PC Nautiyal, Nageswara Rao Rachaputi, and YC Joshi. Moisture-deficit-induced changes in leaf-water content, leaf carbon exchange rate and biomass production in groundnut cultivars differing in specific leaf area. *Field crops research*, 74(1):67–79, 2002.
- [6] Nicholas P Money. Osmotic pressure of aqueous polyethylene glycols relationship between molecular weight and vapor pressure deficit. *Plant physiology*, 91(2):766–769, 1989.
- [7] BB Hu and MC Nuss. Imaging with terahertz waves. *Optics letters*, 20(16):1716–1718, 1995.
- [8] D Banerjee, W Von Spiegel, MD Thomson, S Schabel, and HG Roskos. Diagnosing water content in paper by terahertz radiation. *Optics Express*, 16(12):9060–9066, 2008.
- [9] Hans J Liebe, George A Hufford, and Takeshi Manabe. A model for the complex permittivity of water at frequencies below 1 thz. *International Journal of Infrared and Millimeter Waves*, 12(7):659–675, 1991.
- [10] Sillas Hadjiloucas, Lucas S Karatzas, and John W Bowen. Measurements of leaf water content using terahertz radiation. *Microwave Theory and Techniques, IEEE Transactions on*, 47(2):142–149, 1999.
- [11] Norman Born, David Behringer, Sascha Liepelt, Sarah Beyer, Michael Schwerdtfeger, Birgit Ziegenhagen, and Martin Koch. Monitoring plant drought stress response using terahertz time-domain spectroscopy. *Plant physiology*, 164(4):1571–1577, 2014.

-
- [12] Björn Breitenstein, Maik Scheller, Mohammad Khaled Shakfa, Thomas Kinder, Thomas Müller-Wirts, Martin Koch, and Dirk Selmar. Introducing terahertz technology into plant biology: A novel method to monitor changes in leaf water status. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 84(2):158, 2012.
- [13] E Castro-Camus, M Palomar, and AA Covarrubias. Leaf water dynamics of arabidopsis thaliana monitored in-vivo using terahertz time-domain spectroscopy. *Scientific reports*, 3, 2013.
- [14] Seung Jae Oh, Sang-Hoon Kim, Kiyoung Jeong, Yeonji Park, Yong-Min Huh, Joo-Hiuk Son, and Jin-Suck Suh. Measurement depth enhancement in terahertz imaging of biological tissues. *Optics express*, 21(18):21299–21305, 2013.
- [15] GM Png, JW Choi, B WH Ng, SP Micken, D Abbott, and XC Zhang. The impact of hydration changes in fresh bio-tissue on thz spectroscopic measurements. *Physics in Medicine and Biology*, 53(13):3501, 2008.
- [16] Martin Koch. Thz imaging: fundamentals and biological applications. In *Industrial Lasers and Inspection (EUROPTO Series)*, pages 202–208. International Society for Optics and Photonics, 1999.
- [17] Peter H Siegel. Terahertz technology in biology and medicine. In *Microwave Symposium Digest, 2004 IEEE MTT-S International*, volume 3, pages 1575–1578. IEEE, 2004.
- [18] E Pickwell and VP Wallace. Biomedical applications of terahertz technology. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 39(17):R301, 2006.

-
- [19] M Nagel, M Först, and H Kurz. Thz biosensing devices: fundamentals and technology. *Journal of Physics: Condensed Matter*, 18(18):S601, 2006.
- [20] Jorge Erick Ruiz Nieto, Víctor Montero Tavera, Jorge Alberto Acosta Gallegos, Elías Piedra Ibarra, and Cesar L Aguirre. Caracterización fisiológica y genética del uso eficiente del agua en dos variedades de frijol contrastantes. *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 1(1):43–51, 2013.
- [21] Yun-Shik Lee. *Principles of terahertz science and technology*, volume 170. Springer Science & Business Media, 2009.
- [22] Simon M Sze and Kwok K Ng. *Physics of semiconductor devices*. John wiley & sons, 2006.
- [23] Kiyomi Sakai, Masahiko Tani, and Kiyomi Sakai. *Terahertz optoelectronics*. 2005.
- [24] Daryoosh Saeedkia. *Handbook of terahertz technology for imaging, sensing and communications*. Elsevier, 2013.
- [25] R Titz, M Birk, D Hausamann, R Nitsche, F Schreier, J Urban, H Küllman, and HP Röser. Observation of stratospheric oh at 2.5 thz with an airborne heterodyne system. *Infrared physics & technology*, 36(5):883–891, 1995.
- [26] GA Blake, KB Laughlin, RC Cohen, KL Busarow, D-H Gwo, C. A Schmuttenmaer, DW Steyert, and RJ Saykally. The berkeley tuna-

- ble far infrared laser spectrometers. *Review of scientific instruments*, 62(7):1701–1716, 1991.
- [27] E Castro-Camus. *Polarisation resolved terahertz time domain spectroscopy*. PhD thesis, Department of Physics, Condensed Matter, Physics University of Oxford, 2006.
- [28] RA Smith. Detectors for ultraviolet, visible, and infrared radiation. *Applied Optics*, 4(6):631–638, 1965.
- [29] David H Auston. Electro-optic generation and detection of femtosecond electromagnetic pulses. Technical report, DTIC Document, 1991.
- [30] Ajay Nahata, Aniruddha S Weling, and Tony F Heinz. A wideband coherent terahertz spectroscopy system using optical rectification and electro-optic sampling. *Applied Physics Letters*, 69(16):2321–2323, 1996.
- [31] Benjamin S Williams. Terahertz quantum-cascade lasers. *Nature photonics*, 1(9):517–525, 2007.
- [32] Anthony J Fitzgerald, Vincent P Wallace, Mercedes Jimenez-Linan, Lynda Bobrow, Richard J Pye, Anand D Purushotham, and Donald D Arnone. Terahertz pulsed imaging of human breast tumors 1. *Radiology*, 239(2):533–540, 2006.
- [33] Ruth M Woodward, Vincent P Wallace, Richard J Pye, Bryan E Cole, Donald D Arnone, Edmund H Linfield, and Michael Pepper. Terahertz pulse imaging of ex vivo basal cell carcinoma. *Journal of Investigative Dermatology*, 120(1):72–78, 2003.

-
- [34] Ruth M Woodward, Bryan E Cole, Vincent P Wallace, Richard J Pye, Donald D Arnone, Edmund H Linfield, and Michael Pepper. Terahertz pulse imaging in reflection geometry of human skin cancer and skin tissue. *Physics in medicine and biology*, 47(21):3853, 2002.
- [35] E Pickwell, BE Cole, AJ Fitzgerald, M Pepper, and VP Wallace. In vivo study of human skin using pulsed terahertz radiation. *Physics in Medicine and Biology*, 49(9):1595, 2004.
- [36] David B Bennett, Zachary D Taylor, Pria Tewari, Rahul S Singh, Martin O Culjat, Warren S Grundfest, Daniel J Sassoon, R Duncan Johnson, Jean-Pierre Hubschman, and Elliott R Brown. Terahertz sensing in corneal tissues. *Journal of biomedical optics*, 16(5):057003–057003, 2011.
- [37] ZD Taylor, RS Singh, MO Culjat, JY Suen, WS Grundfest, H Lee, and ER Brown. Reflective terahertz imaging of porcine skin burns. *Optics letters*, 33(11):1258–1260, 2008.
- [38] PY Han and XC Zhang. Free-space coherent broadband terahertz time-domain spectroscopy. *Measurement science and technology*, 12(11):1747, 2001.
- [39] YC Shen, T Lo, PF Taday, BE Cole, WR Tribe, and MC Kemp. Detection and identification of explosives using terahertz pulsed spectroscopic imaging. *Applied Physics Letters*, 86(24):241116, 2005.
- [40] Erik Heinz, Detlef Born, Gabriel Zieger, Torsten May, Torsten Krause, Andre Krüger, Marco Schulz, Solveig Anders, Viatcheslav Zakosarenko, Hans-Georg Meyer, et al. Progress report on safe visitor: approaching a

- practical instrument for terahertz security screening. In *SPIE Defense, Security, and Sensing*, pages 767005–767005. International Society for Optics and Photonics, 2010.
- [41] BM Fischer, M Walther, and P Uhd Jepsen. Far-infrared vibrational modes of dna components studied by terahertz time-domain spectroscopy. *Physics in medicine and biology*, 47(21):3807, 2002.
- [42] Andrea Markelz, Scott Whitmire, Jay Hillebrecht, and Robert Birge. Thz time domain spectroscopy of biomolecular conformational modes. *Physics in medicine and biology*, 47(21):3797, 2002.
- [43] Martin Van Exter, Ch Fattinger, and D Grischkowsky. Terahertz time-domain spectroscopy of water vapor. *Optics letters*, 14(20):1128–1130, 1989.
- [44] M Walther, P Plochocka, B Fischer, H Helm, and P Uhd Jepsen. Collective vibrational modes in biological molecules investigated by terahertz time-domain spectroscopy. *Biopolymers*, 67(4-5):310–313, 2002.
- [45] Peter Uhd Jepsen, Hannes Merbold, et al. Investigation of aqueous alcohol and sugar solutions with reflection terahertz time-domain spectroscopy. *Optics Express*, 15(22):14717–14737, 2007.
- [46] Stefan Gorenflo, Ulrike Tauer, Iliyana Hinkov, Armin Lambrecht, Richard Buchner, and Hanspeter Helm. Dielectric properties of oil–water complexes using terahertz transmission spectroscopy. *Chemical physics letters*, 421(4):494–498, 2006.

- [47] Jiu-sheng Li and Xiang-jun Li. Determination principal component content of seed oils by thz-tds. *Chemical Physics Letters*, 476(1):92–96, 2009.
- [48] Dongfeng Liu and Jiayin Qin. Carrier dynamics of terahertz emission from low-temperature-grown gaas. *Applied optics*, 42(18):3678–3683, 2003.
- [49] H Nĕmec, A Pashkin, P Kužel, M Khazan, S Schnüll, and I Wilke. Carrier dynamics in low-temperature grown gaas studied by terahertz emission spectroscopy. *Journal of Applied Physics*, 90(3):1303–1306, 2001.
- [50] RA Kaindl, D Hägele, MA Carnahan, R Lövenich, and DS Chemla. Exciton dynamics studied via internal thz transitions. *physica status solidi (b)*, 238(3):451–454, 2003.
- [51] Rupert Huber, Robert A Kaindl, Ben A Schmid, and Daniel S Chemla. Broadband terahertz study of excitonic resonances in the high-density regime in gaas/ al x ga 1- x as quantum wells. *Physical Review B*, 72(16):161314, 2005.
- [52] KA McIntosh, KB Nichols, S Verghese, and ER Brown. Investigation of ultrashort photocarrier relaxation times in low-temperature-grown gaas. *Applied Physics Letters*, 70:354–356, 1997.
- [53] B Sartorius, H Roehle, H Křnznel, M Schlak, D Stanze, H Venghaus, M Schell, et al. All-fiber terahertz time-domain spectrometer operating at 1.5 μm telecom wavelengths. *Optics express*, 16(13):9565–9570, 2008.

-
- [54] N Vieweg, F Rettich, A Deninger, H Roehle, R Dietz, T Göbel, and M Schell. Terahertz-time domain spectrometer with 90 db peak dynamic range. *Journal of Infrared, Millimeter, and Terahertz Waves*, 35(10):823–832, 2014.
- [55] Shuji Matsuura, Masahiko Tani, and Kiyomi Sakai. Generation of coherent terahertz radiation by photomixing in dipole photoconductive antennas. *Applied Physics Letters*, 70(5):559–561, 1997.
- [56] P Uhd Jepsen, Rune Hylsberg Jacobsen, and SR Keiding. Generation and detection of terahertz pulses from biased semiconductor antennas. *JOSA B*, 13(11):2424–2436, 1996.
- [57] Amnon Yariv and Pochi Yeh. *Optical waves in crystal propagation and control of laser radiation*. 1983.
- [58] E Castro-Camus, Lan Fu, J Lloyd-Hughes, Hoe Hark Tan, Chennupati Jagadish, and Michael B Johnston. Photoconductive response correction for detectors of terahertz radiation. *Journal of Applied Physics*, 104(5):053113, 2008.
- [59] John David Jackson. *Classical electrodynamics*. Wiley, 1999.
- [60] Withawat Withayachumnankul, B Ferguson, T Rainsford, Samuel P Mickan, and Derek Abbott. Material parameter extraction for terahertz time-domain spectroscopy using fixed-point iteration. In *Microtechnologies for the New Millennium 2005*, pages 221–231. International Society for Optics and Photonics, 2005.

-
- [61] C Jördens, M Scheller, B Breitenstein, D Selmar, and M Koch. Evaluation of leaf water status by means of permittivity at terahertz frequencies. *Journal of biological physics*, 35(3):255–264, 2009.
- [62] XC Zeng, DJ Bergman, PM Hui, and D Stroud. Effective-medium theory for weakly nonlinear composites. *Physical Review B*, 38(15):10970, 1988.
- [63] H Looyenga. Dielectric constants of heterogeneous mixtures. *Physica*, 31(3):401–406, 1965.
- [64] Tuck C Choy. *Effective medium theory: principles and applications*, volume 165. Oxford University Press, 2015.
- [65] R Gente, N Born, N Voß, W Sannemann, J Léon, M Koch, and E Castro-Camus. Determination of leaf water content from terahertz time-domain spectroscopic data. *Journal of infrared, millimeter, and terahertz waves*, 34(3-4):316–323, 2013.
- [66] X Xin, H Altan, A Saint, D Matten, and RR Alfano. Terahertz absorption spectrum of para and ortho water vapors at different humidities at room temperature. *Journal of Applied Physics*, 100(9):094905, 2006.