

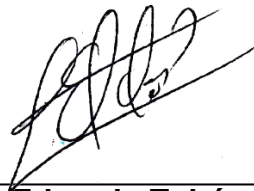
Nota de Aceptación

Aprobado por el Comité de Trabajo de Grado en cumplimiento de los requisitos exigidos por la Pontificia Universidad Javeriana para optar el título de Ingeniero de Sistemas y computación.



Dr. Camilo Rocha

Decano de la Facultad de Ingeniería



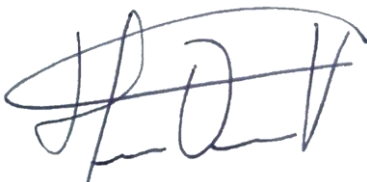
Dr. Luis Eduardo Tobón Llano

Director Carrera Ingeniería Electrónica.



Dr. Luis Eduardo Tobón Llano

Director(a) Trabajo



Dr. Hernán Darío Vargas

Jurado 1



Dr. Dimas Mavares

Jurado 2



Acta de Correcciones al Proyecto de Grado Ingeniería Electrónica

Fecha: 09 – 07 - 2021

Autores: Julián Alejandro Ílamo Sarria

Nombre del Proyecto de Grado: Visión artificial aplicada al crecimiento de Lactuca sativa modificando ciclos de luz artificial

Director: Luis Eduardo Tobón Llano

Como indica el artículo 2.27 de las Directrices de Trabajo de Grado, he verificado que los estudiantes indicados arriba han implementado todas las correcciones que los Jurados del Proyecto de Grado definieron que se efectuaran, como consta en el Acta de Calificación correspondiente.

Firma de Director(a) del Proyecto de Grado

Visión artificial aplicada al crecimiento de Lactuca sativa modificando ciclos de luz artificial

Julián Alejandro Ílamo Sarria

Director: Dr. Luis Eduardo Tobón Llano

Codirector: Dr. Mauricio Alberto Quimbaya Gomez



Pontificia Universidad Javeriana Cali
Facultad de Ingeniería y Ciencias
Ingeniería Electrónica
Trabajo de grado
18 de Junio de 2021

Resumen

Los métodos tradicionales utilizados para hacer el cálculo de biomasa de una planta implican la destrucción de la planta para hallar su peso fresco y su peso seco, y una vez obtenidos estos datos, determinar su biomasa. Sin embargo, si se busca conocer el desarrollo de una planta sin destruirla, debe recurrirse al análisis de imágenes para hallar relaciones entre variables, que permiten calcular los indicadores de desarrollo de crecimiento, como: área, peso fresco, peso seco y biomasa. En este trabajo, se hizo el diseño e implementación de un sistema de monitoreo que por medio del análisis de imágenes obtiene algunos indicadores de desarrollo de crecimiento. También, se ajustaron luces LED azules y rojas dentro del sistema, las cuales tienen la longitud de onda que estimulan los fotoreceptores, y se configuró el fotoperiodo en 18h día, 6h noche. Así pues, con este sistema, se realizó el seguimiento del crecimiento de un cultivo de plantas *Lactuca sativa*: Black seed simpson, en un lapso de 20 días. Dicha planta tiene características morfológicas favorables como el fotoperiodo, su corto ciclo de vida y en longitudes de onda para la fotosíntesis [1].

Para el análisis de la imagen del cultivo, se utilizó PlantCV [2] como software para separar la planta, y, posteriormente, se hizo un script que a partir de la imagen obtenida por PlantCV, se obtuvieran los indicadores de desarrollo de crecimiento. Estos índices pudieron calcularse gracias al ajuste de datos realizado con una regresión lineal [3] y con el interpolador cúbico de Hermite [4], utilizando los datos obtenidos de los pesajes del cultivo después de los 20 días de crecimiento. Paralelamente, mientras crecía el cultivo dentro de este sistema, se creció un cultivo bajo luz blanca con un fotoperiodo de 12h día y noche para comparar los resultados de ambos cultivos al final del experimento. Finalmente, los resultados obtenidos de la comparación entre los cultivos que crecieron bajo distintas condiciones mostraron que el cultivo que creció bajo fotoperiodo de 12h día y noche tuvo un mejor desarrollo morfológico con menor intensidad lumínica que el del otro cultivo, el cual crecía a un fotoperiodo de 18h día 6h noche.

Palabras clave: *Lactuca sativa*, Black seed simpson, PPFD, procesamiento de imágenes, PlantCV, Python, Raspberry, cámara de crecimiento, fotoperiodo, intensidad lumínica, distorsión de lente, interpolador cúbico de Hermite, regresión lineal, regresión polinómica, biomasa, peso fresco, peso seco.

Abstract

Traditional methods used to calculate the biomass of a plant involve destroying the plant to find its fresh weight and dry weight, so, once these data are obtained, calculate its biomass. However, if there is the intention of knowing the development of a plant in a non-destructive way, image analysis should be used to find relationships between variables, which allow the calculation of growth development indicators, such as: Leaf area, Fresh Weight, Dry Weight and Biomass. In this work, the design and implementation of a monitoring system was made that, through the analysis of images, obtains the growth development indicators. Also, blue and red LED lights were adjusted inside the system, which have the wavelength that stimulate the photoreceptors, and the photoperiod was set at 18h day, 6h night. Thus, with this system, the growth of a *Lactuca sativa* plant crop: Black seed simpson was monitored in a period of 20 days. This plant has favorable morphological characteristics such as the photoperiod, its short life cycle and wavelengths for photosynthesis. [1].

Thus, for the analysis of the crop image, PlantCV [2] was used as software to separate the plant, and later, a script was made that from the image obtained by PlantCV, the growth development indicators were found. These indices could be calculated due to the data adjustment carried out with a linear regression [3] and with the Hermite cubic interpolator [4], using the data obtained from the weighing of the crop after 20 days of growth. In parallel, while the crop grew within this system, another crop was grown under white light with a photoperiod of 12h day and night to compare the results of both crops at the end of the experiment. Finally, the results obtained from the comparison between the crops that grew under different conditions showed that the crop that grew under a photoperiod of 12h day and night had a better morphological development with lower light intensity than that of the other crop, which grew at a photoperiod of 18h day and 6h night.

Key Words: *Lactuca sativa*, Black seed simpson, PPFD, image processing, PlantCV, Python, Raspberry, growth chamber, photoperiod, light intensity, lens distortion, Hermite cubic interpolator, linear regression, polynomial regression, biomass, fresh weight, dry weight.

Agradecimientos

Principalmente, doy gracias a mi familia, por todo el cariño y amor con el que me han apoyado a lo largo de mi carrera y durante el desarrollo de este trabajo de grado.

Le doy especiales gracias también al Dr. Luis Eduardo Tobón Llano, quien accedió a dirigir mi trabajo de grado desde una etapa temprana de mi carrera, y el cual, con paciencia me enseñó la forma de como plantear y llevar a cabo un proyecto de investigación, indagando en diversos temas para encontrar lo que sería el tópico principal de este trabajo de grado. Igualmente, agradezco al Dr. Mauricio Alberto Quimbaya, biólogo que me mostró las bases de como trabajar en área científica fuera de mi campo de estudio, junto con todas las indicaciones para que el experimento que se iba a llevar a cabo fuera exitoso.

Agradezco también a los colaboradores de la universidad Lewis Riascos, Christopher Valencia y Claritza Muñoz quienes me apoyaron con las herramientas y supervisiones necesarias durante las visitas a los laboratorios.

Agradezco a mis amigos quienes me hicieron sugerencias sobre posibles soluciones ante los inconvenientes que se presentaron a lo largo del trabajo. Y, en especial, le agradezco a mi amigo Juan Fernando Rengifo, quien me hizo muchas sugerencias sobre la elección de componentes y procedimientos a llevar a cabo, e incluso, me permitió usar su casa y su invernadero para poder hacer parte del experimento debido a inconvenientes que se tuvieron con equipos de la universidad.

"La ciencia no es perfecta, con frecuencia se utiliza mal, no es más que una herramienta, pero es la mejor herramienta que tenemos: se corrige a sí misma, está siempre evolucionando y se puede aplicar a todo. Con esta herramienta conquistamos lo imposible."

CARL SAGAN

Índice general

1. Introducción	11
2. Planteamiento del problema	13
3. Objetivos	15
3.1. Objetivo General	15
3.2. Objetivos Específicos	15
4. Justificación	16
5. Marco Teórico	17
5.1. Procesos y características de la planta	17
5.1.1. Fotosíntesis	17
5.1.2. Fotorreceptores	18
5.1.3. Fotoperiodo	18
5.1.4. Unidades de radiación fotosintética	18
5.1.5. Lactuca sativa	18
5.1.6. Biomasa	19
5.2. Emisión y captura	20
5.2.1. Espectro de absorción	20
5.2.2. Diodos emisores de luz (LEDs)	20
5.2.3. Modelo HSV	21
5.2.4. Distorsión por el lente	21
5.3. Control y procesamiento	23
5.3.1. Raspberry Pi	23
5.3.2. Procesamiento en PlantCV	23
5.3.3. Regresión lineal	24
5.3.4. Regresión polinómica	24
5.3.5. Interpolador cúbico de Hermite	24
5.3.6. Raíz del error medio cuadrado (RSME)	25
5.3.7. Error relativo cuadrado (RSE)	26
6. Estado del arte	27
6.1. Estimating above ground biomass of winter wheat at early growth stages using digital images and deep convolutional neural network	27
6.2. The Circadian Clock Regulates the Photoperiodic Response of Hypocotyl Elongation through a Coincidence Mechanism in <i>Arabidopsis thaliana</i>	28

6.3.	Plant Circadian Clocks Increase Photosynthesis, Growth, Survival, and Competitive Advantage	28
6.4.	Lights, camera, action: high-throughput plant phenotyping is ready for a close-up	29
6.5.	Improved estimation of rice aboveground biomass combining textural and spectral analysis of UAV imagery	30
6.6.	Estimate of winter-wheat above-ground biomass based on UAV ultrahighground-resolution image textures and vegetation indices	30
6.7.	Estimating Above-Ground Biomass of Maize Using Features Derived from UAV-Based RGB Imagery	31
6.8.	Estimating wheat biomass by combining image clustering with crop height	32
6.9.	Similitud entre los trabajos	32
7.	Metodología	34
7.1.	Requerimientos	35
7.2.	Incubadoras para el ambiente controlado de las plantas	35
7.3.	Esterilización y acondicionamiento de plantas	38
7.4.	Selección y cotización de materiales para la cámara de crecimiento	43
7.5.	Diseño del circuito de iluminación y control	45
7.5.1.	Selección de luces LEDs	45
7.5.2.	Conmutación de iluminación	50
7.5.3.	Alimentación del circuito	53
7.5.4.	Construcción del circuito final	54
7.6.	Diseños 3D de la cámara de crecimiento	57
7.6.1.	Primer diseño de la cámara de crecimiento	57
7.6.2.	Segundo diseño de la cámara de crecimiento	60
7.6.3.	Tercer diseño de la cámara de crecimiento	63
7.7.	Adquisición de Raspberry y cámara	65
7.8.	Especificaciones de la cámara	66
7.8.1.	Cálculo de las dimensiones de la imagen	67
7.8.2.	Configuración de la cámara	69
7.8.3.	Distorsión del lente	71
7.9.	Crecimiento del cultivo	74
7.9.1.	Primer cultivo	75
7.9.2.	Segundo cultivo	79
7.10.	Adquisición de pesos fresco y seco por el método tradicional	82
7.11.	Impacto del color	84
7.12.	Diseño de los programas	85
7.12.1.	PlantCV	86
7.12.2.	Python en Raspberry	89
7.12.3.	Matlab	90
8.	Resultados y análisis	95
8.1.	Ajuste de datos	95
8.1.1.	Peso seco	95
8.1.2.	Peso fresco	96
8.1.3.	Ajuste polinomial	96
8.1.4.	Ajuste de datos con Hermite cúbico	98

8.2. Evaluación de datos calculados por el sistema de monitoreo y por el método tradicional	100
8.3. Unificación de los programas	101
8.4. Análisis de resultados	102
9. Conclusiones	105
10. Trabajos futuros	107
Bibliography	109

Índice de figuras

5.1. Lechuga simpson cresspa - Fuente [5]	19
5.2. Espectro de absorción de los fotorreceptores - Fuente [6]	20
5.3. Cono del modelo HSV - Fuente [7]	21
5.4. Distorsión radial - Fuente [8]	22
5.5. Tipos de distorsiones por el lente - Fuente [9]	22
5.6. Las cuatro funciones básicas de Hermite - Fuente [4]	25
7.1. Funcionamiento del sistema	35
7.2. Espacio en la cámara de crecimiento #1	36
7.3. Segunda opción de cámara de crecimiento - (a) Caja de icopor número 2, (b) Cámara de crecimiento número 2	37
7.4. Cabina de flujo laminar	39
7.5. Herramientas de preparación - (a) Herramientas para esterilización, (b) Agar, sucrosa y Murashige and Skoon Basal medio, (c) Herramientas para preparación del medio.	40
7.6. Horno de calefacción	41
7.7. Arabidopsis en cajas Petri - (a) Caja Petri individual, (b) Multiple cultivo.	42
7.8. Esquemático de prueba para alimentación de los primeros LEDs	46
7.9. LED de potencia 3W	47
7.10. Funcionamiento del circuito de control con luces LED Standard difusas	48
7.11. Módulos LED azul - Fuente [10]	49
7.12. Optocoplador utilizado - Fuente [11]	51
7.13. Circuito de control de conmutación usando optocoplador	51
7.14. Relé utilizado - Fuente [12]	52
7.15. Circuito de conmutación usando relé	53
7.16. Circuito de control de iluminación	55
7.17. Conexiones y posicionamiento de componentes en protoboard	56
7.18. Proceso de soldadura y terminado del circuito - (a) Proceso de soldadura de los componentes del circuito en la placa de PCB, (b) Tabla de triplex montada con el circuito final.	57
7.19. Rediseño de caja externo - (a) Diseño externo de la caja 1, (b) Diseño interno de la caja 2	58
7.20. Ubicación de los componentes en caja 1	59
7.21. Cajas de poliestireno expandido: Diseño 1	60
7.22. Rediseño de caja externo - (a) Rediseño interno de caja, (b) Cámara Raspberry NoIR V2 conseguida.	61

7.23. Cubierta con el circuito - (a) Expectativa de ubicación de los elementos, (b) Circuito final implementado en la cámara de crecimiento 3	62
7.24. Pruebas del circuito dentro del segundo diseño de cámara de crecimiento	62
7.25. Cámara de crecimiento tres - (a) Esqueleto del diseño 3, (b) Resultado de cámara de crecimiento 3.	64
7.26. Pruebas del circuito dentro del tercer diseño de cámara de crecimiento	65
7.27. Raspberry Pi 3 B+ PinOut - Fuente [13]	66
7.28. Cámara Raspberry NoIR V2 - Fuente [14]	67
7.29. Aproximación de cobertura de cámara	68
7.30. Dimensiones prácticas de foto - (a) Medición Horizontal, (b) Medición Vertical.	69
7.31. Foto de la caja iluminada - (a) Foto de prueba de la cámara con plantas dentro (b) Foto dentro de la caja de poliestireno expandido con flash	70
7.32. Tablero con distorsión del lente	72
7.33. Tableros utilizados para la corrección de la distorsión del lente - (a) Tablero original diseñado, (b) Tablero piloto, (c) Identificación de esquinas de tablero piloto.	73
7.34. Resultados de la corrección del lente con diferentes iteraciones - (a) Corrección iterando solamente con una imagen, (b) Corrección iterando con 2 imágenes, (c) Corrección iterando con 15 imágenes.	73
7.35. Primeras lechugas de prueba - (a) Cultivo de lechugas simpson crespas de amigo, (b)Plantas para pesaje de prueba.	75
7.36. Recipiente utilizado para la siembra y crecimiento de las lechugas	76
7.37. Siembra de semillas de lechuga en algodón - (a) Siembra de 100 semillas de lechugas, (b) Elementos para la siembra en algodón.	76
7.38. Espacio destinado para el crecimiento y monitoreo del cultivo en la cámara de crecimiento	77
7.39. Proceso de riego de las plantas	78
7.40. Elongación inesperada de las lechugas	79
7.41. Preparativos para el segundo cultivo exterior - (a) Segundo recipiente utilizado para sembrar lechugas en el exterior, (b) Lugar de crecimiento del segundo cultivo exterior.	80
7.42. Lechugas después de 19 días de su siembra	81
7.43. Crecimiento final del segundo cultivo de lechugas	82
7.44. Último día del primer cultivo - (a) Lechugas después de 17 días de su siembra (b) Balanza utilizada para el pesaje de las lechugas.	83
7.45. Histograma del color en la lechuga grande - (a) Lechuga más pequeña del primer cultivo dentro de la cámara de crecimiento,(b) Distribución de Hue en la lechuga pequeña.	84
7.46. Histogramas del color en la lechuga pequeña - (a) Lechuga más grande del primer cultivo dentro de la cámara de crecimiento, (b) Distribución de Hue en la lechuga grande	85
7.47. Primera prueba de separación de planta - (a) Imagen de Arabidopsis en recipientes usada en PlantCV - Fuente [15], (b) Identificación de las Arabidopsis.	86
7.48. Impacto del valor del <i>Threshold</i> en la imagen - (a) Threshold 115, (b) Threshold 120, (c) Threshold 125.	86
7.49. Imagen de arreglo de lechugas usada en PlantCV - Fuente [16]	87

7.50. Rotación y conversión de espacio de la imagen - (a) Cultivo original sin procesamiento, (b) Imagen rotada -2° , (c) Conversión de RGB a espacio de color LAB.	88
7.51. Identificación y separación de las plantas - (a) Dilatación de la imagen, (b) Localización de plantas en la imagen, (c) Identificación de plantas por separado.	88
7.52. Diagrama de bloques del programa ejecutado en la Raspberry	89
7.53. Filtrado del color - (a) Planta sin filtro de color, (b) Planta con filtro de color.	91
7.54. Cuadros para comparación de áreas calculadas	92
7.55. Planta con cuadro utilizado para la comparación de áreas	92
7.56. Cámaras Raspberry - (a) Imagen N piloto, (b) Imagen obtenida con el promedio de las imágenes.	93
8.1. Ajuste lineal de la relación peso seco vs peso fresco	95
8.2. Ajuste de datos utilizando polinomio de grado 2 con la función spline - (a) Superposición de las muestras medidas y las calculadas con el polinomio de grado 2, (b) Función extrapolada obtenida con los coeficientes de polinomio de grado 2.	97
8.3. Ajuste de datos utilizando polinomio de grado 3 con la función spline - (a) Pesos obtenidos con los coeficientes de Hermite en las áreas registradas, (b) Función extrapolada resultante con los coeficientes utilizando un polinomio de grado 3.	97
8.4. Ajuste lineal de la relación área vs peso fresco	98
8.5. Función de Hermite - (a) Pesos obtenidos con los coeficientes de Hermite en las áreas registradas, (b) Función extrapolada de peso fresco en relación al área por el método de Hermite.	100
8.6. Diagrama de bloques del programa final de cálculo de indicadores de desarrollo de la planta	101
8.7. Segundo cultivo en etapa de crecimiento avanzada en relación al primer cultivo	103

Capítulo 1

Introducción

La humanidad está realizando avances tecnológicos a grandes pasos, en consecuencia, la tecnología que se desarrolla para la investigación de alternativas para un mundo sostenible y de las condiciones adecuadas para que el ser humano pueda habitar en ella son de gran importancia. En este mismo contexto, las investigaciones que buscan mejorar la eficiencia en el crecimiento de las plantas siguen constantes, cubriendo áreas desde la parte genética hasta la fenotípica, como en el caso de ÓMICAS [17].

Hasta ahora, hay lugares en donde cultivar de forma natural no es posible, debido a las condiciones climáticas del lugar, por lo general, es en lugares con bajas temperaturas y exposición al sol más prolongada o corta. Incluso, hay personas que prefieren cultivar su propia comida en donde viven, pero son lugares cerrados con escasa luz solar, lo cual impulsa a tener invernaderos con condiciones ambientales controladas para su cultivo. Por esta razón, estos trabajos serán muy importantes en los futuros viajes interplanetarios de reconocimiento, dadas las condiciones necesarias para que una persona pueda viajar y estar por el tiempo necesario que demande la exploración, por ejemplo, el oxígeno y alimento, no simplemente multivitaminas en polvo, también será necesaria la producción fresca [18].

Así pues, la alimentación de los seres humanos es quizás la más importante de nuestras necesidades futuras, ya que, la población mundial actual es de 7.000 millones de personas y la población estimada para el 2050 es de 9700 millones de personas [19]. Por lo cual, es necesario encontrar formas en las que se pueda reducir el tiempo de crecimiento de las plantas, optimizar su proceso de fotosíntesis y asegurarse del bienestar de la planta para que su cosecha sea adecuada para su consumo. Más aún, las plantas en su proceso de fotosíntesis, además de producir los carbohidratos necesarios para su desarrollo también son las encargadas de transformar en oxígeno el CO₂ responsable de parte del calentamiento global del planeta, proceso denominado captura de carbono [20].

Ahora bien, estudios indican que la exposición de las plantas ante luz roja y/o azul, ya sea en combinación o cada una por aparte, influyen en el crecimiento y la morfogénesis de las plantas [21] [22]. Ya que, estimulan los fotorreceptores encargados de controlar el desarrollo de la planta, estos fotorreceptores, el criptocromo y el fitocromo, para las luces azules y rojas, respectivamente, estimulan la elongación de las hojas e incrementan el peso fresco y seco neto de la planta [22]. También, otros factores, como la temperatura, son necesarios para inducir a

la etapa de floración de la planta para que su sistema detecte el cambio de estación y comience con su respectiva etapa haciendo florecer la planta recibiendo las condiciones necesarias, como energía y nutrientes [23].

En ese mismo sentido, los resultados obtenidos por estudios similares demuestran que el reloj circadiano y el fotoperiodo de la planta permiten incrementar la productividad de la planta *Arabidopsis thaliana* a través de la fotosíntesis ya que están fuertemente relacionados [22], [24], [25], [26], debido a que, al estar relacionada con su correspondiente ciclo realiza todos sus procesos con la energía necesaria recibida por la luz. Más aún, al modificar la intensidad lumínica que recibe la planta, es posible modificar la forma en la que crece la planta, aumentando sus características morfológicas [27]. De este modo, la manera en la que lo comprueban es a través de comparaciones entre las plantas modificadas genéticamente y su tipo salvaje (sin modificaciones), puesto que, al analizar su crecimiento en un mismo lapso, unas alcanzan un mayor desarrollo, por ejemplo, una mayor elongación de las hojas y más peso seco.

El objetivo principal de este trabajo es implementar un prototipo de sistema de monitoreo por medio del procesamiento de imágenes del crecimiento de plantas *Lactuca sativa* afectadas por el fotoperiodo. Para lograr esto, se debía diseñar un prototipo de monitoreo basado en análisis de imágenes de un arreglo de plantas que permite modificar el fotoperiodo. Cuantificar a través de la biomasa el desarrollo de la planta usando el procesamiento digital de imágenes. Y, comparar la biomasa obtenida con el prototipo de sistema de monitoreo y el método tradicional en peso seco y fresco.

Los objetivos fueron alcanzados de modo que se logró construir la cámara de crecimiento hecha de materiales que bloqueaban la mayor cantidad de luz externa y permitían la disipación del calor que generaban los componentes internos. También, se logró el ajuste del fotoperiodo utilizando luces LED y la captura de imágenes automática para un arreglo de plantas en una bandeja de germinación, registrando las etapas de crecimiento de la planta. Estos datos fueron utilizados para encontrar una relación entre el área foliar de la planta y el peso fresco obtenido por una balanza. Y así, se realizaron los análisis de las imágenes para cuantificar la cantidad de biomasa, peso fresco, peso seco y área foliar de una planta. Los cuales, correspondían a los datos reales debido al ajuste de datos hecho con la relación encontrada entre área foliar y peso fresco, cumpliendo con los objetivos planteados en el anteproyecto.

Se espera que este sistema permita en trabajos futuros identificar condiciones de crecimiento adecuadas usando procesamiento de imágenes en sus diferentes etapas, modificando el fotoperiodo y las intensidades de luz con diferentes longitudes de onda, y aprovechando las características biológicas de la planta, como los fotorreceptores para realizar la fotosíntesis y la sincronización del reloj circadiano, para de esta manera, lograr un aumento en la productividad de la planta.

Capítulo 2

Planteamiento del problema

La alimentación es una de las necesidades prioritarias de la humanidad, ya que, al tener un aumento en la población mundial, los recursos usados para abastecer a tantas personas son limitados. Además, algunos de estos recursos son muy demandantes, bien sea en el tiempo de consumo, contaminación que producen y el uso de otros recursos vitales, como el agua. Por ello, dentro de los objetivos del desarrollo sostenible se encuentran metas como el hambre cero (objetivo 2), acción por el clima (objetivo 13), producción y consumo sostenibles (objetivo 12) [28], las cuales tienen como objetivo darle una mejor calidad de vida a las personas, disminuyendo el hambre que sufren algunos y promoviendo el cultivo sostenible.

En ese mismo sentido, es importante resaltar que en Colombia el agro ha pasado a ser uno de los promotores de la economía, teniendo un crecimiento del PIB entre el 2010 y el 2017 del 25 %, consolidando además de eso nuevos empleos que ayudan el desarrollo del país [29]. Por ello, es importante tener en cuenta factores que permitan tener un desarrollo óptimo en los cultivos, de lo contrario, se seguirán malgastando recursos naturales necesarios para otras especies, como el agua.

Por esta razón, es necesario estudiar y tener presentes los parámetros que influyen sobre la morfología de la planta y también sobre la fotosíntesis, como lo es la luz, para obtener una producción de cultivos óptima en tiempo y calidad, ya que, la fotosíntesis es la promotora del desarrollo de la planta [30]. En ese mismo sentido, la falta de conocimiento de este tipo de control fenotípico en el desarrollo de la planta puede terminar en un uso innecesario de recursos, puesto que, al tratar de acelerar el crecimiento de la planta, podrían hacer mal uso de la energía lumínica en horas donde la planta se supone que debe hacer otros procesos nocturnos, lo cual desencadenaría un efecto de retraso en su crecimiento demandando más agua y nutrientes para finalizar su ciclo.

De esta manera, la motivación para este trabajo es contribuir a la investigación sobre el desarrollo de la planta, empleando métodos modernos de análisis de imágenes por medio de aprendizaje automático para estimación de Above Ground Biomass (AGB) y arquitectura basada en microprocesadores para controlar variables externas relacionadas con el crecimiento de la planta, por ejemplo, los fotoperiodos de la planta, intensidad de luz, entre otros. Así pues, se aplicaría en las diferentes etapas de crecimiento, con el fin de encontrar patrones de mejora en su crecimiento y producción relacionadas con la sincronización con su reloj circadiano y fotoperiodo. Igual-

mente, se pretende ampliar el conocimiento existente por medio de la ratificación de estudios previos como también la posible propuesta de factores novedosos que intervienen en el proceso.

Asimismo, la principal razón de localizar los puntos donde difieran los crecimientos ocasionados por la exposición a la luz, es que se pueda incrementar la producción por medio de la sincronización del fotoperiodo con el reloj circadiano es para que haya una alternativa sostenible del cultivo de alimentos puede beneficiar las personas que cultivan sus alimentos en casa, o hagan pruebas en invernaderos y hasta podría ser de utilidad en viajes espaciales, ya que, la comida es escasa y también es recomendable comerla fresca [18]. Además, Colombia también sería uno de los beneficiarios, debido a que, su economía se está solidificando en el agro, por ende, al tener una mayor productividad en el sector agrícola, seguiría subiendo su PIB y disminuyendo el desempleo, lo cual ayudaría a desarrollar el país.

Capítulo 3

Objetivos

3.1. Objetivo General

Implementar un prototipo de sistema de monitoreo por medio del procesamiento de imágenes del crecimiento de plantas *Lactuca sativa* afectadas por el fotoperiodo.

3.2. Objetivos Específicos

1. Diseñar un prototipo de monitoreo basado en análisis de imágenes de un arreglo de plantas que permite modificar el fotoperiodo.
2. Cuantificar a través de la biomasa el desarrollo de la planta usando el procesamiento digital de imágenes
3. Comparar la biomasa obtenida con el prototipo de sistema de monitoreo y el método tradicional en peso seco y fresco.

Capítulo 4

Justificación

El crecimiento poblacional de todo el mundo ha crecido en los últimos 3 años con una tasa promedio del 1.1 % [31], por esta razón, la cantidad de alimentos que se demandará para suplir las necesidades de la población van a incrementar y es por ello que es oportuno encontrar formas de obtener más alimentos por medio de la agricultura que no demanden grandes cantidades de recursos, y aquí es donde este sistema sería necesario para analizar el crecimiento de la planta y hacer una estimación de su producción.

En ese mismo sentido, hay estudios como [24], [22], [32], [26], [23] que comprueban que hay un incremento en la productividad cuando se sincroniza su fotoperiodo con el reloj circadiano de la planta, generando una oportunidad de estudio de su crecimiento para identificar las partes mejor desarrolladas por ese efecto y buscar una manera de optimizarla. Así pues, es necesario monitorear este crecimiento para saber en qué etapas se evidencia una mayor diferencia con respecto a las plantas creciendo bajo condiciones normales, y así, poder marcar estas etapas para un posterior estudio que muestre por qué ocurre y cómo tomar ventaja de esta característica para aumentar la producción.

Por su parte, existen programas como el caso de ÓMICAS [17], CGIAR [33] y la FAO [34], en donde se está buscando precisamente esta misma meta, aumentar la productividad en los cultivos. Por esta razón, es necesario realizar el sistema de monitoreo de su crecimiento, en donde a través de la biomasa se puedan plantear puntos de partida para realizar experimentos modificando otra variable independiente y comparar resultados y produzcan nuevos conocimientos.

Capítulo 5

Marco Teórico

En este capítulo se describen los conceptos teóricos más importantes en este proyecto. Se abarcan puntos como características morfológicas de la planta, indicadores de desarrollo de la planta, componentes electrónicos, ajustes por software, entre otros. Con ellos presentes, se sustentarán las decisiones tomadas debido a los cálculos obtenidos.

5.1. Procesos y características de la planta

En esta sección se sintetizan los conceptos utilizados para entender el objetivo del experimento e identificar las condiciones ideales para brindar un entorno adecuado a la planta.

5.1.1. Fotosíntesis

El proceso de fotosíntesis se puede describir comenzando por las hojas que son las que absorben la máxima cantidad de luz en los cloroplastos, los responsables de la fotosíntesis, quienes hacen su proceso simultaneo con el dióxido de carbono y el agua que entra a la planta. Así pues, el resultado de esta interacción libera la glucosa y el oxígeno, la glucosa es utilizada para la alimentación de la planta y el oxígeno es liberado por la misma cavidad donde entra el dióxido de carbono (la estoma) [35].

Fotosíntesis 2

Sirve para excitar los electrones a un estado que al sobrepasar un límite saltan hacia una cadena en donde elevan una gradiente de flujo de iones de hidrogeno de la estoma hacia el tilacoide, lo cual potencia una proteína llama ATP sintasa. Los electrones excitados son reemplazados por la oxidación de una molécula de agua produciendo así el oxígeno. [36]

Fotosíntesis 1

Los electrones que llegan bajos de energía por el primer proceso son potenciados en el segundo proceso nuevamente y transportados para producir NADP+ a NADPH [36]

5.1.2. Fotorreceptores

Las longitudes de onda de la luz que inciden en la planta juegan un rol importante en su morfología. Ya que, dependiendo de los fotorreceptores encargados de recibir esta luz (fitocromos, criptocromo y fototropinas) son capaces de transformar la energía electromagnética (fotones) a energía en forma de calor y eléctrica, para los siguientes procesos de la fotosíntesis. Así pues, los fitocromos son los encargados de recibir las longitudes de onda correspondientes al color rojo, las cuales están en un rango entre 600 y 750nm dependiendo del tipo de planta. También, están los criptocromos y las fototropinas, las cuales son las encargadas de recibir longitudes de onda en un rango entre 320 y 500nm [37]

5.1.3. Fotoperiodo

Se encarga de la regulación del desarrollo de la planta en respuesta a la cantidad de horas de exposición a la luz a la que este la planta. El fotoperiodo permite que las plantas cambien su etapa de crecimiento, ya sea floreciendo, reproduciéndose o germinando [38]. Así pues, el fotoperiodo se encarga de regular las etapas de la planta, el cual puede permitir que la planta pase de una manera más rápida de una etapa a otra dependiendo de las horas de oscuridad a las que está expuesta, por ello, en diferentes partes del mundo, las plantas crecen de una forma distinta.

5.1.4. Unidades de radiación fotosintética

Se han planteado diferentes términos que indican la intensidad lumínica en diferentes rangos de longitud de onda. Entre estos, se encuentra la Radiación Fotosintética Activa(PAR), el Flujo de Fotones Fotosintético(PPF), la Densidad de Flujo de Fotones Fotosintéticos(PPFD) y la Densidad de flujo de Fotones(PFD).

El término utilizado fue PPFD, ya que se requiere saber el flujo de micro moles que pasa por metro cuadrado en un segundo ($PPFD = \frac{\mu mol}{m^2 s}$) que la planta puede usar para la fotosíntesis. En adición, en distintas literaturas, los términos PPFD y PPF son intercambiables y hacen referencia a lo mismo, teniendo presente que es el número de fotones que llegan a los fotorreceptores lo que impulsa a la fotosíntesis[39].

5.1.5. Lactuca sativa

También conocida como Lechuga, es una de las plantas comúnmente sembrada en regiones semitempladas, gracias a sus características morfológicas que le permiten sobrevivir en ambientes no necesariamente fríos bajo la luz solar. Dentro de sus especímenes se encuentra la Black seed simpson, también conocida como simpson cresa, cuyas características destacan en que crece de forma abierta con las hojas semiarrugadas y tiene un corto ciclo de vida.



Figura 5.1: Lechuga simpson crespa - Fuente [5]

En la Figura 5.1 se muestran 2 ejemplares de esta lechuga simpson crespa. Igualmente, otra característica de esta especie es que puede tener un radio de 15cm de largo y una alcanzar una altura entre 20 y 30cm [5], ya que crece en forma de ramo. También, la lechuga es capaz de alcanzar un peso fresco de 93g y tiene un ciclo de 40 días [40], razón por la cual se siembra comúnmente, por su biomasa y corto ciclo para la cosecha lo que evita que las plagas puedan infectarla tan fácilmente. Así mismo, para obtener estos resultados, la planta requiere una intensidad lumínica de más de 300 PPFd. Y, al ser una planta de fotoperiodo largo, requiere exposición a la luz por más de 12h, ideal entre 16 y 18h [1].

5.1.6. Biomasa

Representa la cantidad de masa que hay por unidad de área (g/m^2). Para este caso en particular, puede representarse como el peso seco o fresco por unidad de área [41] [42]. Usualmente, la biomasa se calcula de forma destructiva, en donde se arranca la planta y se coloca en una balanza para así hallar su peso fresco, luego se deshidrata por medio de un horno y se halla el peso seco y se dividen los pesos por el área que ocupaba la planta viva. De esta manera, se encuentra la biomasa viva y la necromasa, respectivamente, utilizando el método tradicional, la ecuación 5.1 muestra como se calcula.

$$Biomasa = \frac{Masa}{Área} \quad (5.1)$$

La biomasa se utiliza cuantificar la cantidad de masa equivalente a la planta que podría obtenerse por unidad de área en un cultivo, y así, en un proceso de conversión de energía saber cual sería su cantidad proporcionada.

5.2. Emisión y captura

En esta sección se relatan conceptos de los componentes de emisión, modelo de color en el que se trabajó y la configuración necesaria para el dispositivo de captura para llevar a cabo el experimento.

5.2.1. Espectro de absorción

Las longitudes de onda que son útiles para los procesos de la fotosíntesis de las plantas están dentro del espectro de absorción. Esta varía dependiendo de la especie que se maneja, sin embargo, para el caso de la lechuga crespa simpson, tiene picos en el espectro de absorción ubicado entre 460 - 480 nm y 640 - 660 nm.

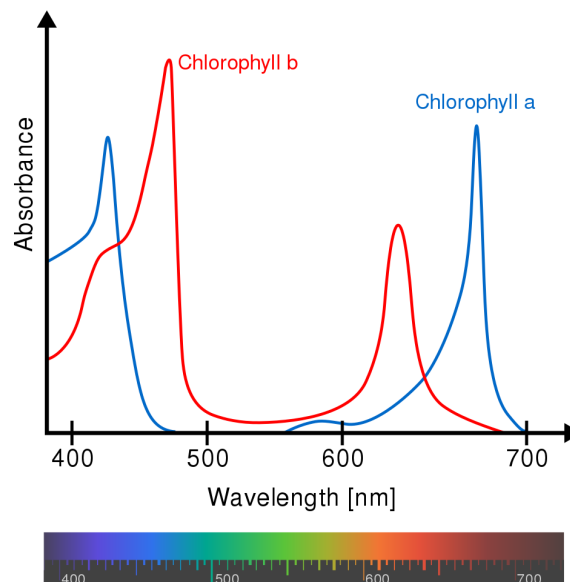


Figura 5.2: Espectro de absorción de los fotorreceptores - Fuente [6]

Como se observa en la Figura 5.2, tanto la **clorofila a** como la **clorofila b** tienen picos en diferentes longitudes de onda del espectro de absorción, indicando que sus fotorreceptores absorben diferentes tipos de luz para realizar sus procesos de fotosíntesis.

5.2.2. Diodos emisores de luz (LEDs)

Los diodos emisores de luz (Light Emitting Diodes (LEDs)) son dispositivos semiconductores usados para emitir luz a longitudes de onda específicas, y esta es la mayor característica de ellos, que pueden emitir una luz sin necesidad de usar filtros, sino que simplemente la generan dependiendo de los materiales de los que esté conformado y que además, sobresalen por su eficiencia energética [21].

Para emitir la longitud de onda específica, los LEDs se construyen con diferentes materiales semiconductores, por ejemplo, para alcanzar la longitud de onda entre 450 y 500nm correspondiente a la luz azul, se utiliza Indium gallium nitride (InGaN) y para alcanzar la longitud de onda entre 610 y 760nm se utiliza Aluminium gallium arsenide (AlGaAs) correspondiente a la luz roja [21].

5.2.3. Modelo HSV

El modelo HSV es una transformación no lineal del espacio de color RGB, en la cual, se define el modelo en término de los componentes Matiz, Saturación y Valor(brillo). En ese sentido, la matiz se utiliza para representar la región del color al que pertenece, la saturación indica que tan fuerte va a ser el color de la matiz, y el valor señala cuanto brillo representa en la imagen.

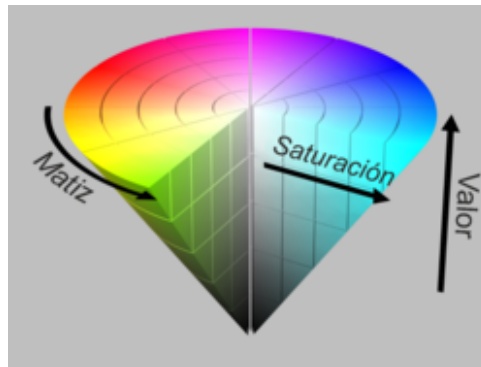


Figura 5.3: Cono del modelo HSV - Fuente [7]

En la Figura 5.3 se observa la interpretación gráfica del cono HSV. Su uso es más frecuente en actividades donde se requiere hacer uso de la progresión del color, en donde la matiz se representa con una región circular, mientras que, para la saturación y el valor se representa con una región triangular separada [7].

5.2.4. Distorsión por el lente

La distorsión en las imágenes es ocasionada por la difracción de la luz en el vidrio del lente de la cámara. El cual, al estar conformado por varias capas no uniformes ni planas, esto hace que la refracción varíe a lo largo del lente, y esta afecta más a medida que se acerca a los bordes de la imagen. la apertura focal que tenga la cámara, puesto que al recibir mayor información de puntos más alejados del centro donde se sitúa su enfoque, estos pueden verse afectados por distintos tipos de distorsiones, como el barril, corsé o mostacho [43]

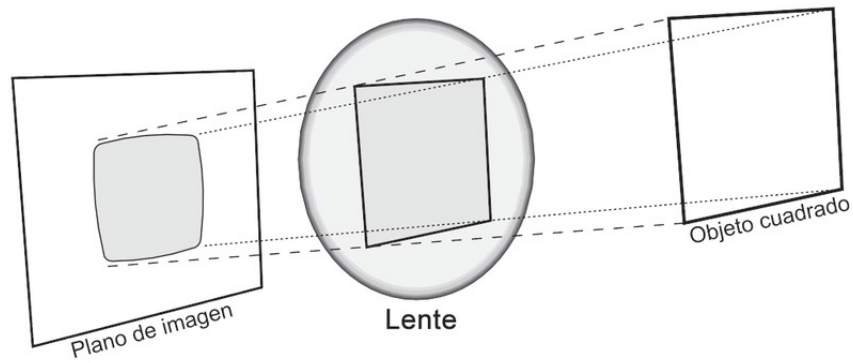


Figura 5.4: Distorsión radial - Fuente [8]

En la Figura 5.4 se muestra como es tomada la imagen de un objeto y esta información al ser recibida a través del lente, se deforma e imprime el resultado en el plano de la imagen con los lados un poco curvos.

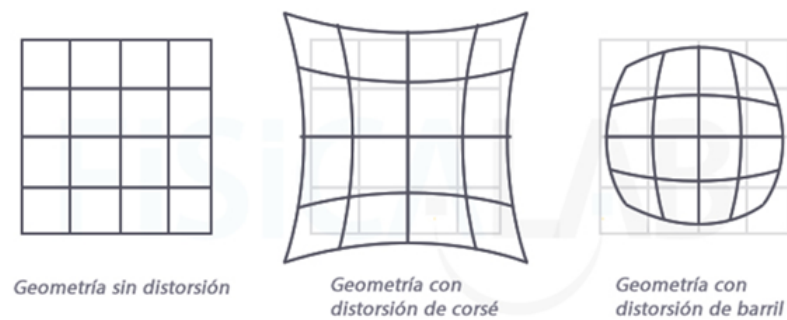


Figura 5.5: Tipos de distorsiones por el lente - Fuente [9]

Para el caso anterior, se observa que ocurre la distorsión de la tercera imagen en la Figura 5.5, Geometría con distorsión de barril. Sin embargo, además de los tipos de geometría mostrados en esta sección, también existen otras variaciones de distorsiones más complejas, y estas distorsiones dependen de tipo de cámara que se usa.

Así pues, para realizar la corrección de este tipo de distorsión se puede utilizar una herramienta de software con las librerías de OpenCV [24], en donde se corrige tanto la distorsión radial como la tangencial, que incluyen las distorsiones descritas en la Figura 5.5, en donde se usa la siguiente representación para los puntos con distorsión radial:

$$x_{distorted} = x(1 + k_1 r^2 + k_2 r^4 + k_3 r^6) \quad (5.2)$$

$$y_{distorted} = y(1 + k_1 r^2 + k_2 r^4 + k_3 r^6) \quad (5.3)$$

En donde x representa la resta entre el punto distorsionado y el centro de distorsión, k_n son los coeficientes de distorsión radial y r la distancia radial de los puntos distorsionados con

respecto al centro.

Después, se aplica una corrección a la distorsión tangencial, la cual ocurre de forma similar a la distorsión radial, ya que la imagen tomada por el lente no está alineada perfectamente de forma paralela al plano de la imagen, causando que algunas áreas se vean más cerca de lo esperado. Esta distorsión tangencial puede verse representada en software como:

$$x_{distorted} = x + [2p_1xy + p_2(r^2 + 2x^2)] \quad (5.4)$$

$$y_{distorted} = y + [p_1(r^2 + 2y^2) + 2p_2xy] \quad (5.5)$$

Por lo tanto, se deben de hallar los coeficientes de distorsión k_1 , k_2 , k_3 , p_1 , p_2 , con los cuales se podrá hallar la correcta posición de los píxeles y se reconstruirá la imagen sin distorsión.

5.3. Control y procesamiento

En esta sección se describe el funcionamiento de algunos dispositivos del sistema, junto con la descripción del software implementado y ajustes de datos realizados para obtener los resultados del trabajo.

5.3.1. Raspberry Pi

La Raspberry Pi es una placa de computador de bajo coste, en otros términos, se puede decir que es un computador miniaturizado con pocos accesorios integrados pero adaptable para integrar más externos y aumentar su funcionalidad. Con este dispositivo, se puede llevar el control de un pequeño sistema de una manera eficiente, ya que, su funcionamiento básico como se mencionó antes, es comparable al de una computadora y además su procesamiento es más veloz que el de un microprocesador.

En adición, una de sus entradas para hardware externo es para la cámara, cuyo driver se encuentra disponible en su sistema operativo y permite hacer las configuraciones de la cámara, como la resolución, rotación, captura de vídeo o imagen y almacenamiento de la misma.

5.3.2. Procesamiento en PlantCV

Plant Computer Vision(PlantCV) es una librería de python y otras plataformas compuesta de funciones para ser aplicadas en el procesamiento de imágenes de varios tipos de plantas, haciendo un análisis de los colores de los píxeles, ya esten en RGB del VIS o como también el NIR(Near infrared). Así, este puede separar completamente lo reconocido como materia viva de la inerte. Por ejemplo, resaltar solamente las partes de la planta por encima del suelo, omitiendo toda la tierra y suciedad que pueda afectar en cálculos de estimación como la biomasa. Así pues, en investigaciones previas se han realizado experimentos con este software en donde se alcanzan muy buenas estimaciones de biomasa por encima del 0.9 de R^2 (Coeficiente de determinación) [25], [44].

5.3.3. Regresión lineal

Es un ajuste lineal de un modelo matemático el cual consiste en generar un modelo basado en la ecuación de una recta que represente la mejor manera en la que todos los datos se relacionan linealmente, y, se encuentran a la menor distancia posible de dicha recta. Para ello, se hace uso de la aproximación por mínimos cuadrados para hallar la mejor manera de ajustar la recta a los datos [3]. Este modelo se describe a la siguiente ecuación:

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \epsilon \quad (5.6)$$

En la ecuación 5.6, β_0 equivale a las coordenadas del origen, β_1 a la pendiente y ϵ al error aleatorio que se encuentra desde el punto de la recta hasta el valor original del dato. Mientras que, Y es la variable dependiente y X es la variable independiente para la cual se halla esta relación.

5.3.4. Regresión polinómica

El ajuste por regresión polinómica difiere de la regresión lineal principalmente en que este permite que la relación que hay entre los diversos datos, no necesariamente debe ser una recta. Así, esta regresión permite que hayan puntos de inflexión y curvas que toleran el patrón que tiene la relación entre los datos. Sin embargo, para incorporar esta flexibilidad al modelo lineal, es necesario añadir nuevos predictores que se obtienen al elevar a múltiples potencias el predictor original. Así pues, partiendo desde la ecuación 5.6, se obtiene un nuevo modelo polinómico de grado n con la siguiente ecuación:

$$y_i = \beta_0 + \beta_1 x_i + \beta_2 x_i^2 + \dots + \beta_n x_i^n + \epsilon_i \quad (5.7)$$

Los modelos polinómicos se pueden ajustar mediante la regresión lineal por mínimos cuadrados, ya que, lo único que cambia, es que se agregan más términos elevados a distintas potencias. No obstante, es recomendado no utilizar el modelo polinómico con grado mayor a 4 debido al overfitting. Lo cual, causaría que los datos se ajusten mejor en el rango propuesto, pero al extrapolarlo, sus extremos se sobredimensionan [45].

5.3.5. Interpolador cúbico de Hermite

El interpolador o spline cúbico de Hermite está compuesto por la superposición de algunas de las funciones de Hermite más básicas. Así, este spline es comúnmente usado para interpolar datos numéricos y obtener una ecuación continua que represente su comportamiento.

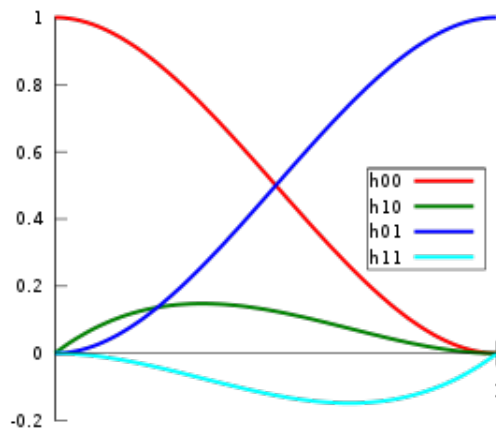


Figura 5.6: Las cuatro funciones básicas de Hermite - Fuente [4]

En la Figura 5.6 se muestran cuatro de las funciones básicas de Hermite, con las cuales, dependiendo del tipo de comportamiento que se espera obtener de los datos, se puede construir la gráfica de los datos del eje de las abscisas **normalizados**. Para ello, se hace uso de la siguiente representación del polinomio:

$$p(t) = h_{00}(t)p_0 + h_{10}(t)m_0 + h_{01}(t)p_1 + h_{11}(t)m_1 \quad (5.8)$$

En donde p_0 equivale al valor de inicio en $t = 0$, p_1 equivale al valor final donde $t = 1$, m_0 equivale a tangente(pendiente) inicial en $t = 0$, y m_1 equivale a la tangente final en $t = 1$. De igual forma, h_{00} , h_{10} , h_{01} , h_{11} son las funciones de hermite representadas en la Figura 5.6 y su expresión es la siguiente [4]:

- $h_{00}(t) = 2t^3 - 3t^2 + 1$
- $h_{10}(t) = t^3 - 2t^2 + t$
- $h_{01}(t) = -2t^3 + 3t^2$
- $h_{11}(t) = t^3 - t^2$

Así pues, al superponer las funciones que se necesiten se puede formar una gráfica con un comportamiento similar al de una gráfica de una distribución gaussiana acumulada.

5.3.6. Raíz del error medio cuadrado (RSME)

Es un evaluador de regresión que permite evaluar la calidad con la cual se ajustan los datos a un modelo de función asignado. Para ello, se utiliza la siguiente ecuación:

$$RMSE = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y})^2}{n}} \times 100\% \quad (5.9)$$

El resultado obtenido en 5.9 representa el porcentaje de error que hay entre los datos obtenidos con el modelo y los datos reales. Entre más cercano a 0 sea el resultado, significa que los datos están bien ajustados al modelo [46].

5.3.7. Error relativo cuadrado (RSE)

El RSE es un evaluador de regresión relativo a la escala de los valores evaluados, en donde se hace un promedio de los valores actuales. Entonces, la ecuación que evalúa un modelo individual es la siguiente:

$$E = \frac{\sum_{j=1}^n (P_j - T_j)^2}{\sum_{j=1}^n (T_j - \bar{T})^2} \quad (5.10)$$

En donde P_j es el valor obtenido con el modelo, T_j es el valor real y \bar{T} es el valor medio de los valores reales.

El resultado obtenido en 5.10 representa el porcentaje de error que hay entre los datos obtenidos con el modelo y los datos reales de forma relativa a la escala en la que se encuentran. Entre más cercano a 0 sea el resultado, significa que los datos están bien ajustados al modelo [46].

Capítulo 6

Estado del arte

6.1. Estimating above ground biomass of winter wheat at early growth stages using digital images and deep convolutional neural network

Juncheng Ma et al. en [47] trataron la problemática de lograr una estimación de biomasa aérea (Above Ground Biomass (AGB)) evitando usar los métodos de medición destructivos que toca hacerle a la planta y además de eso son muy costosos. Para ello, hizo el experimento de colocar cultivos de trigo de invierno en una de las áreas de China en un área de 5m x 2.4m, y tomarle fotos de manera vertical y aérea, para después, llevar a cabo un procesamiento de imágenes usando el Deep Convolutional Neural Network (DCNN), el cual se ha vuelto muy popular para estos tiempos en el estado del arte para el procesamiento de imágenes. Así pues, obtuvo unos resultados variados en la estimación, haciendo el análisis en escala de grises y a color, pero el que brindaba la mejor aproximación resultó siendo el que estaba en la escala de grises, sin embargo, usar el método de DCNN no era posible estimar AGB, por la falta de resolución de la cámara. Sin embargo, demostró que el DCNN tiene un gran potencial para la estimación AGB en el crecimiento de las plantas.

En ese mismo sentido, la metodología para llevar a cabo este experimento fue que, ya teniendo varias tramas de los cultivos, en donde cada cultivo tenía un área de observación que constaba de unas dimensiones de 1x1m marcados con una línea blanca, y estos deben tener un área uniforme para hacer estimaciones comparables. Entonces, se tomaron 17 fotos a cada trama después de la siembra, teniendo una base de datos de 612 imágenes ya que había 3 marcadores por trama, 3 densidades, y eran 4 tramas, logrando así, tener la suficiente información para analizarla con los métodos de DCNN. Así pues, la metodología empleada me sirve como referencia para mi metodología, ya que, es necesario hacer las tomas fotográficas diarias para tener una base de datos suficiente para el procesamiento de imágenes y también tener en cuenta las dimensiones de los espacios donde crecerán las plantas, para así llevar a cabo un buen proceso de comparación al final, tanto al medirlas con su misma especie como para compararlas con las mediciones de manera invasiva para comprobar su resultado.

Las similitudes de mi trabajo con el trabajo realizado previamente es que se va a llevar a cabo la estimación de biomasa por medio del procesamiento de imágenes utilizando las longitudes de

6.2. THE CIRCADIAN CLOCK REGULATES THE PHOTOPERIODIC RESPONSE OF HYPOCOTYL ELONGATION THROUGH A COINCIDENCE MECHANISM IN ARABIDOPSIS THALIANA

onda reflejadas por las hojas, ya que estas nos dan información de qué tan desarrollada puede estar la planta. De esta manera, las ventajas que tiene este trabajo en comparación al otro es que se analizarán en un ambiente controlado, en donde se tendrán las plantas separadas las unas de las otras por medio de recipientes que permitirán hacer un análisis más centrado, ya que, en este espacio abierto, fácilmente puede una de las hojas de otra planta tapar el área de la otra hoja, perdiendo información sobre su cantidad de biomasa.

6.2. The Circadian Clock Regulates the Photoperiodic Response of Hypocotyl Elongation through a Coincidence Mechanism in *Arabidopsis thaliana*

Yusuke Niwa et al en [48] trataron la problemática de explorar el mecanismo molecular en el cual el reloj circadiano regula la elongación de hypocotyl al hacer crecer semillas de variedades de mutantes de la planta *Arabidopsis* bajo diferentes fotoperiodos durante 25 días. Así pues, el experimento obtuvo diferentes resultados para cada mutación en donde algunas de las plantas manifestaban una elongación mayor a las demás dependiendo del fotoperiodo aplicado, probando que la elongación del hypocotyl es dependiente del fotoperiodo de una manera no lineal. Y, la manera en la que se empleó la metodología fue analizando su crecimiento desde las semillas hasta 25 días después de la germinación, midiendo la elongación de hypocotyl y comparándola con los demás experimentos para así encontrar una gráfica que permitiera contrastar el efecto que tenía el reloj circadiano y el fotoperiodo en ella, en donde se evidenciaba que la planta adaptada a su fotoperiodo tenía un crecimiento mayor. De esta manera, lo que me puede aportar para llevar a cabo mi metodología es tomar los fotoperiodos en donde se encontró un crecimiento mayor en la planta para implementarlo al sistema. De esta manera, se lograría que la planta crezca más rápido y ya concentrarse en la estimación de la biomasa para poder ver los efectos que puede tener el crecer más rápido con la productividad de la planta.

El objetivo de mi trabajo es hacer la estimación de biomasa cuando la planta está creciendo con condiciones de fotoperiodo favorables para comparar su efecto con las plantas que tienen un fotoperiodo del exterior. Este objetivo, tiene como similitudes con el trabajo realizado previamente en que se usa el fotoperiodo para controlar la morfogénesis de la planta, haciendo que esta se desarrolle de una forma más eficiente. De esta manera, las ventajas que tiene este trabajo en comparación al otro es que se añadirá un análisis de biomasa de la planta durante su crecimiento observando la evolución de su desarrollo.

6.3. Plant Circadian Clocks Increase Photosynthesis, Growth, Survival, and Competitive Advantage

Antony N. Dodd et al. en [24] trataron la problemática de que las plantas al estar expuestas a ciclos de exposición a la luz que no están sincronizados con su reloj circadiano están en desventaja frente a otros individuos de la misma especie que se encuentren en su ciclo correspondiente, al hacer una comparación entre las variables Peso seco, Peso fresco, número de hojas, y el diámetro de sus hojas al final del crecimiento de las plantas de especie *Arabidopsis thaliana* en el

experimento. Lo cual, obtuvo resultados que comprobaban su hipótesis que era comprobar que al sincronizar su reloj circadiano con su fotoperiodo iba a lograr un aumento en la productividad de la planta, y que no tener en cuenta este factor provocaría un decremento en el crecimiento y el desarrollo de la planta.

Para lograr esto, la manera en la que se empleó la metodología fue escoger 3 genes mutantes de la misma planta, pero cada uno tenía diferentes fotoperiodos, lo que le serviría para comprobar que al hacer la misma prueba con estos individuos expuestos al mismo fotoperiodo correspondiente al de uno de ellos, este que estaba correctamente sincronizado lograría una mayor productividad con respecto a los otros. Así pues, realizó mediciones de su crecimiento y estado de desarrollo cada 5 días, este proceso se repitió en todo su ciclo de crecimiento, pero con distintos fotoperiodos obteniendo el mismo resultado de que la planta con el fotoperiodo sincronizado era el que finalizaba con mayor producción. De esta manera, lo que me puede aportar para llevar a cabo mi metodología es considerar el fotoperiodo de la especie que voy a usar para lograr una productividad eficiente, ya que, este artículo comprobó su importante funcionalidad.

Uno de los factores similares importantes a mi trabajo es utilizar este fotoperiodo sincronizado con el reloj circadiano para poder tener una mejor productividad en la planta *Arabidopsis thaliana*, y finalmente, evaluar su productividad por medio de la biomasa obtenida en comparación con una crecida en condiciones de ambiente. De esta manera, las ventajas que tiene este trabajo en comparación al otro es que el monitoreo del crecimiento sería diario, estimando la biomasa de la planta para así detectar los momentos en donde esta relación está haciendo mayor efecto en la planta y dejarlo para una investigación posterior.

6.4. Lights, camera, action: high-throughput plant phenotyping is ready for a close-up

Noah Fahlgren, et al en [25] hicieron un recuento de las técnicas recientes de desarrollo de modelado y análisis de imágenes en plantas, resaltando el alto rendimiento que se tiene y los resultados obtenidos hasta ahora. Por eso, se explican los tipos de captura de imágenes que se pueden obtener para hacer el respectivo análisis, resaltando las ventajas que tiene captar más longitudes de onda para mejores aproximaciones de las mediciones, ya sea de biomasa o de forma de la hoja, etc. También, postean unos links de páginas que explican el funcionamiento de los softwares disponibles para trabajar, mostrando ejemplos con algunas de las plantas, entre ellas *Arabidopsis thaliana*.

Así pues, como el objetivo de mi trabajo es hacer una estimación de biomasa de la planta durante su crecimiento, puedo hacer uso de las páginas mencionadas, aprovechando el desarrollo hecho por ellos y documentándome con los ejemplos que hay.

6.5. Improved estimation of rice aboveground biomass combining textural and spectral analysis of UAV imagery

Hengbiao Zheng et al en [49] trataron la problemática de hallar un código para hacer la estimación de AGB por medio de uso de UAV con cámara multiespectral para cultivos de arroz. Así pues, a manera de tratar esta problemática fue tomando muestras de fotos y de elementos de un cultivo y analizándolas por medio de procesamiento de imágenes. El experimento mostró la comparación en la estimación de biomasa de los diferentes algoritmos y las ventajas de tener más longitudes de onda para la estimación. De esta manera, obtuvo como resultado que el algoritmo de index basado en textura con mejores resultados de estimación fue el NDTI, el cual fue un nuevo índice incluido en el estudio.

Así mismo, la manera en la que se empleó la metodología fue tomando muestras aleatorias de un cultivo ya existente, calcular su biomasa con los métodos tradicionales que son destructivos y después hacer el análisis con los diferentes índices de textura de las fotos tomadas, para así definir cuál era el mejor estimador. Por ello, lo que me puede aportar para llevar a cabo mi metodología es la base que me deja para poder llevar a cabo los experimentos, ya que, se requiere un método estimador de biomasa eficiente para poder ubicar los tiempos exactos en donde se presenta una anomalía en su crecimiento.

El objetivo de mi trabajo tiene similitudes con el trabajo realizado previamente en que se requiere estimar la biomasa de una planta por medio de índices espectrales o de textura, ya que se va a manejar imágenes para la estimación. De esta manera, las ventajas que tiene este trabajo en comparación al otro es que se va a hacer un seguimiento de crecimiento a un mismo cultivo en un ambiente controlado, por lo que podría usar algún otro algoritmo y una cámara más sencilla que las que se tienen para analizar las imágenes.

6.6. Estimate of winter-wheat above-ground biomass based on UAV ultrahighground-resolution image textures and vegetation indices

Jibo Yue, et al en [50] trataron la problemática de estimar AGB solamente basándose en el uso de VIs, ya que es difícil por razones como la saturación de la cubierta media-alta y que los órganos de los cultivos verticales son difíciles de detectar. Por ello, hicieron un experimento usando una ultrahighground resolution de la textura de imágenes combinado los índices de vegetación para obtener resultados más precisos. En ello, obtuvo diferentes resultados al usar solo índices de vegetación (VIs), usando la textura de las imágenes, y la textura de las imágenes con los índices de vegetación, concluyendo que la mejor forma de estimar la biomasa es haciendo uso de la combinación, ya que entregaba resultados más precisos que calculando cada uno por separado.

En ese mismo sentido, la manera en la que se empleó la metodología fue utilizando un cultivo existente, fotografiando los cultivos a una altura de 50m y analizando la textura de las imágenes generadas de 1- a 30-cm-ground-resolution images, para después hacer uso de la matriz basada

en imágenes de ocho tonos de dependencia espacial, todas las bandas de RGB fueron usadas para calcular las texturas. Y, lo que me puede aportar para llevar a cabo mi metodología es la consideración de combinar los dos tipos de estimadores, para obtener un resultado más preciso al momento de estimar el AGB.

El objetivo de mi trabajo tiene similitudes con el trabajo realizado previamente en que para estimar la biomasa se puede hacer uso de esos métodos de estimación, sin embargo las ventajas que tiene este trabajo en comparación al otro es que no va a ser necesario utilizar un algoritmo para eliminar objetos que pueden confundirse con la biomasa, sino que al crecer en un ambiente controlado se adecuará para que la cámara solamente perciba la biomasa de la planta.

6.7. Estimating Above-Ground Biomass of Maize Using Features Derived from UAV-Based RGB Imagery

Yaxiao Niu, et al en [51] trataron la problemática de buscar una estimación óptima del método de estimación de AGB para poder tener un indicador de agroecosistema y poder predecir la eficiencia del cultivo. Para ello, realizó un experimento en donde utilizó la altura del cultivo y el índice de vegetación (VIs) para lograr esa estimación de AGB. Por ello, obtuvo resultados en donde para estimar el AGB se usan modelos de regresión basados en la altura de la planta, se tenía una alta correlación con el AGB fresco y seco. También, cuando se utilizaba los VIs, se alcanzaba una buena estimación, sin embargo, al usar la regresión multivariable basado en los VIs, se obtenía la mayor correlación ($R^2 = 0.82$), y se pudo concluir que al combinar la estimación de AGB por medio de la altura y la regresión multivariable con VIs no se obtenía una mejora.

Así pues, la metodología usada en este trabajo se basó en tomar fotos RGB usando un UAV con una cámara fina a un cultivo en diferentes etapas de su crecimiento, después, se tomaban esos conjuntos del cultivo y se secaban para hallar su AGB con métodos tradicionales para después compararlo con los resultados del programa. De esto, lo que me puede aportar para llevar a cabo en mi metodología es la consideración en caso de ser necesaria de hacer un cálculo de regresión exponencial de AGB basada en la altura, ya que también arrojaba un alto valor de correlación, sin embargo, puede que no sea necesaria si solamente se considera la regresión multivariable basado en los VIs.

El objetivo de mi trabajo tiene similitudes con el trabajo realizado previamente en que la estimación de biomasa se hará por medio del método que ofrezca un estimador de biomasa aceptable, si las condiciones del método lo permiten, evitando usar algoritmos innecesarios. De esta manera, las ventajas que tiene este trabajo en comparación al otro es que la cámara que se usará para hacerle el seguimiento al crecimiento de las plantas va a estar fija, y que ofrezca la resolución necesaria para el procesamiento en VIS, de modo que se puedan sacar resultados confiables.

6.8. Estimating wheat biomass by combining image clustering with crop height

Michael Schirrmann, et al en [52] trataron la problemática de hacer una estimación de biomasa fresca y seca por medio de la recolección de imágenes y la estimación por altura del cultivo. Por ello, al hacer el experimento utilizando imágenes NIR y NDVI de trigo en una granja, y a estas aplicando la regresión lineal basada en la altura del cultivo, se obtuvieron los resultados de que con el NIR se obtiene una mejor estimación de biomasa que usando NDVI, pero esto se debe más que todo a la dispersión no lineal que había en el entorno, aún así, NIR entregó mejores resultados.

De esta manera, la forma en la que se empleó la metodología fue recolectar primero las imágenes usando cámaras que permitieran captar las longitudes de onda NIR y las RGB, después, se llevaba a cabo una segmentación de la imagen, donde se separaba todo lo que no perteneciera a la planta como tal, asegurando que la biomasa estaría calculada exclusivamente para esta. Luego, se implementaron los algoritmos para calcular la biomasa seca y fresca por ambos métodos y finalmente hacer un análisis estadístico para comparar resultados. Por lo tanto, lo que me puede aportar esta metodología para hacer la mía es considerar las longitudes de onda NIR, ya que también se han mostrado que son útiles para ayudar a la estimación de la AGB, y debido a que en este trabajo se probó que tener en cuenta la NDVI no dio un buen resultado, se descarta.

El objetivo de mi trabajo tiene como similitudes con el trabajo realizado previamente en la estimación de biomasa por medio de las imágenes de la planta.

6.9. Similitud entre los trabajos

Los estudios mostrados previamente sobre lo que hasta ahora se conoce de la morfología de la planta muestra como es afectada por el fotoperiodo y el reloj circadiano[48], en donde dependiendo de los ciclos de luz y oscuridad, esta puede llegar a inducir una aceleración en su crecimiento e incluso incrementar su biomasa, ya que estaría aprovechando el funcionamiento de los sistemas encargados de realizar la fotosíntesis e incrementar la productividad de la planta[24], sin embargo, los estudios realizados hasta ahora muestran como se calcula la biomasa de forma destructiva, es decir, tienen que arrancar la planta para poder hacer la medición de biomasa y finalmente comprobar si en verdad se llevó a cabo un aumento en la productividad. Así pues, nació la necesidad de implementar métodos de estimación de la biomasa de forma no destructiva, para así poder tener algún indicador de como está desarrollándose el cultivo, y una de las maneras más eficientes es por medio de imágenes.

Sin embargo, existen varios métodos de estimación de biomasa, por ejemplo, los estimadores que usan los índices de vegetación[49][50][51], estos hacen uso de operaciones matemáticas con los colores obtenidos de los píxeles de la imagen. Aunque, además de ser bastante precisos con la biomasa estimada según el coeficiente de determinación, se podrían hacer algunas mejoras a esa estimación, ya sea captando más longitudes de onda de onda hacia los NIR(900-1700nm)[25][49][50][52], como también haciendo uso no de uno sino de dos estimadores para mejorar la precisión. Igualmente, están los estimadores de biomasa por medio de la altura de la

planta[51][52], los cuales utilizan múltiples métodos de regresión, como el lineal o exponencial, en donde la exponencial tiene una mejor estimación de biomasa en comparación a la lineal[51]. De esta forma, es importante tener en cuenta que no siempre entre más aproximaciones se tengan en cuenta va a ser mejor la estimación, ya que, se mostró que considerando dos estrategias de aproximación, al combinarlas el resultado no varió nada[52] y lo que se hace es incrementar el trabajo del procesador.

En ese mismo sentido, además de tener estos métodos de estimación, adicionalmente se podría hacer uso de las Neuronas Artificiales, las cuales están siendo usadas en la actualidad[25], ya que son mecanismos que aprenden a reconocer la biomasa de los cultivos y pueden llegar a dar una estimación muy precisa al separar lo que no se reconozca como parte de la planta[47]. Aunque, el uso de esta DCNN requiere de un entrenamiento previo para que el algoritmo pueda reconocer lo considerado como biomasa, y esto significa también que se requerirá de un mejor procesador y memoria, pero como se mencionó anteriormente, da un resultado mucho más preciso, lo cual es lo necesario en los trabajos de investigación.

Capítulo 7

Metodología

La metodología empleada para este proyecto fue Teórica-Experimental, en donde se partió de estudios previos en donde se estimulaban las características morfológicas de las plantas, lo que llevó a generar hipótesis sobre como afectaría la luz en el desarrollo de una planta al utilizarla usando diferentes configuraciones. Para esto, se debió hacer una concepción, diseño e implementación de un sistema de monitoreo para analizar el crecimiento de la Black seed simpson. Y, junto con ello, hacer el cálculo de indicadores como el área que ocupa, el peso fresco, el peso seco y la biomasa de la planta, cuya función, era permitir concluir a partir de estos, como se está desarrollando la planta en su primera etapa del ciclo de vida.

En este mismo orden de ideas, se hizo la respectiva selección y comparación entre componentes electrónicos para el circuito diseñado y materiales para construir la cámara de crecimiento diseñada, donde se iban a cultivar las plantas. Esto, fue realizado para hallar una forma efectiva de construir un sistema funcional que permitiera llevar a cabo el experimento durante el tiempo propuesto. Además, se configuró la cámara para poder tener fotos de buena calidad y con distorsión corregida, lo cual, mejoró la predicción de los indicadores. También, se hizo uso de un script diseñado para identificación de vegetación en imágenes, el cual, facilitó el diseño del programa que calcula por medio de estas imágenes los indicadores de desarrollo de la planta ya mencionados. Finalmente, se hizo uso de regresiones e interpoladores para hallar una función que describiera el patrón de relación que había entre variables. Y así, hacer el programa para hallar los indicadores de desarrollo de la planta utilizando una imagen del cultivo.

No obstante, se obtuvieron diversas complicaciones durante el desarrollo del proyecto, tanto por la pandemia causada por el Sars Covid - 19, como también por el mal funcionamiento de equipos con los que se contaba. Por ello, los accesos a la universidad eran limitados, comenzando con un solo permiso a la semana para hacer pruebas con los equipos, algo que se planeaba hacer a diario en el anteproyecto. A pesar de esto, fue posible dar soluciones a los inconvenientes y se manejaron las situaciones utilizando recursos que se tenían a la mano. A continuación se describen cada una de las etapas del proyecto por separado para profundizar en como fue el proceso de concepción, diseño e implementación.

7.1. Requerimientos

Inicialmente, fue necesario establecer unos requerimientos que guiaran el proceso de construcción de la cámara de crecimiento. Puesto que las condiciones donde iban a crecer las plantas se querían que fueran controladas para así analizar la variable del fotoperiodo y concluir en base a esta. De esta manera, se necesitaba una cámara de crecimiento que se tuviera:

- Condiciones del entorno reguladas: temperatura y humedad
- Rigidez para su manipulación
- Oscuridad interna
- Imagen completa del arreglo del cultivo en crecimiento
- Captura de imágenes FHD o superior automática
- Iluminación suficiente para la captura de imágenes con claridad (Flash)
- Iluminación mixta de luces LED rojas y azules
- Control de los ciclos de iluminación con LEDs azules y rojos automático (Fotoperiodo)
- Cálculo de los indicadores de desarrollo (área, peso fresco, peso seco, biomasa)
- Tener un error de cálculo en las aproximaciones máximo del 15 %.

Una vez planteados los requerimientos del sistema, se procedió a hacer un diagrama de funcionamiento para identificar los procesos que tendría el sistema y así poder trabajarlos por separado.

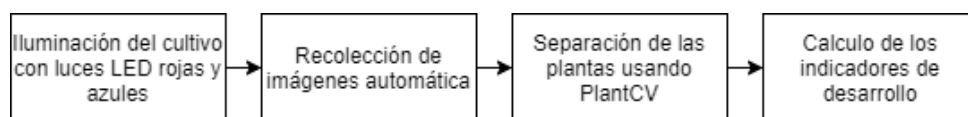


Figura 7.1: Funcionamiento del sistema

En la Figura 7.1 se muestra el funcionamiento que debería de llevar a cabo el sistema, y para cada uno de estos procesos se debió de realizar su respectivo diseño y selección de componentes para cumplir con los requerimientos. Una vez identificados los procesos, se procede a diseñar y realizar la funcionalidad de cada uno.

7.2. Incubadoras para el ambiente controlado de las plantas

Estas incubadoras se propusieron inicialmente en el proyecto ya que se contaba con su total disponibilidad en la universidad y estaban en buen estado. Sin embargo, como este trabajo fue elaborado durante el primer semestre del 2020, es decir, antes y durante los comienzos de la pandemia por el Sars Covid-19, la incubadora entró en un estado de desuso y eso afectó su funcionamiento. El espacio que se contaba dentro de la incubadora era el siguiente:



Figura 7.2: Espacio en la cámara de crecimiento #1

En la Figura 7.2 se muestra un espacio debajo de la rejilla con medidas de $90 \times 70 \times 60 \text{ cm}^2$ correspondientes a profundidad, ancho y altura respectivamente. Con este primer espacio se hicieron las mediciones y primeros diseños de cómo debía ser la cámara de crecimiento a diseñar con forma de caja, sus medidas y las condiciones bajo las que iba a estar el cultivo, las cuales eran refrigeradas a una temperatura constante, humedad regulada e iluminación proveniente de bombillas fijas.

No obstante, como se mencionó anteriormente, la cámara de crecimiento debido al desuso durante 5 meses aproximadamente dejó de funcionar y pasó a un estado de revisión, en donde se intentó contactar a los técnicos, pero, debido a la delicada situación por el Covid, el acceso a la universidad era difícil. Así pues, pasado un mes, aún no se conocía cuando podrían arreglar la cámara de crecimiento, y su expectativa era superior a 2 meses.

Después, dado a que la primera opción que se tenía para acondicionar el ambiente de crecimiento de las plantas se inhabilitó, se recurrió a la cámara de crecimiento número 2, la cual contaba con menor espacio que la inicial, pero con las características necesarias como control de temperatura y humedad que se requieren para el ambiente controlado.



Figura 7.3: Segunda opción de cámara de crecimiento - (a) Caja de icopor número 2, (b) Cámara de crecimiento número 2

En la Figura 7.3 se muestra como era el nuevo espacio del que se disponía en esta segunda cámara de crecimiento. Y así, se planeó distribuirse el espacio como se muestra en la Figura 7.3a, en el cual se aprecia como iba a llevarse a cabo el crecimiento de ambos cultivos, un cultivo creciendo fuera de la cámara de crecimiento diseñada para este experimento, y la caja que sería usada para monitorear y efectuar el crecimiento del cultivo bajo luz azul y roja. También, en la Figura 7.3b se muestra la posición en donde se encontraban las luces blancas incluidas en la cámara de crecimiento, que iban a estar a un fotoperiodo regular de 12h, para el cultivo externo.

No obstante, durante el proceso de ensayo con esta cámara de crecimiento, se encontró que no estaba funcionando el control de temperatura dentro de ella, inhabilitando también esta opción para tener un ambiente controlado.

También, se consideró la opción de solicitar permiso para utilizar un espacio en las incubadoras del CIAT o en la universidad ICESI. Sin embargo, sin importar si había espacio disponible y nos otorgaban el espacio para el experimento, debido a la situación de la pandemia, el trámite a seguir para obtener los permisos de ingreso y los protocolos que se debían de mantener, tomaría más tiempo esperarlos que lo que duraba el experimento de crecimiento.

7.3. Esterilización y acondicionamiento de plantas

Durante el proceso de arreglo de la cámara de crecimiento, con el fin de llevar a cabo el experimento de forma cautelosa y ver el efecto que tenía la variable a controlar, la cual era la luz, se procedió a manipular las semillas de *Arabidopsis thaliana* en un ambiente estéril dentro de una cabina de flujo laminar en el laboratorio de biología para esterilizarlas y poner en marcha su proceso de germinación, el cual, tardaba de 3 a 5 días. Mientras tanto, se preparaba su medio, lleno de los nutrientes y minerales necesarios en el cual iba a crecer durante 2 meses máximo, tiempo planeado para el alcance del experimento, aislada del contacto externo dentro de las cajas Petri, recibiendo la energía necesaria por las luces LEDs junto con sus minerales.

Para esto, se inició consultando la disponibilidad de los ejemplares de semillas y herramientas que se debían de manejar, para así, conseguir las por encargo o de otro laboratorio en caso de no tenerlas.

Fortuitamente, la universidad contaba con semillas de *Arabidopsis thaliana* en su espécimen wild, la cual tiene el fotoperiodo de día largo [53]. Para poder acceder a estas plantas independientemente a la universidad se requiere proceso administrativo primero, ya que, no son plantas nativas y su uso inadecuado puede afectar el medio ambiente local si se llegasen a reproducir. Además, un paquete de semillas de esta especie usualmente cuesta entre \$90 y \$120 USD, lo cual, gracias a la universidad, disminuiría el costo del proyecto.

Equipos/Material	Reactivos
Set de micropipetas	Etanol al 70%
Puntas estériles	Hipoclorito de sodio (NaClO) al 1%
Tubos de eppendorf de 1,5ml	Agua estéril
Gradilla para tubos eppendorf	
Falcon de 15 a 50ml	

Cuadro 7.1: Materiales para la esterilización de las semillas

En el Cuadro 7.1 se muestra la lista de materiales que fueron necesarios para llevar a cabo el proceso de esterilización. Y, el protocolo a seguir fue el siguiente:

Primero, se debía desinfectar completamente el interior de la cabina de flujo junto con las herramientas que se iban a utilizar como las que se mostraron en el Cuadro 7.1, para esto se utiliza el etanol y un papel absorbente. Esto para asegurarse que el experimento iba a tener el menor contacto posible con el exterior desde el principio.

Después, se tomaron dos muestras diferentes de distintos tubos de eppendorf, lo cuales contenían las semillas de *Arabidopsis thaliana* que tenían meses en reposo y se trasladaron a otros tubos de eppendorf vacíos sobre la gradilla que ayudaba a sostenerlos. Así pues, la finalidad de esto era esterilizar y aislar los grupos de semillas para tomar datos y contrastar cual de los cultivos se desarrollaría mejor una vez se plantaran. Ya que, si en el proceso de esterilización se metía una espora de hongo, esta contaminaría las semillas y por ende, el medio donde crece.

7.3. ESTERILIZACIÓN Y ACONDICIONAMIENTO DE PLANTAS

Luego, se agregaron 500 μ l de etanol al 70% utilizando la pipeta calibrada para cada muestra en los tubos de eppendorf con las semillas durante 5 min, mientras se hacía mezcla por inversión para que se revolvieran y se lograra la mayor desinfección. La función del etanol era romper las conexiones celulares que tienen las bacterias con las semillas, dejándolas expuestas para el proceso de limpieza.

Más adelante, se utilizó la misma pipeta para retirar el etanol de cada tubo de eppendorf, se cambió la punta estéril, se agregaron 500 μ l de hipoclorito de sodio y se repitió el proceso del etanol, solo que esta vez, fue durante 15 min. La función del NaClO era atrapar las bacterias que habían sido anteriormente despojadas de las semillas, esto para retirar estas bacterias del tubo de eppendorf donde estaban las semillas.

Posteriormente, una vez se extrajo el NaClO de los tubos, se agregaron 500 μ l de agua estéril y se repitió el proceso durante 5 min. Esto con el fin de lavar y remover el NaClO restante para que no afecte la germinación de las semillas, este proceso se repitió una vez más.

También, cabe resaltar que para cada uno de los pasos, se utilizaron distintas puntas estériles de un solo uso, esto para evitar pasar bacterias de un tubo a otro, y, todos los residuos del etanol, NaClO o agua eran desechados en el tubo Falcon de 15ml para mantener aislado el material contaminado.

Finalmente, una vez retirada el agua de lavado, se volvieron a agregar 500 μ l de agua estéril y se dejaron durante 5 días las semillas selladas a 4°C en una nevera dentro del tubo de eppendorf cubiertas con papel aluminio para impedir el paso de luz. Ya que, en esas condiciones de frío e imbibición de agua, ayuda a romper la dormancia de la semilla para que luego, al trasladarlas al ambiente de germinación y crecimiento, el porcentaje de germinación sea alto y homogéneo.

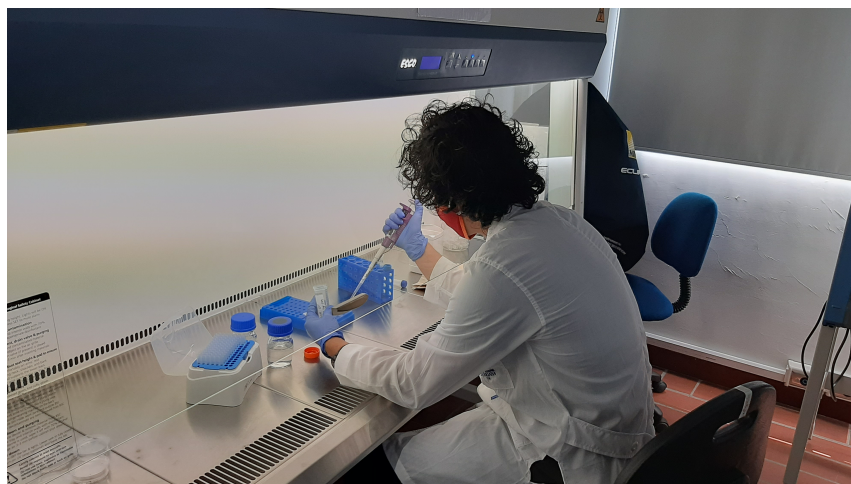


Figura 7.4: Cabina de flujo laminar

En la Figura 7.4 se muestra como se trabajaba con las herramientas dentro de la cabina de flujo durante el proceso de esterilización de las semillas. También, como la persona veía a través de un vidrio para evitar que entraran esporas y el flujo circulaba hacia arriba donde se

encontraba el filtro para tener el espacio lo más estéril posible.

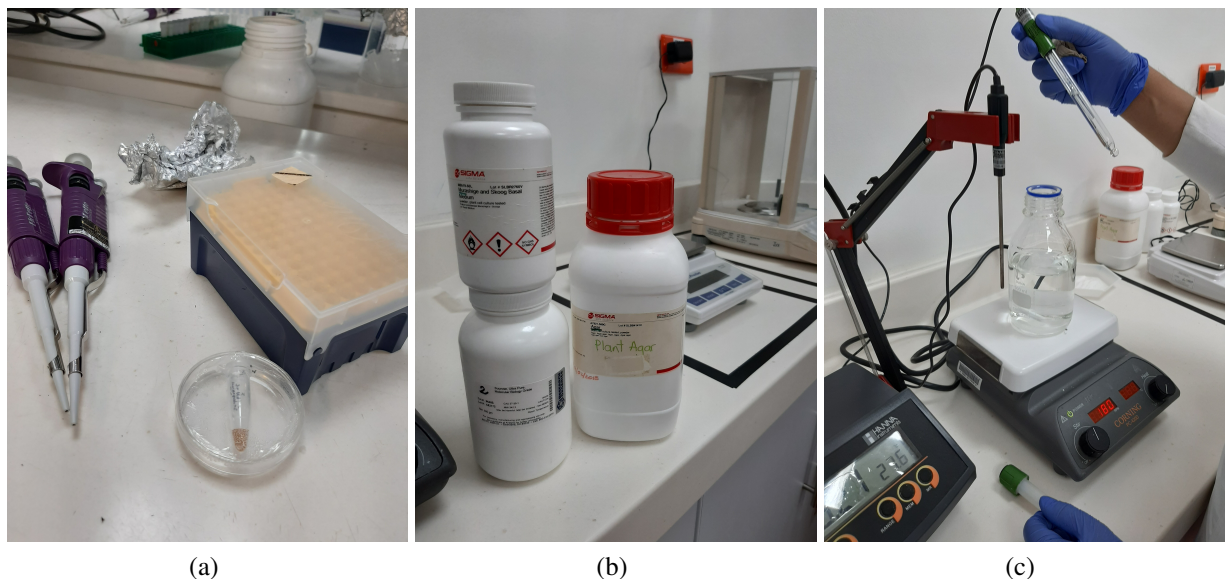


Figura 7.5: Herramientas de preparación - (a) Herramientas para esterilización, (b) Agar, sucrosa y Murashige and Skoon Basal medio, (c) Herramientas para preparación del medio.

En la Figura 7.5 se muestran algunas de las herramientas y productos que se emplearon para el proceso de esterilización y preparación del medio para las plantas *Arabidopsis thaliana*. En la Figura 7.5a se pueden observar pipetas, puntas estériles, una caja de petri y el tubo de eppendorf usados para la esterilización de las semillas de *Arabidopsis thaliana*. En la Figura 7.5b se muestran los productos usados para la preparación del medio en el que iban a crecer las plantas. En la Figura 7.5c se muestra el proceso de mezclado y medición de ph de las porciones utilizadas de los productos.

Ahora bien, para la preparación del medio en el que se iba a desarrollar la planta *Arabidopsis thaliana*, se utilizaron los productos en polvo mostrados en la Figura 7.5b, los cuales son **Murashige and Skoon Basal Medium**; cuya función era aportar micronutrientes y macronutrientes necesarios para el cultivo, **Sucrosa**; la cual está conformada por glucosa y fructosa necesarias para el desarrollo de las plantas, y finalmente **Agar**, este cumplía el rol de gelatina para contener estos nutrientes, de tal forma que la planta pudiera sumergir sus raíces y absorberlos de forma líquida como si los absorbiera de los nutrientes que lleva el agua cuando está sembrada en tierra.

Para esta mezcla, se utilizó el protocolo de preparación para 1 litro de medio, donde se utiliza 2.2g cantidad de Murashige and Skoon Basal Medium, 10g cantidad de Sacarosa y 0.5g cantidad de Agar. Así pues, para obtener estas cantidades, fue necesario utilizar un recipiente con superficie lisa para que no contuviera los restos de los productos en polvo, calibrar la balanza con el peso de este recipiente y después, depositarlas en un recipiente con agua estéril. El cual, se encontraba sobre un dispositivo que generaba un campo magnético hacía un imán que estaba dentro del recipiente para revolver y completar una mezcla homogénea entre los materiales. Luego, se utilizó una herramienta para medir el ph del medio preparado, y esta debía de

ser idealmente neutro, aunque para este caso, se tomó un ph con hasta 2 décimas menor al ph neutro (7), ya que al calentar la sustancia, se perdía algo de acidez.

Seguidamente, se llevó el medio hacia un horno de calefacción con el fin de autoclavar la sustancia, lo que significa, esterilizarla utilizando la temperatura. Se dejó en el horno por 2h y una vez autoclavada, se llevó a la cabina de flujo laminar mientras conservaba su alta temperatura en estado líquido para repartir el medio en sus respectivos recipientes, esto porque una vez se enfriara, tomaría un estado gelatinoso. Los recipientes utilizados fueron cajas petri, en donde se iba a crecer las *Arabidopsis thaliana*. Posteriormente se tomaron las 8 cajas petri, se taparon y se sellaron con cinta y se ingresaron en un refrigerador para mantenerlas aisladas del exterior para evitar contaminación.



Figura 7.6: Horno de calefacción

En la Figura 7.6 se muestra el horno de calefacción en donde se llevó a cabo el proceso de autoclavado y también de secado de las plantas. Este horno de calefacción se colocaba a una temperatura constante de 50°C para autoclavar las sustancias

Días después, se prosiguió a llevar a la cabina de flujo laminar las cajas petri y las plantas que habían sido esterilizadas previamente y estaban en su proceso de activación de la germinación para comenzar el proceso de siembra en el medio preparado. Así pues, se utilizó una pipeta junto con nuevas puntas desechables para extraer las semillas del tubo de eppendorf y colocarlas dentro de cada recipiente, que para este caso de prueba, se colocaron de a 3 semillas por caja de petri para así realizar estadísticas con una población de 24 plantas, ¿cuántas germinaban? y ¿cuántas se infectaban?

Entonces, debido a la falta de la cámara de crecimiento que estaba en mantenimiento, se dejaron las plantas dentro del laboratorio, ya que, adentro se mantenía una temperatura constante durante el día de 23°C y había iluminación por la luz blanca de las luces del laboratorio. Entonces, en busca de soluciones alternativas para la cámara de crecimiento, se dejaron las plantas por 5 días para que germinaran y ver cual era el comportamiento de su crecimiento en un entorno de laboratorio con una temperatura casi constante y una potencia lumínica proporcionada por

las luces blancas del laboratorio.

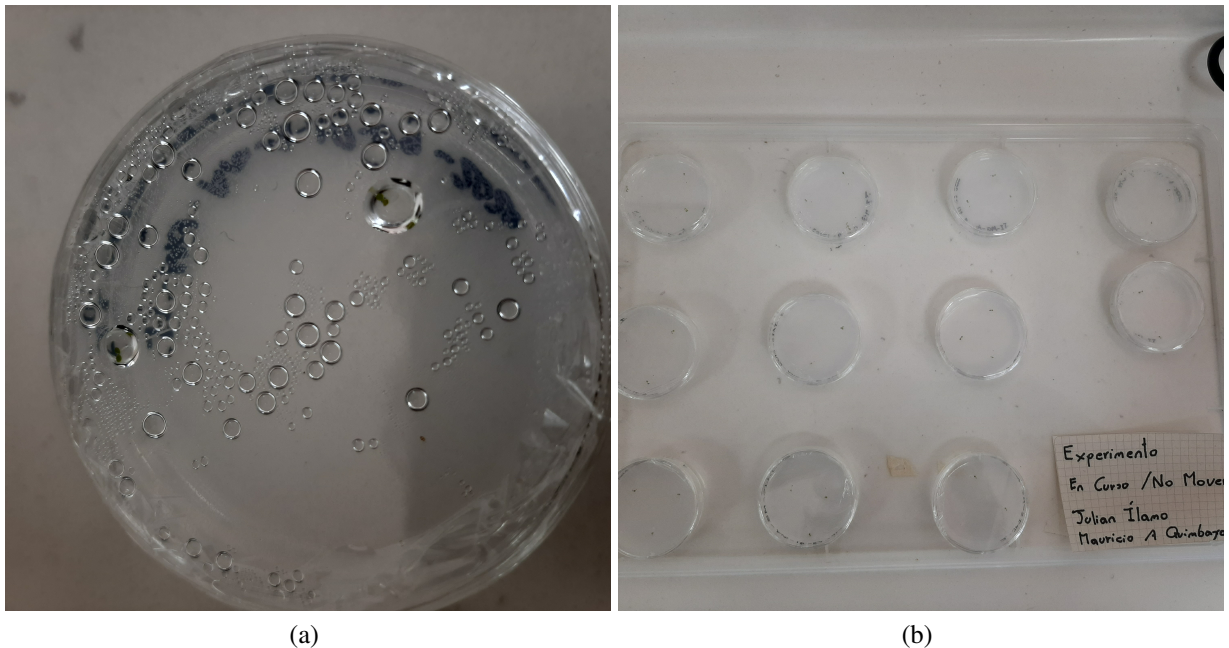


Figura 7.7: Arabidopsis en cajas Petri - (a) Caja Petri individual, (b) Multiple cultivo.

En la Figura 7.7 se observa como quedaron organizadas las cajas petri en el laboratorio, en un pequeño arreglo dentro de una bandeja transparente como se muestra en la Figura 7.7a y también lo que les sucedió a las plantas debido a los cambios de temperatura en el laboratorio, como se puede ver en la Figura 7.7b. Esto permitió percibir lo que podría pasar con las cajas petri dentro de la cámara de crecimiento diseñada para el experimento, cubiertas internamente por humedad y las superficies internas con gotas de agua, lo cual, distorsionaría la imagen de la cámara y no permitiría hacer una correcta estimación. También, se puede resaltar que las plantas presentaban una elongación del tallo fuera lo habitual, cuya razón era su necesidad por alimentarse de la poca luz que llegaba hacia ella, creciendo bajo estrés por la insuficiencia de potencia lumínica y desperdiciando energía que podría haberse reflejado en un crecimiento a lo ancho de sus hojas.

Sin embargo, a pesar de presentarse este resultado, se pudieron obtener algunos datos sobre la siembra de las semillas. Por ejemplo, de las 24 semillas, **20 lograron la germinación**, las otras nunca salieron de su semilla, dando por entendido que ya estaba dañada internamente. También, se observó que 2 plantas en diferentes cajas petri estaban contaminadas con un hongo, lo cual puso en riesgo a todas las demás plantas dentro de la caja sellada, porque este hongo se alimenta del medio preparado e infectaría las demás plantas progresivamente. Así, se llegó a pensar que el proceso de esterilización no se había realizado correctamente. No obstante, una semana después, se observó que a las plantas que estaban en correcto estado, también les comenzó a salir hongos, lo cual se le atribuye a su misma humedad interna, y que a pesar de estar selladas, estaban expuestas al ambiente del laboratorio.

Ahora bien, teniendo en cuenta los problemas presentados con las cámaras de crecimiento en la

7.4. SELECCIÓN Y COTIZACIÓN DE MATERIALES PARA LA CÁMARA DE CRECIMIENTO

universidad, el impacto del ambiente exterior en las *Arabidopsis thaliana*, el restringido uso de estas plantas solo dentro del campus y los permisos limitados para acceder debido a la pandemia; Se optó por cambiar las plantas a unas más fáciles de conseguir, que tuviera fotoperiodo y fotoreceptores similares para las luces LED azules y rojas. De esto se hablará más detallado en la sección 7.9.

7.4. Selección y cotización de materiales para la cámara de crecimiento

Para la selección de materiales se tuvieron en cuenta criterios basados en las circunstancias en las que iba a estar el material, las cuales eran en un ambiente con temperatura controlada, un espacio reducido en donde para ver como van las plantas debía de sacarse de ese espacio, resistencia ante la manipulación. Para cumplir con estos requerimientos, se tuvieron en cuenta las características de los materiales, junto con unos criterios de prioridad con respecto a la necesidad.

	Res. Temp	Res. Hum	Rigidez	Vibración	Costos	Asequible	plus one	Peso de decisión
Res. Temp	0	0	0	0	0	0	1	4,76%
Res. Hum	1	0	1	1	0,5	0	4,5	21,43%
Rigidez	1	0	0	0	0	0	2	9,52%
Vibración	1	0	1	0	0	0	3	14,29%
Costos	1	0,5	1	1	0	0	4,5	21,43%
Asequible	1	1	1	1	1	0	6	28,57%
Total							21	100,00%

Cuadro 7.2: Tabla definición de porcentajes de selección de materiales

En el Cuadro 7.2 se muestra la importancia que tienen las característica por separado con respecto a las demás, asignándole un 1 si las características de la columna donde se encuentran todas tienen más importancia con respecto a las que están de forma horizontal, y 0 en caso contrario. De esta forma, se definió el peso de la importancia que tiene cada característica del material para hacer la selección adecuada para construir la cámara de crecimiento y que tenga la resistencia suficiente para el tiempo de las pruebas.

Así pues, una vez definidos los pesos de importancia de las características, se pasó a hacer una lluvia de ideas de los posibles materiales con los que se podría construir una caja y la comparación de las características de cada uno, como se muestra en el siguiente Cuadro:

7.4. SELECCIÓN Y COTIZACIÓN DE MATERIALES PARA LA CÁMARA DE CRECIMIENTO

Puntuación máxima: 5	PORCENTAJES						TOTAL
	5%	21%	10%	14%	21%	29%	
Materiales opacos/Req	Res. Temp	Res. Hum	No Flexible	Vibración	Costos	Asequible	
Metales	5	5	5	3	1	4	3,57
Hojalata	5	5	2	3	3	4	3,71
Hierro	5	1	5	1	1	4	2,43
Cartón	3	1	1	5	5	5	3,67
Cartulina	3	1	1	5	5	5	3,67
Acero	5	5	5	1	1	4	3,29
Yeso	5	1	2	4	3	4	3,00
Aluminio	5	5	5	3	3	2	3,43
Madera	3	3	4	4	4	4	3,74
PVC	4	5	1	4	3	3	3,43
Icopor y derivados	5	2	2	4	5	5	3,93

Cuadro 7.3: Tabla de selección de materiales

En el Cuadro 7.3 se muestran las diferentes puntuaciones que tenían los materiales con respecto a las características definidas en el Cuadro 7.2, dándoles una puntuación de **1** como bajo y **5** como alto. Es importante resaltar que para algunos materiales se hizo una cotización en tiendas y con personas que manejan algunos materiales como metales.

Por ejemplo, para los materiales que son a base de metales, tales como el hierro negro, acero inoxidable e incluso aluminio, se cotizaron primero en los lugares donde se distribuyen, y la lámina de cada material era de 62, 600, 82 y 170 mil pesos respectivamente. Las medidas de cada una de las láminas era equivalente a $1.20 \times 3m^2$ con un calibre entre 16 y 20. Posteriormente, se recurrió a ir a una chatarrería, debido a buenas referencias externas de los materiales que se podían conseguir a menor precio.

Entonces, si bien era cierto que habían láminas en buen estado y más baratas, el precio seguía siendo relativamente alto con respecto a los otros materiales. Incluso, se le preguntó a las personas que podían realizar el proceso de construcción de la caja, incluyendo mano de obra y materiales, y el precio se estimaba en 150 mil como mínimo.

Después, se procedió a cotizar otros materiales como la madera, añadiendo sus derivados como el *triplex*, y se encontraron precios alrededor de los 50 mil pesos, dependiendo del grosor de la lámina. Sin embargo, a la madera iba a tocar agregarle también unas capas de barniz para que no se fuera a deteriorar durante el tiempo del experimento debido a la humedad que se podía liberar y generara basura dentro de la cámara de crecimiento.

Luego, se pasó a revisar el poliestireno expandido, el cual es un material barato, manipulable y que tiene algunos diseños ya construidos los cuales se usan como nevera para los vendedores de bebidas o helados. Aunque, algunos de sus problemas eran su resistencia y su aislamiento térmico, ya que, si no tiene mucho grosor, se puede romper con facilidad y el calor que se vaya generando dentro de la cámara de crecimiento se irá acumulando dentro, lo cual es malo para el crecimiento y desarrollo de las plantas al estar a altas temperaturas.

No obstante, al hacer las consideraciones con las herramientas que se iban a contar como un control de temperatura y la posición de las luces dentro de la cámara de crecimiento de la

Universidad, se podía modificar la caja para que fluyera aire adentro para que mantuviera la temperatura ambiente y los rayos externos de luz blanca afectaran en lo más mínimo las plantas que estaban creciendo bajo luz azul y roja. De esta forma, se encontró que el material que mejor se adaptaba a las necesidades es el poliestireno expandido.

7.5. Diseño del circuito de iluminación y control

En esta sección del diseño, se tuvieron en cuenta diferentes componentes de electrónica para el funcionamiento de cada etapa del circuito. Esto, debido a las características del sistema que se necesitaba, que podía ser adaptable a diferentes entornos si se requería añadir una carga más alta. Por ello, se divide esta sección en 3 etapas, las cuales fueron la selección de luces LED (7.5.1), la conmutación de iluminación (7.5.2) y la fuente de alimentación del circuito (7.5.3).

7.5.1. Selección de luces LEDs

Al momento de seleccionar las luces LED, primero se consideró adquirir algún tipo de panel, tira LED o bombilla [54] ya construida con características aproximadas de los requerimientos. Sin embargo, algunos estos dispositivos tenían dimensiones mayores a la cámara de crecimiento diseñada, o si cumplían con las dimensiones, tenían una baja potencia lumínica, lo cual, conllevó a descartar esta opción.

Así pues, se decidió diseñar y construir la iluminación unificando luces individuales. Para ello, se revisó un catálogo de LEDs que contenía los distintos tipos de LEDs que habían junto con sus características [55]. De esta manera, se podía determinar cual era el más apropiado para el experimento, llevando a encontrar 3 tipos de LEDs:

1. LEDs de 3W encapsulado star
2. LEDs Standard difuso
3. Módulo SMD 5730 LED de 0.72W

LEDs de 3W encapsulado star

Inicialmente, se consideró trabajar con LEDs de 3W encapsulado star, los cuales eran pequeños y tenían una alta potencia lumínica, de 44500 mcd (milicandelas), buenos para el limitado espacio con el que se iba a trabajar. Se realizaron cálculos de corriente y voltaje que se iban a manejar dependiendo de las características del LED, el cual funcionaba a un voltaje de polarización de 5V (V_d), la corriente con la que usualmente se trabaja era de 700mA (I_d) y como el LED es de 3W, se podía hallar una resistencia comercial que se aproximara a estos valores. Por ello, se empleó la siguiente ecuación para saber cual era el valor de la resistencia para que trabajara en máxima capacidad:

$$R_{LED} = \frac{V_f - V_d}{I_d} \quad (7.1)$$

Al usarse de fuente una pila de 9V V_f para esta prueba, y sustituyendo los demás valores, se encontró que la R_{LED} para usar su máxima capacidad debía tener un valor ideal de 5.71Ω. No

obstante, las resistencias comerciales más cercanas eran 5.6Ω y 6.1Ω , y, había que considerar que la resistencia debía aguantar más de medio vatio de potencia, de lo contrario se quemaría por la energía disipada. De esta manera, se eligieron las resistencias 6.1Ω debido a que si se disminuía la resistencia por debajo las 5.7Ω , pasaría más corriente a través de ella y podría fundir el LED. Además, entre las resistencias que se encontraron, una comercial de fácil adquisición fue de 6.1Ω de cerámica, con esta resistencia, la corriente que pasaba por la resistencia era de aproximadamente 660mA . Igualmente, se consiguieron 4 LEDs Azul y Rojo con longitudes de onda de $460 - 465$ y $620 - 625$ respectivamente, cercanas a la longitud deseada que era de 460nm y 640nm respectivamente. También, se adquirió un LED blanco que podría hacer la función del flash y se procedió a realizar el siguiente montaje en una protoboard:

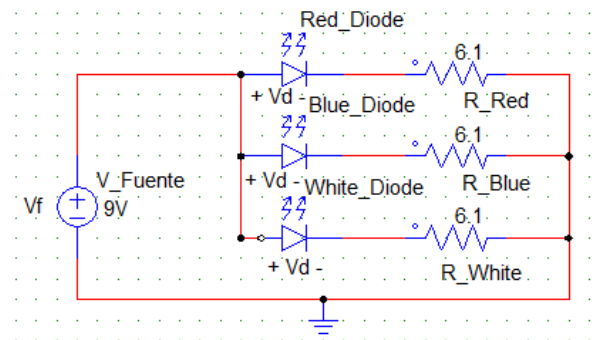


Figura 7.8: Esquemático de prueba para alimentación de los primeros LEDs

Las conexiones del montaje de prueba mostrado en la Figura 7.8 se realizaron pensando en la distribución de voltaje y corriente que tendría el circuito. Esto, porque al conectar los diodos en serie, la caída de voltaje que habría en cada LED, considerando que solo hay 3 LEDs más la resistencia, sería superior a 15V , y la fuente elegida proporcionaba 9V , llevando a la conexión en paralelo para sostener la tensión en cada camino. De la misma forma, se necesitarían 3 resistencias para que por cada camino, fluya la misma cantidad de corriente para que los LED funcionen a su máxima capacidad.



Figura 7.9: LED de potencia 3W

Como se puede apreciar en la Figura 7.9, un solo LED era capaz de emitir una luz de alta intensidad capaz de alumbrar parcialmente un cuarto a oscuras. Sin embargo, se tuvo un problema con estos LEDs de potencia, por un lado, representaba un aumento interno de temperatura en la cámara de crecimiento significativo y debido a la cantidad de energía emitida, los disipadores de su propia base calentaron el metal hasta llegar al punto de fusión de la soldadura en que los unía, derritiendo y separando sus materiales. Además, al forzar el LED a alumbrar para ver cuanto tiempo era capaz de mantenerse, solo se consiguió encenderlo por 3 min, después, se quemaba. Por lo cual, se consiguieron unas resistencias de 22Ω con el fin de reducir la corriente que pasaría por el circuito a 180mA, y, por ende, su potencia disipada, pero, con esta nueva configuración, a pesar de que la diferencia no era mucha, el LED encendía por un momento y se apagaba, y aunque se le colocara una resistencia menor, no volvía a encender hasta dentro de unos minutos. Por estas razones, se decidió descartar este LED para el experimento para evitar problemas de funcionamiento y temperatura.

LEDs Standard difuso

Los LEDs difusos se consideraron como opción de iluminación debido a los trabajos previos realizados con estos, ya se tenía garantía de que funcionaban por horas prolongadas y el calor se disiparía de forma distribuida al no tenerlos concentrados en un solo punto. No obstante, al haber una gran variedad de LEDs, las características que se eligieron fueron que tuvieran un ángulo amplio que cubriera todo el área de las plantas, entre $85 - 100^\circ$, y, que tuvieran una intensidad lumínica de 1100mcd y 390mcd, de super rojo(624nm) y azul real(460nm) respectivamente, los LEDs se llaman LEDs 5mm flat top. De esta forma, al ser relativamente económicos y pequeños, se podían adquirir varios y hacer una matriz de LEDs con la potencia necesaria para que las plantas pudieran desarrollarse.

Ahora bien, el catálogo de la tienda donde se buscaron los LEDs no era posible contactarla, ya que no respondían, y al buscarse en tiendas comerciales, no los tenían en el inventario y tampoco lo tenían sus distribuidores. Dejando como último recurso utilizar los diodos LEDs standard para hacer pruebas y averiguar si era posible trabajar con múltiples de estos.

Estos LEDs difusos standard tenían diferentes potencia lumínica y consumo energético, ya que su intensidad lumínica era de 600mcd, tanto azul como rojo y su consumo era de 3.4V y 2.4V funcionando a 20mA. Así pues, haciendo uso de la ecuación 7.1, usando su misma fuente, se pudieron encontrar las resistencias para que funcionara a su máxima capacidad, las cuales fueron de 330Ω para las rojas y 280Ω para las azules, encontrando resistencias comerciales de cuarto de vatio de 330Ω y 270Ω . Luego, se realizó un montaje en la protoboard para comprobar el correcto funcionamiento.

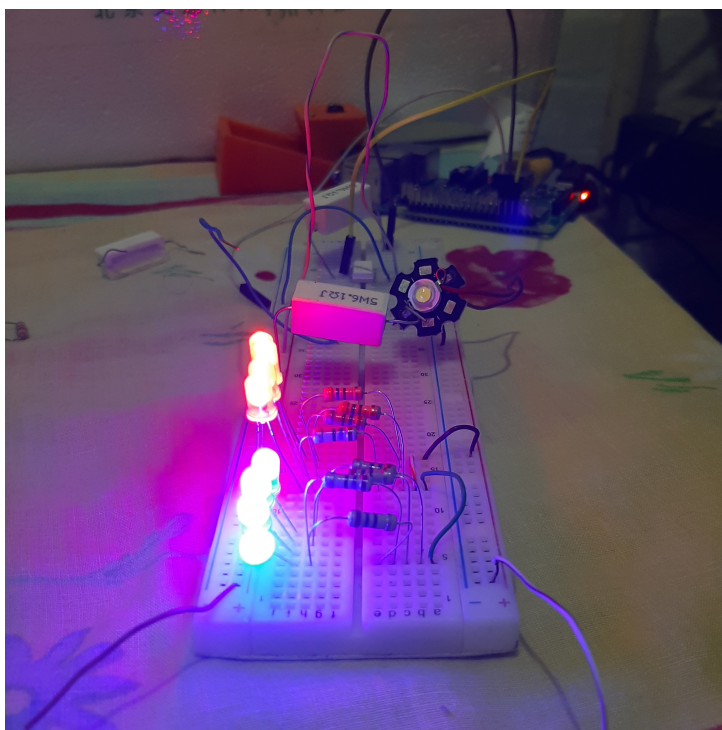


Figura 7.10: Funcionamiento del circuito de control con luces LED Standard difusas

En la Figura 7.10 se muestran unas conexiones basadas en el circuito implementado en la Figura 7.8. Sin embargo, al utilizar más LEDs difusos, no se veía un gran incremento en la potencia, lo cual, al estar alejados de las plantas, no sería suficiente para el desarrollo de las plantas, a menos de que se tuvieran teóricamente 243 LEDs entre rojos y azules.

Para hallar ese número de LEDs, se utilizaron dos software, uno calculaba la intensidad lumínica equivalente de mcd a lux ($1\text{lx} = 1\text{lm}/\text{m}^2 = 1\text{cd sr}/\text{m}^2$) dependiendo de la distancia a la que se encontrara el objeto de la fuente [56]. El otro software [57], calculaba la densidad de flujo de fotones fotosintéticos (PPFD - $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$) de la combinación de luces LEDs rojos(650nm) y azules(450nm) a partir de los lux calculados previamente. Luego, como la intensidad necesaria para crecer optimamente arabisopsis está entre 100 y 200 PPFD, para alcanzar los 100 PPFD se

requieren 1127 lx, y como cada LED difuso tenía una intensidad de 4.6lx, se necesitarían 243 LEDs difusos.

Entonces, por motivo de la cantidad de LEDs que se necesitaría y la inseguridad de su funcionamiento, se descartaron para el experimento.

Módulo SMD 5730 LED de 0.72W

Este módulo contiene en su interior 3 LEDs SMD 5730, que a pesar de que cada LED dependiendo del color tiene consumos distintos [58] [59], el módulo entero tiene especificaciones de consumo de 12V con una corriente de 60mA [10], llevando a entender que internamente tiene un circuito en donde están puestos en serie los LED para minimizar el consumo de corriente. Entonces, al revisar las especificaciones del módulo indican que tiene un flujo luminoso de 30 lm y un ángulo de apertura de 115°, en donde se hizo uso de otro software más preciso [60] para calcular sus PPF. En ese mismo sentido, teóricamente con los datos de luminosidad, ángulo de apertura y distancia que se tienen, se necesitarían por lo menos 33 de estos módulos para alcanzar los 100 PPF necesarios para las plantas.

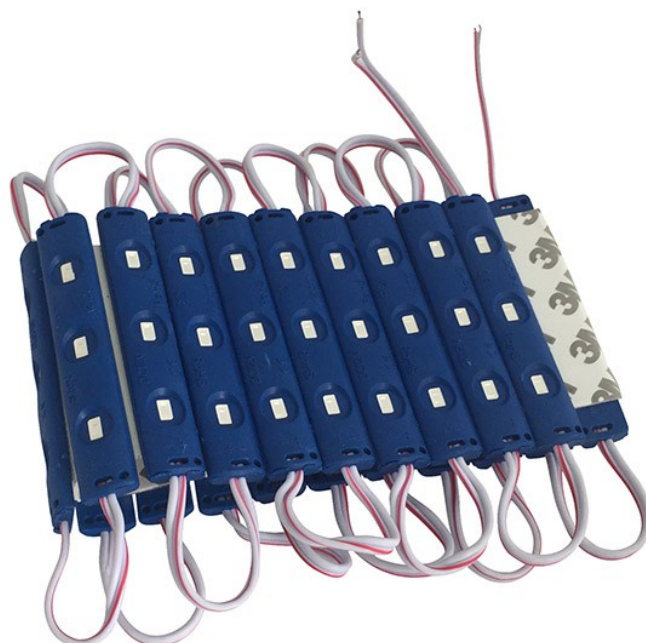


Figura 7.11: Módulos LED azul - Fuente [10]

No obstante, solo se consiguieron 12 de estos módulos, 6 azules (Figura 7.11) y 6 rojos para el experimento. El espacio que se tenía disponible en la cámara de crecimiento era reducido y no había lugar para todos estos módulos, llevando a tener solamente 36.23 PPF. Aunque, en la sección 7.9.1 se explica como se hizo para concentrar un poco más esta cantidad de lux a la misma distancia. Además, se tenía entendido que *Arabidopsis thaliana* tiene esos 100 PPF

como los óptimos para su crecimiento, pero puede crecer con menos a un menor ritmo.

Después, se hicieron pruebas por 3 días con estos módulos, comprobando que su funcionamiento era adecuado durante las 18h que iban a estar encendidos, y que, no disipaban tanto calor como los primeros LEDs de 3W. Lo cual, conllevó a seleccionar estos módulos para el experimento.

Luego, para verificar estos cálculos teóricos, se hizo una medición de lux utilizando un luxómetro prestado por la universidad, y se colocó en el lugar donde estarían las plantas para saber realmente cuantos lux le estaban llegando. El resultado fueron 425lx, equivalentes a 37 PPFD aproximadamente con LUX dual LED red and blue según el software [57] para calcular PPFD a partir de lux. Así, el error relativo que tenían los cálculos teóricos con respecto los obtenidos con el luxómetro y convertidos a PPFD fue de 2.08 %, que es un error aceptable para esta etapa de diseño.

En adición, cabe decirse que para el flash, se pensó en utilizar 10 diodos LED difusos blancos, pero al tener tan baja potencia lumínica, las imágenes capturadas aparecían oscuras. Por ello, se adquirieron 3 módulos más con LEDs blancos, con lo cual, se solucionó este problema de iluminación para la imagen.

7.5.2. Conmutación de iluminación

Para el control de los dispositivos de conmutación que iban a activar las luces durante el fotoperiodo diurno por medio de señales digitales de la Raspberry. Ya que, por cuestiones de seguridad, es necesario separar los circuitos de control de los de potencia para evitar daños mayores, se consideraron las opciones:

- Optocoplador
- Relé

Optocoplador

Se consideró usar el optocoplador ya que este no requería de elementos adicionales, solo necesitaba un voltaje de consumo y la corriente para que fluyera entre los pines de ánodo y cátodo para activar el LED infrarrojo interno con el que cuenta, el cual polarizaría el transistor interno y permitiría el paso de voltaje y corriente de colector a emisor, activando las luces LED.

Optocoplador 4N25

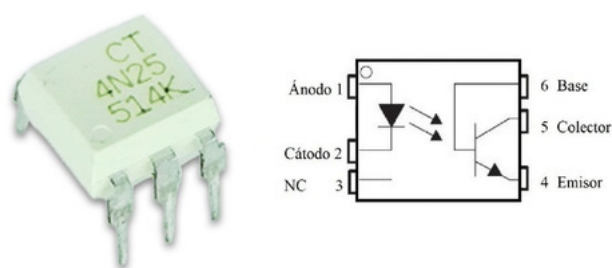


Figura 7.12: Optocoplador utilizado - Fuente [11]

El optocoplador utilizado fue el 4N25, cuyo diseño contaba con 6 pines, 2 de ánodo y cátodo, 3 del transistor y uno sin función. Para activar el LED infrarrojo, se necesitaba 3V y una corriente de 50mA entre el ánodo y cátodo [61]. Entonces, se implementó el siguiente circuito para probar el dispositivo:

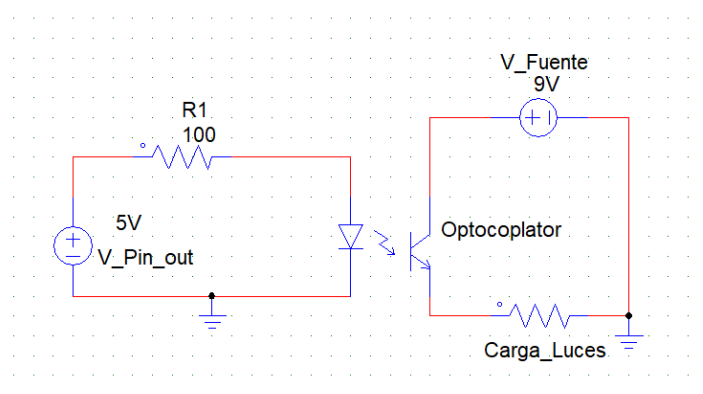


Figura 7.13: Circuito de control de conmutación usando optocoplador

En el circuito de la Figura 7.13 se muestra en el lazo izquierdo que se coloca una resistencia de 100Ω , esto se hizo para que fluyera una corriente de 50mA, la cual era suficiente para encender el LED infrarrojo al máximo y proteger los pines de la Raspberry de un corto al tener un elemento donde se disipa el calor. Por otro lado, en el lazo derecho se observa que está el circuito independiente de las luces, para que cada vez que los pines envíen una señal, se cierre el circuito y se enciendan las luces. La corriente que había en el lazo derecho era la máxima que podía otorgar el transistor debido a que la luz infrarroja que controlaba la corriente del lazo colector - emisor desde la base del transistor, estaba en su punto de excitación máximo.

No obstante, se tuvo un problema con el optocoplador, ya que al momento de hacer las pruebas con los LEDs, se estimaba una demanda de corriente de 300mA, pero los LEDs estaban alumbrando con menor intensidad que cuando se conectaban directamente. Por ello, al revisar más detalladamente la documentación del optocoplador, se descubrió que solamente puede fluir una corriente máxima de 100mA entre colector y emisor, lo cual no era suficiente para el funcionamiento del lazo independiente de las luces.

Relé

Este componente de conmutación fue la segunda consideración debido a su forma de activación. Para ello, al ser un componente de conmutación electromecánico, debía de recibir 5V para accionar la conmutación, pero los pines GPIO de la Raspberry utilizan 3.3V para un 1 lógico. Por esto, debía haber otro componente que amplificara la señal de salida del GPIO o utilizar un switch que permita la entrada de otra fuente de 5V que accione el relé.

Por lo cual, entre las opciones de amplificación de señal, se consideró el módulo elevador de potencia y un transistor darlington para elevar la corriente de la señal. Sin embargo, estas opciones eran muy robustas para la ocasión. Entonces, se pensó en utilizar una configuración más sencilla, en donde se utilizó un transistor como switch de uno de los pines de potencia de la Raspberry, los únicos que tienen un output constante de 5V.

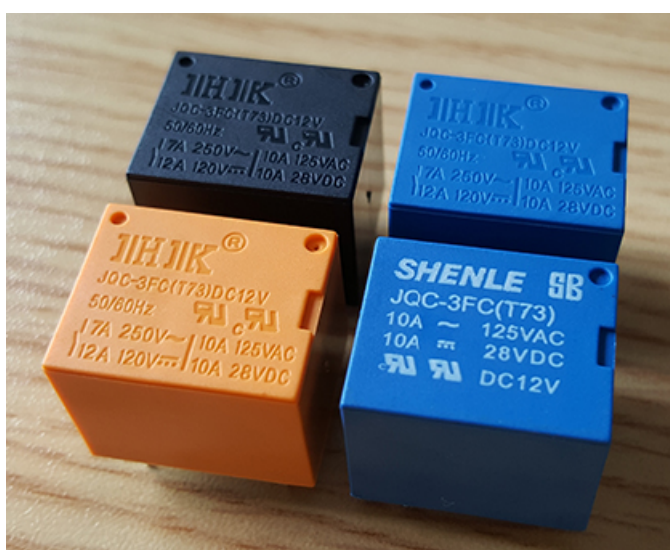


Figura 7.14: Relé utilizado - Fuente [12]

El relé utilizado para el circuito fue el JQC 3FC mostrado en la Figura 7.14, cuyas características al ser de conmutación electromecánica, permiten el paso de 125VAC o 28VDC a 10A, perfecto para las condiciones con las que se trabajó.

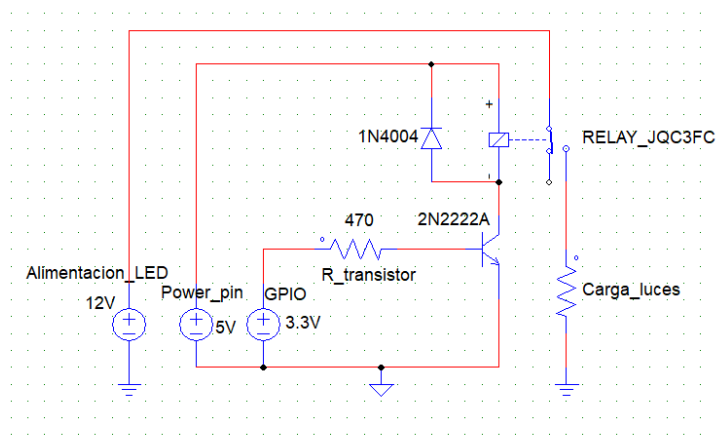


Figura 7.15: Circuito de conmutación usando relé

En la Figura 7.15 se muestra el circuito implementado para la conmutación del relé, con una resistencia que fluyera una corriente de 10mA en el lazo base - emisor del transistor, y esta diera paso teóricamente a una corriente máxima de más de 1A en el lazo colector emisor, sin embargo, solo se usaron 66mA para activar el relay. También, se coloca un diodo de protección entre el colector y la fuente de 5V en caso de que halla un corto, tenga un puente para aterrizar la conexión y no queme otros componentes. De esta forma, al activar la fuente del pin GPIO, fuirá una corriente de 10mA en el lazo base - emisor, habrá una caída de voltaje de 0.7V que consume el transistor y será suficiente para activar el lazo colector - emisor, el cual, activará el relay dando paso a la fuente de potencia que alimentará las luces LEDs implementadas con la suficiente corriente para que emitan la máxima intensidad lumínica.

De esta forma, las pruebas realizadas fueron exitosas y se eligió trabajar con este relé y su configuración de activación.

7.5.3. Alimentación del circuito

Teniendo en cuenta los dispositivos en la sección 7.5.1 y 7.5.2 y junto con ellos, los consumos de voltaje y corriente que se iban a manejar para su funcionamiento, se procedió a buscar los reguladores de voltaje para conectar a la red energética, teniendo en cuenta la corriente que demandaría el circuito.

Inicialmente, como se había planeado la construcción de la cámara de crecimiento con las luces LED de 3W encapsulado star mencionados en la sección 7.5.1, se planeaba utilizar por lo menos 2 LEDs rojos, 1 LED azul, y uno blanco para el flash, cada LED consumía 700mA aproximadamente a 9V, el consumo de cada transistor para activar el Relé, se estimó en 100mA, ya que en la base entraban aproximadamente 1mA por ser un pin GPIO. Por lo tanto, el consumo de corriente máximo en el caso donde todo estuviera encendido al mismo tiempo, sería de 3A. Luego, en el caso de funcionamiento común, solo estarían funcionando los LEDs rojos y azules sin el flash, se consumiría 2.2A. De esta manera, se buscó un regulador con output de 9V a 3A, suficientes para el manejo del circuito.

No obstante, al momento de descartar los LEDs de 3W encapsulado star, y elegir los módulos SMD 5730 0.7W, se tuvo que cambiar el regulador que se tenía. Y, como se tenían 15 de estos módulos, cada uno consumía 60mA a 12V, el consumo de todos los módulos encendidos al mismo tiempo era de 900mA, más el de los transistores, era de 1.1A, que era el caso de consumió máximo. Sin embargo, el consumo normal del circuito sería con solo 12 módulos funcionando, que era el de los LEDs azules y rojos, obteniendo un total de 920mA. Entonces, se consiguió un regulador con output de 12V a 1A, lo cual bastaría para alimentar el circuito en las condiciones del experimento.

Con este regulador se llevó a cabo el primer cultivo del experimento, sin embargo, después se decidió añadir más módulos LED al circuito, lo cual incrementaba el consumo y este regulador ya no sería suficiente. Ahora, como la cantidad de módulos era de 23, el caso de consumo máximo daba 1.58A, y el caso de consumo ordinario con 20 módulos era de 1.4A. Por ello, se consiguió un regulador con output de 12V a 2.33A, lo cual era suficiente para suplirle la energía al circuito sin complicaciones.

7.5.4. Construcción del circuito final

Ahora bien, una vez definidos los materiales, desarrollado esquemáticos y realizado pruebas del circuito por bloques, se procede a unificarlos y acoplarlos para llevar a cabo el experimento y comenzar a obtener resultados. Se hizo el esquemático del circuito completo como se muestra en la Figura 7.16.

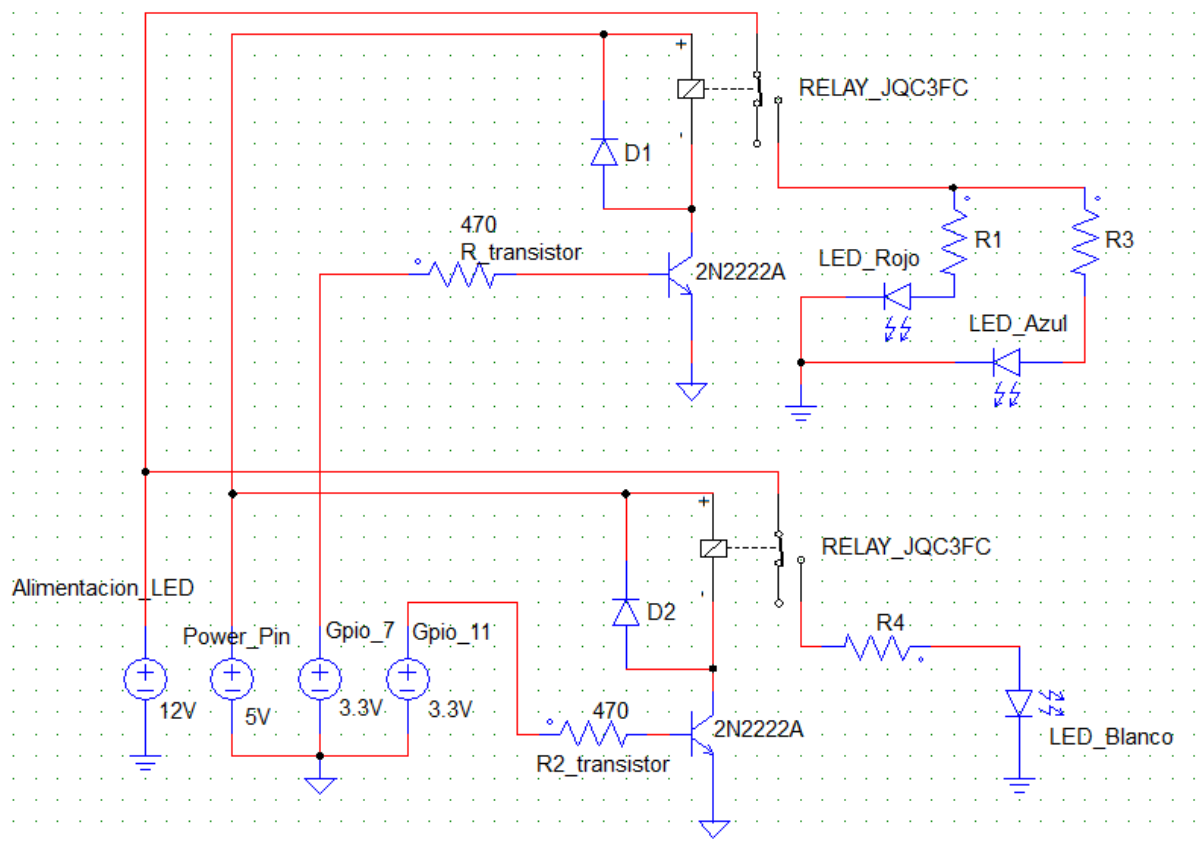


Figura 7.16: Circuito de control de iluminación

Como se muestra en la Figura 7.16, están ubicados todos los componentes descritos a lo largo de la sección 7.5. Además, como durante el diseño de las etapas se tenían en cuenta los tipos de entradas y salidas que se requerían, el acoplamiento del circuito no tuvo problemas.

Después, una vez planteado el esquema del circuito, se procedió a montar este circuito en la protoboard, para hacer una última revisión y ver si todo está funcionando como se deseaba.

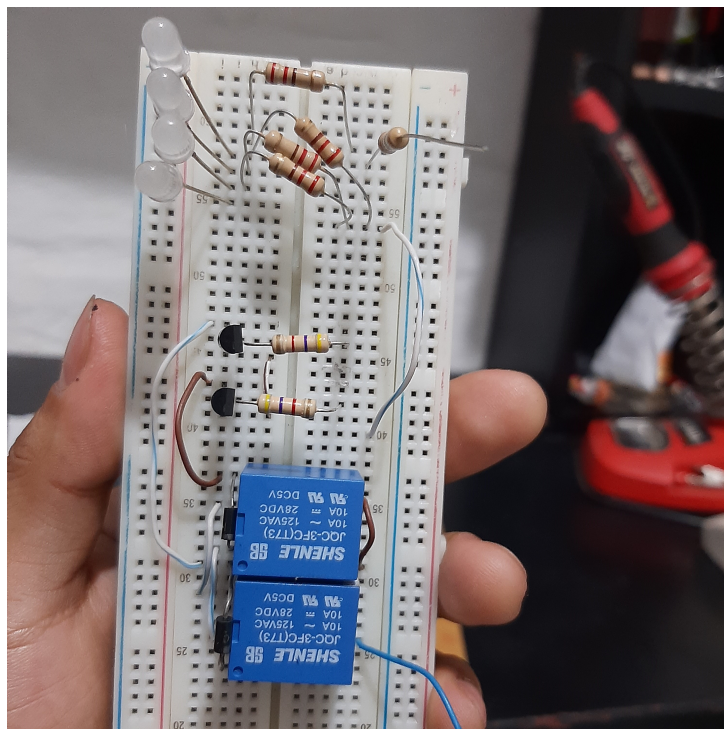


Figura 7.17: Conexiones y posicionamiento de componentes en protoboard

En la Figura 7.17 se ilustra un momento en donde se estaban montando los componentes en la protoboard, cabe resaltar que al ser una prueba, no se tuvo en cuenta recortar los conductores de los materiales, debido a que esto se haría cuando se estuviera montando en la placa donde se soldaría. En añadidura, se intentaron organizar los componentes de la forma en la que quedarían realmente, ya que la placa PCB era universal, lo que significa que tiene un diseño parecido al de la protoboard. Así, una vez montado y hecho las pruebas básicas junto con el programa de la Raspberry, se procedió a montar el circuito en la placa de PCB y soldarla.

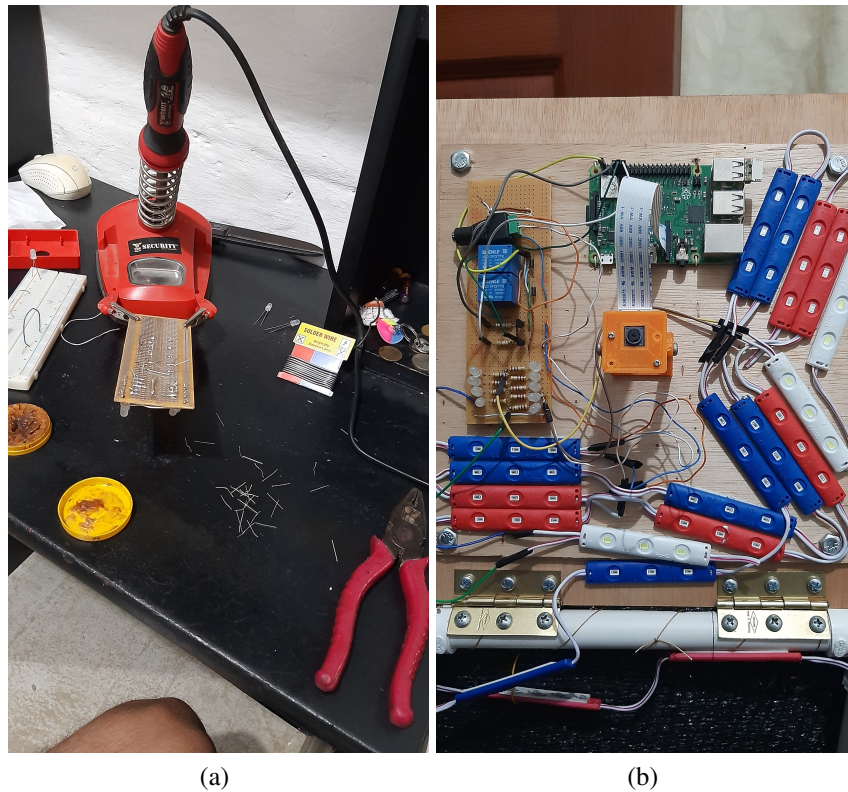


Figura 7.18: Proceso de soldadura y terminado del circuito - (a) Proceso de soldadura de los componentes del circuito en la placa de PCB, (b) Tabla de triplex montada con el circuito final.

Como el circuito ya estaba montado en una protoboard, se fueron pasando los componentes hacia la placa PCB se usó un cautín con pinzas en su base que ayudan a sostener la placa y poder tener una mejor comodidad soldando como se muestra en la Figura 7.18a, también se usó el estaño con su crema para soldar, para evitar que se quedara pegado el estaño en la punta del cautín. Así mismo, en la Figura 7.18b se observa el circuito final soldado y ensamblado en la tapa de la cámara de crecimiento, este al estar en una tabla de triplex aparte, era fácil de ajustar a otras superficies.

7.6. Diseños 3D de la cámara de crecimiento

El proceso de diseño de la cámara donde iban a crecer las plantas monitoreadas y bajo luz artificial azul y roja tuvo varias etapas. Esto, debido a inconvenientes con la planeación y los dispositivos y herramientas que proveía de la universidad. A continuación se mostrarán 3 modelos realizados en el software **Blender 3D**, los cuales se presentaron para el resultado final de la cámara de crecimiento, cada uno con diferentes materiales y medidas externas e internas que se adaptaban al entorno y los requerimientos.

7.6.1. Primer diseño de la cámara de crecimiento

Este primer diseño se realizó al principio del proyecto, tomando en cuenta que se contaba la cámara de crecimiento de la universidad, la cual brindaba un amplio espacio para colocar varias

plantas dentro de la caja para obtener un mejor análisis estadístico. Por ello, teniendo en cuenta las dimensiones internas de la cámara de crecimiento de la universidad y la altura mínima a la que debería estar la cámara para cubrir con la foto toda el área dentro de la caja y las cajas petri completamente a lo alto, se realizó el siguiente diseño con medidas reales de que grosor debería ser el material, que medidas internas y externas debería de tener para albergar por lo menos un arreglo de plantas de 3x6. También, se tuvo en cuenta como iba a ser su ensamblaje para garantizar la reproducibilidad y no tener que cuadrar las cámara cada vez que se abriera la cámara de crecimiento para ver que todo estuviera funcionando correctamente. Lo cual, se determinó que debía encajar la tapa con la base, aunque costara un poco más de material.

Incluso, se buscaron las dimensiones de los dispositivos de control e iluminación que se tenían planeados en la implementación para así simular cuanto espacio se tendría e ir pensando en otras consideraciones. Esto se puede ilustrar en la siguiente Figura:

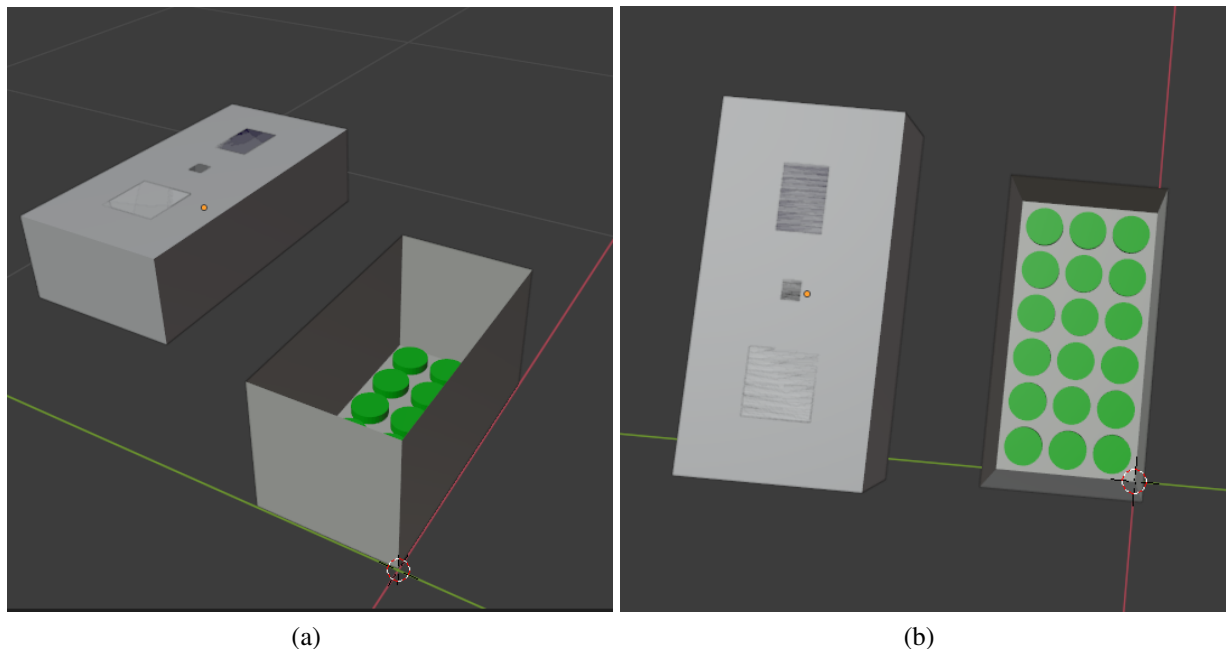


Figura 7.19: Rediseño de caja externo - (a) Diseño externo de la caja 1, (b) Diseño interno de la caja 2

En la Figura 7.19 se pueden observar bosquejos externos e internos de como se contemplaban la tapa y la base de la cámara de crecimiento. En la Figura 7.19a se muestra como se vería la caja desde una perspectiva diagonal, mientras que en la Figura 7.19b se muestra la perspectiva desde arriba de como iba a ser el arreglo de plantas, teniendo en cuenta que el diámetro de cada caja petri era de 6cm y había un interespaciado entre cajas de 1cm.

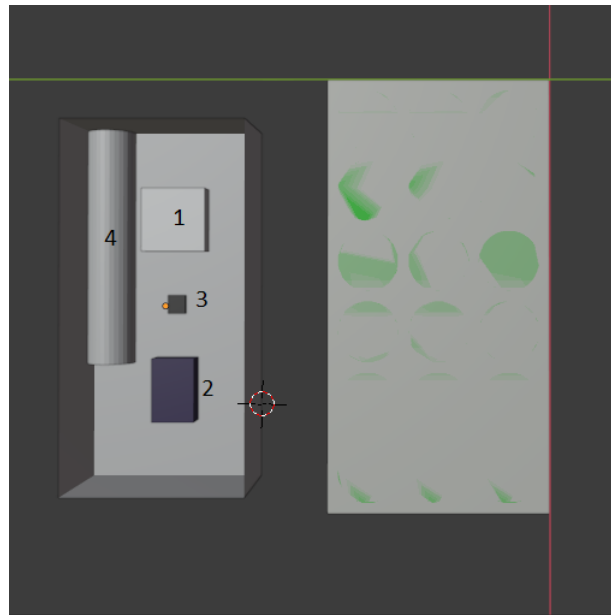


Figura 7.20: Ubicación de los componentes en caja 1

En la Figura 7.20 se muestra una perspectiva desde abajo junto con las formas de algunos de los dispositivos con sus respectivas dimensiones reales, en donde los dispositivos enumerados 1,2,3 y 4, son el panel led blanco para el flash de la imagen, la Raspberry pi 3 b+, la cámara Raspberry NoIR V2, y una lámpara led roja-azul que se había considerado en la planeación.

Ahora bien, es importante mencionar que durante la cotización de los materiales, se encontraron unas cajas de poliestireno expandido para conservar la temperatura de sustancias en su interior y esta era algo parecida a lo que se buscaba. Por lo tanto, se procedió a realizar las mediciones de esta caja obteniendo dimensiones de $47 \times 26 \times 25 \text{ cm}^3$, en los ejes (x,y,z) respectivamente. Lo cual, indicaba que las dimensiones en la base de la caja eran las necesarias pero la altura, por lo contrario, no era suficiente para que la cámara tomara la imagen de todo el área base. Sin embargo, se podían utilizar 2 cajas para obtener una altura adecuada sin salirse de los espacios presupuestos, aunque, se perdería la reproducibilidad de las imágenes puesto a que la caja que estaría encima con la cámara, no está diseñada para encajar con otra caja, pero se podía hacer un arreglo.

Posteriormente, se procedió a adquirir las cajas de poliestireno expandido para realizar pruebas, y a su vez, se pidió prestado externamente una herramienta para cortar el poliestireno expandido y poder modificar su diseño. En la Figura 7.21 se muestra la adquisición de los materiales.



Figura 7.21: Cajas de poliestireno expandido: Diseño 1

En la Figura 7.21 se muestran las 2 cajas de poliestireno expandido en adquiridas junto con la herramienta para modificar la caja. Con estos materiales se llevaron a cabo las primeras pruebas de las imágenes para ir ajustando la cámara y detalles que podrían influir en los resultados, como el calor y luz externa entrante debido a que no es un material completamente opaco. Sin embargo, estos materiales no se utilizaron en las pruebas por mucho tiempo debido a los inconvenientes con la cámara de crecimiento y la adecuación a un nuevo espacio.

7.6.2. Segundo diseño de la cámara de crecimiento

Por motivos de cambio de la cámara de crecimiento del campus fue necesario hacer un segundo diseño de la cámara de crecimiento, el cual se adaptara a las nuevas dimensiones de la cámara de crecimiento. Entonces, se tuvo la fortuna de encontrar en el laboratorio una caja con un grosor suficiente para que la luz no traspasara hasta el interior, la tapa sellaba la caja permitiendo la reproducibilidad de datos, y, tenía unas dimensiones que coincidían con el espacio proporcionado en la segunda cámara de crecimiento, esto se puede observar en la Figura 7.3a mostrada anteriormente. Así, se hizo una simulación con las nuevas medidas de la caja para ver como quedaría el nuevo diseño, las cuales eran de $36 \times 36 \times 49 \text{ cm}^3$ en los ejes (x,y,z) exteriores, con un grosor de 4cm.

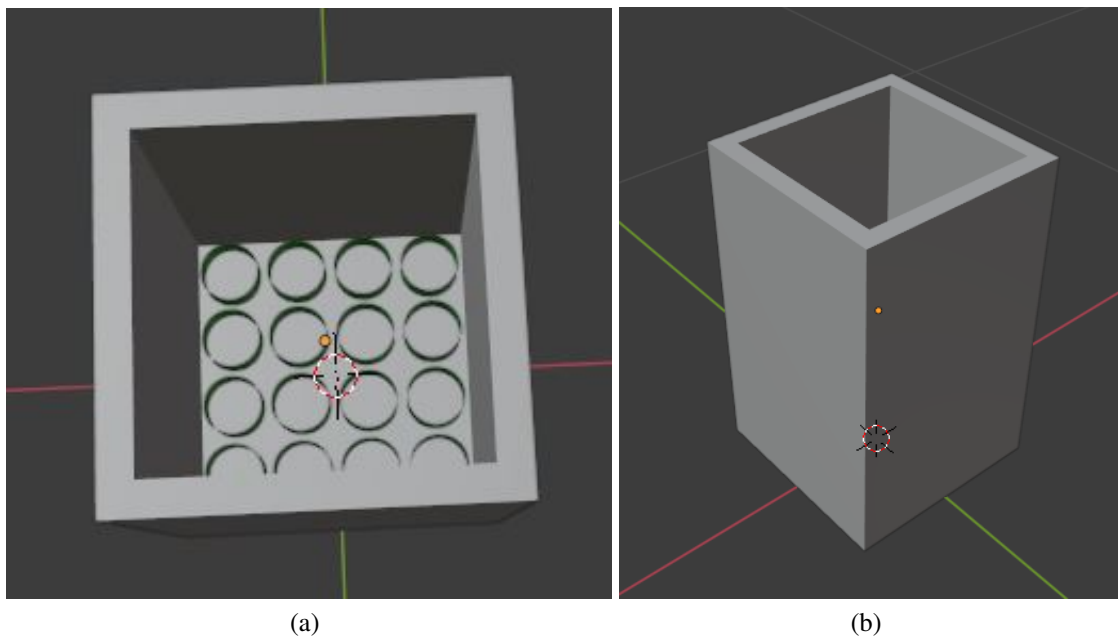


Figura 7.22: Rediseño de caja externo - (a) Rediseño interno de caja, (b) Cámara Raspberry NoIR V2 conseguida.

En la Figura 7.22 se pueden observar las perspectivas del nuevo diseño, en la Figura 7.22a se muestra como sería el interior, el cual, en comparación al primer diseño, se nota que la capacidad de plantas se reduce a un arreglo de 4x4. Y, en la Figura 7.22b se muestra el diseño externo de la caja, que como se puede ver, se decidió no modelar la tapa de la caja debido a la variación de los componentes a utilizar inicialmente. Sin embargo, como ya se tenían algunos de los elementos, se hizo un posicionamiento de los dispositivos simulando su posición, como se muestra en la siguiente Figura:

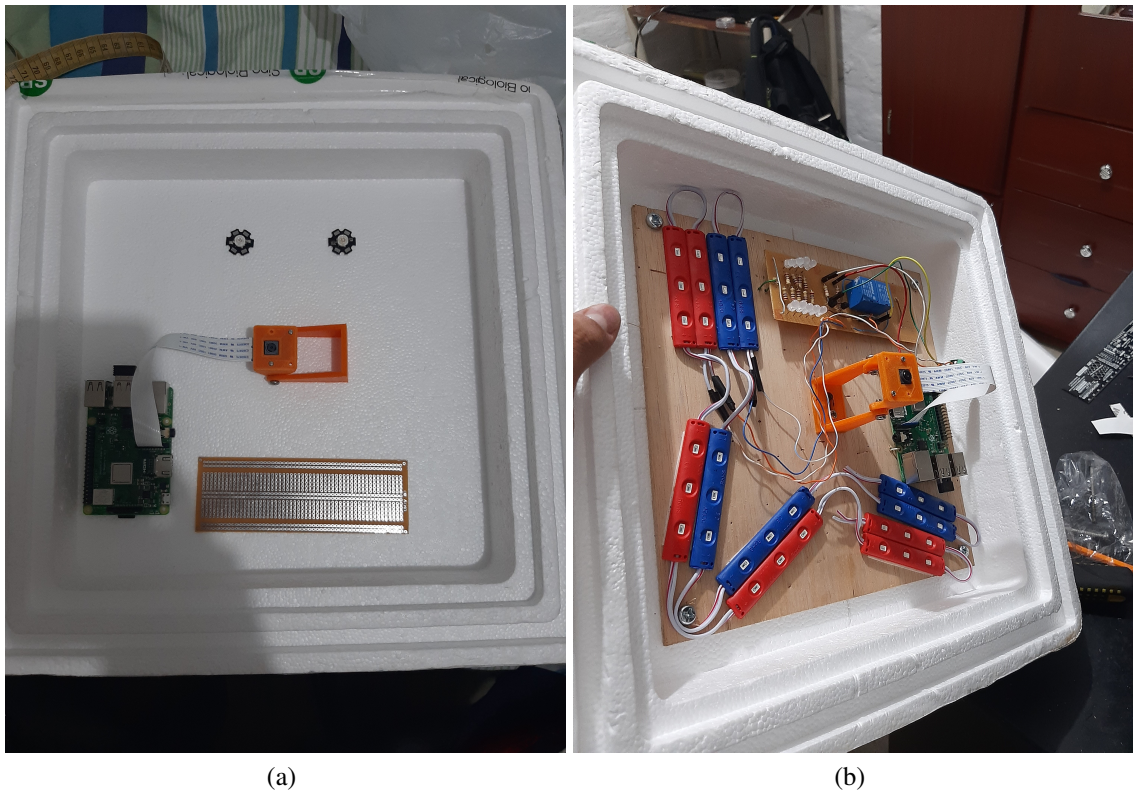


Figura 7.23: Cubierta con el circuito - (a) Expectativa de ubicación de los elementos, (b) Circuito final implementado en la cámara de crecimiento 3

En la Figura 7.23a se muestra la cámara, la Raspberry, la placa de PCB y unas luces LED de potencia propuestas. En la Figura 7.23b se muestra como quedó implementado finalmente el circuito en la tapa de la caja de poliestireno expandido #2, cabe resaltar que el haber implementado el montaje de los componentes sobre una base independiente a la de poliestireno expandido permitió manipular mejor el ensamblaje.



Figura 7.24: Pruebas del circuito dentro del segundo diseño de cámara de crecimiento

En la Figura 7.24 se muestra la cámara de crecimiento conectada al computador a punto de comenzar su funcionamiento para hacer las pruebas de temperatura. Pero, aquí se detectó un problema con este segundo diseño, el cual fue que al estar hecho de un material termoaislante y a pesar de haberles hecho unas aperturas a los lados para que el aire pudiera circular, y, recubierto estas entradas con una delgada lámina de papel aluminio para que no entrara la luz exterior, la temperatura interior del segundo diseño tras una hora de ejecución subió de forma brusca para la contención de las plantas. De esta manera, comenzando con una temperatura ambiente de 25.1°C, al dejar la caja funcionando con el sistema encendido en su estado de mayor consumo, el cual era con todas las luces encendidas, esta alcanzó una temperatura interna de 31.7°C en una sola hora, lo cual sería inhabitable para las plantas.

Por estas razones, tuvo que considerarse el diseño de una tercera cámara de crecimiento construida con otros materiales que consideraran este problema del calor almacenado internamente por los dispositivos.

7.6.3. Tercer diseño de la cámara de crecimiento

En el tercer diseño de la cámara de crecimiento se tuvo que hacer un replanteamiento tanto de los materiales como de la estructura que se venía teniendo en cuenta. Para esto, se investigaron algunas estructuras hechas de materiales sencillos que resistieran poco peso y que no se oxidaran ni dañaran, encontrando estructuras realizadas con tubos de PBC y tornillos de media pulgada para unir las partes. Para esto, se compraron los siguientes elementos:

- 4 tubos de PBC de 20mm de diámetro interno de 35cm.
- 8 tubos de PBC de 20mm de diámetro interno de 25cm de largo.
- 8 codos de 90° sirvieron para unir de 2 de los tubos de 25cm de largo.
- 8 tapones hembra que sirvieron para añadir una tercera conexión que sostendría los tubos de 35cm de largo. Ya que, los codos por lo general vienen de 2 conexiones de 90° y se necesitaba otro que fuera perpendicular a estos.

Después, como solución ante el calor interno que se generaba, se pensó en una polisombra al 80% para las paredes de la cámara de crecimiento, puesto que no es totalmente sellada y permite la circulación de aire en todo el sistema. Además, esta proporciona un bloque de luz del 80% teóricamente, lo cual, al agregarle varias capas, termina bloqueando gran proporción de la luz externa, que lo que se requería para este experimento. En adición, se amarraron las capas de polisombra a los tubos de PBC utilizando una aguja capotera y cáñamo, templándola para que no fuese a caerse y aprovechar toda la longitud de la polisombra para la mayor cantidad de capas posibles, las cuales fueron 3.

También, para la tapa en donde estarían los componentes del circuito y la base que sostendría las plantas, se pensó en láminas de triplex, puesto que la madera no almacena el calor que disipan los dispositivos y también es resistente y económica; se compraron 2 láminas de triplex de 30x30 cm^2 , se tomó una para la base y se hicieron 4 perforaciones para amarrarla a los tubos de PBC con cáñamo. Por otro lado, para la tapa, se compraron 2 bisagras de 3 tornillos, estas con el fin de darle una mejor movilidad a la caja al destaparse y taparse, manteniéndola fija para

la reproducibilidad de las fotos. También se compraron 6 tornillos de punta plana con tuerca y su relleno para perforar la tapa y atornillar las bisagras a la tapa, 6 tornillos con punta en rosca para atornillar las bisagras al PBC, y, se hicieron 4 perforaciones para trasladar y colocar la lámina de madera con los dispositivos que se había puesto en la anterior cámara de crecimiento de poliestireno expandido a la nueva.

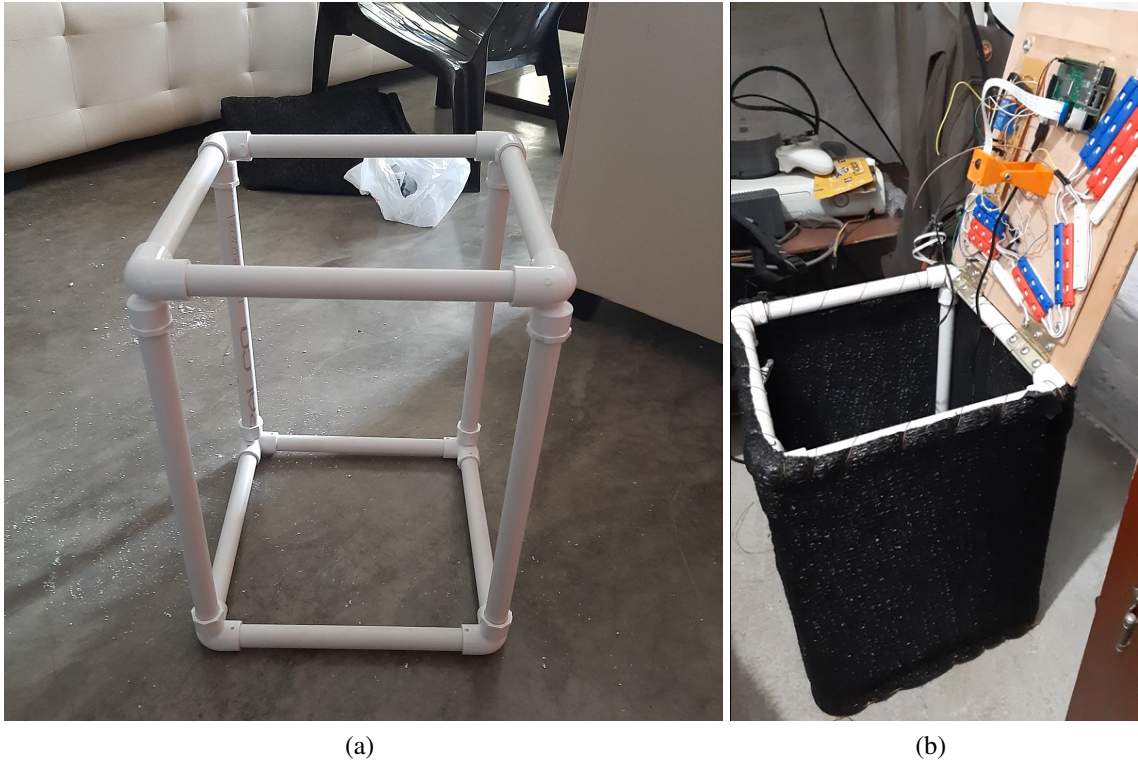


Figura 7.25: Cámara de crecimiento tres - (a) Esqueleto del diseño 3, (b) Resultado de cámara de crecimiento 3.

En la Figura 7.25 se observan los resultados de diferentes etapas de la construcción de la cámara de crecimiento #3. En la Figura 7.25a se muestra como quedó el esqueleto de PBC de la cámara de crecimiento una vez se recortaron y se unieron las partes. Y, en la Figura 7.25b se muestra el resultado final de la cámara de crecimiento, cubierta con la polisombra y con la circuitería montada, lista para comenzar el experimento.



Figura 7.26: Pruebas del circuito dentro del tercer diseño de cámara de crecimiento

En la Figura 7.26 se muestra el tercer diseño de la cámara de crecimiento siendo probado en la universidad con las mismas condiciones con las que se probó la segunda cámara de crecimiento. Aunque, esta vez se comenzó con una temperatura ambiente de 26.8°C , y, después de 1 hora y media de funcionamiento, la temperatura interna del sistema subió a 27.7°C , lo cual era menos de un grado de diferencia, y este se mantenía.

Por estas razones, este tercer diseño fue el que mejor se adaptaba los requerimientos y a los cambios hechos a último momento debido a los problemas con las cámaras de crecimiento en la universidad. Por lo tanto, después de las pruebas del sistema se procedió a sembrar las nuevas plantas y comenzar el experimento.

7.7. Adquisición de Raspberry y cámara

Los elementos de procesamiento y captura de imágenes al momento del plantear el proyecto se visualizaron en la rama de las Raspberry debido al amplio desarrollo que se puede lograr con esta, al ser una computadora reducida. También, por los módulos o herramientas de hardware que se les puede adicionar, que en este caso, se requería una cámara que fuera capaz de capturar la imagen con buena definición. Ya que, parte de lo que se quería probar era hallar la biomasa de la planta usando su color para complementar los cálculos, viendo de que manera los datos capturados del color influía en ellos.

Ahora bien, la universidad contaba con unos ejemplares de estos dispositivos, como en el caso de la Raspberry pi 3b+ y la cámara NoIR V2, cuyas características eran ideales para las pruebas que se iban a realizar, y permitía hacer uso de los recursos que se tienen a la mano para no incrementar los costos. Luego, una vez adquiridos los materiales, se procedió a buscar sus características y funcionamiento para manipularlos y adecuarlos al experimento.

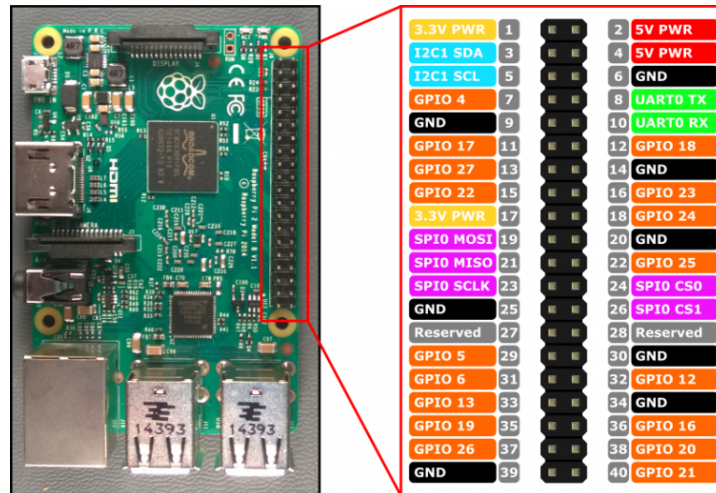


Figura 7.27: Raspberry Pi 3 B+ PinOut - Fuente [13]

Se comenzó buscando el Pinout de la Raspberry pi 3 B+, que es la que se muestra en la Figura 7.27. De esta manera, se identificaron los pines que podían usarse como salida digital para activar los conmutadores y así controlar el fotoperiodo del sistema, teniendo en cuenta que su salida era de 3.3V a 3mA [13]. Además, también permitió ubicar el pin de potencia que alimentó los transistores los cuales activaban los conmutadores, como se mencionó en la sección 7.5.2.

Luego, también se buscó el funcionamiento del sistema operativo de la Raspberry, el cual generalmente hay que instalarlo antes de trabajar con ella. No obstante, la Raspberry de la universidad ya venía con Raspbian instalado, cuya documentación tiene buena cobertura gracias a la comunidad. Entonces, se buscaron los modos de conexión para la cámara, como configurar la fecha actual para usarla en los nombres de las capturas de las plantas, entre otras características que permitirían utilizar la Raspberry adecuadamente.

7.8. Especificaciones de la cámara

Como se mencionó en la sección 7.7, la cámara que se utilizó en el experimento fue la Pi NoIR V2, ya que estaba dentro de los recursos disponibles. Igualmente, la cámara al pertenecer a la rama de Raspberry tiene una buena documentación para su conexión y configuración en la placa Raspberry a través de las librerías en el lenguaje de programación **Python**.

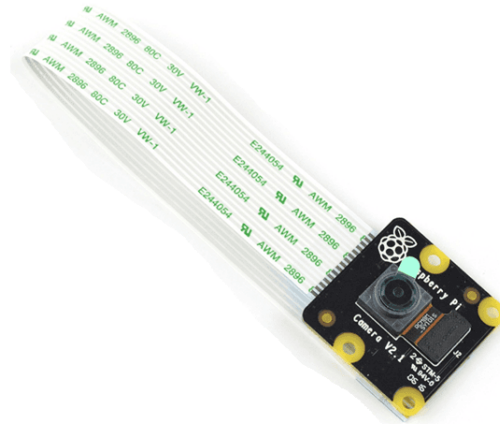


Figura 7.28: Cámara Raspberry NoIR V2 - Fuente [14]

En la Figura 7.28 se muestra proporcionada por la universidad para ser utilizada en el experimento. En adición, como la cámara estaba siendo usada en otro proyecto anteriormente, ya tenía una base hecha en con impresión 3D, la cual permitía protegerla y acomodarla de forma más cómoda en la tabla de triplex donde se implementó.

7.8.1. Cálculo de las dimensiones de la imagen

Inicialmente, se buscaron las principales características de la cámara para poder hacer cálculos teóricos, y así determinar qué altura sería indicada para que la foto cubra todas las plantas, dejando un margen de error en caso de que las crecieran más de los esperado, no se fuera a perder información. En ese sentido, se buscó la resolución que podía llegar a tener la cámara junto con su ángulo de visión (diagonal) para determinar el rango de captura que se alcanzaría a una distancia h de la cámara. De esta manera, se encontró que la cámara tiene una resolución hasta de 8MP (3280×2464 pixeles) con un ángulo de visión de 62.2 grados [62]. Teniendo esto en cuenta, los 8MP proporcionan una buena resolución que permite analizar las imágenes y filtrar más detalladamente las partes pertenecientes a las plantas. Luego, se procedió a hacer una aproximación del área total que se podía obtener a determinada distancia.

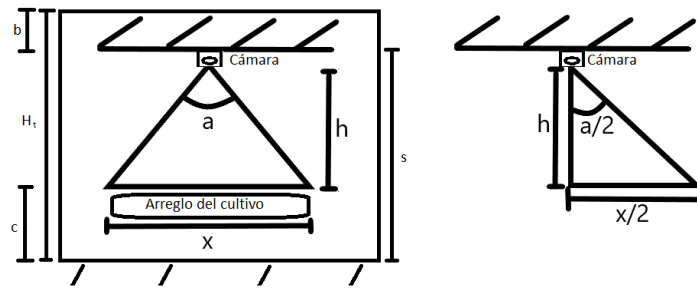


Figura 7.29: Aproximación de cobertura de cámara

Para ello, se consideró un triángulo isósceles para representar la distancia diagonal x que captura la cámara a una distancia h que es la altura de la cámara hasta las plantas y un ángulo de visión a , como se muestra en la Figura 7.29. Sin embargo, para facilitar los cálculos, se recorta el triángulo a la mitad para formar un triángulo rectángulo y poder aplicar las ecuaciones de estos triángulos para hallar la distancia diagonal x .

$$\tan(\alpha) = \frac{C_{op}}{C_{ad}} \rightarrow \tan(a/2) = \frac{x/2}{h} \quad (7.2)$$

Entonces, al tomar la ecuación 7.2 y despejar x de ella, se obtiene como resultado:

$$x = 2h \tan(a/2) \quad (7.3)$$

Por lo tanto, como ya se tenía un valor para a igual a 62.2° , se asignó un valor para h equivalente a 28cm, el cual se determinó al tener los siguientes datos:

- Altura total de la cámara de crecimiento: $H_t = 43\text{cm}$
- Distancia del suelo al tope del recipiente de las plantas: $c = 6.5\text{cm}$
- Distancia desde la tapa hasta la cámara: $b = 8.5\text{cm}$.
- Distancia de la cámara hasta el suelo: $s = H_t - b = 34.5\text{cm}$
- Distancia de la cámara a las plantas: $h = s - c = 28\text{cm}$

Por lo que, reemplazando estos datos de h y a en la ecuación 7.3, se obtiene que la distancia diagonal x que cubre la cámara es igual a 33.78cm, el cual alcanzaría para un recipiente cuadrado de área 23.88cm^2 . No obstante, al momento de hacer las pruebas reales, se encontró con un resultado distinto, aunque no por mucho. Para esto, se utilizó una forma sencilla de medir el área que estaba cubriendo la imagen, la cual fue, atravesar una regla vertical y horizontalmente en el lugar donde estaban las plantas. Ya que al estar a una altura uniforme, los valores de la regla permitirían saber cual es el área aproximada que cubre la imagen, y así contrastarlos con los valores teóricos obtenidos previamente.

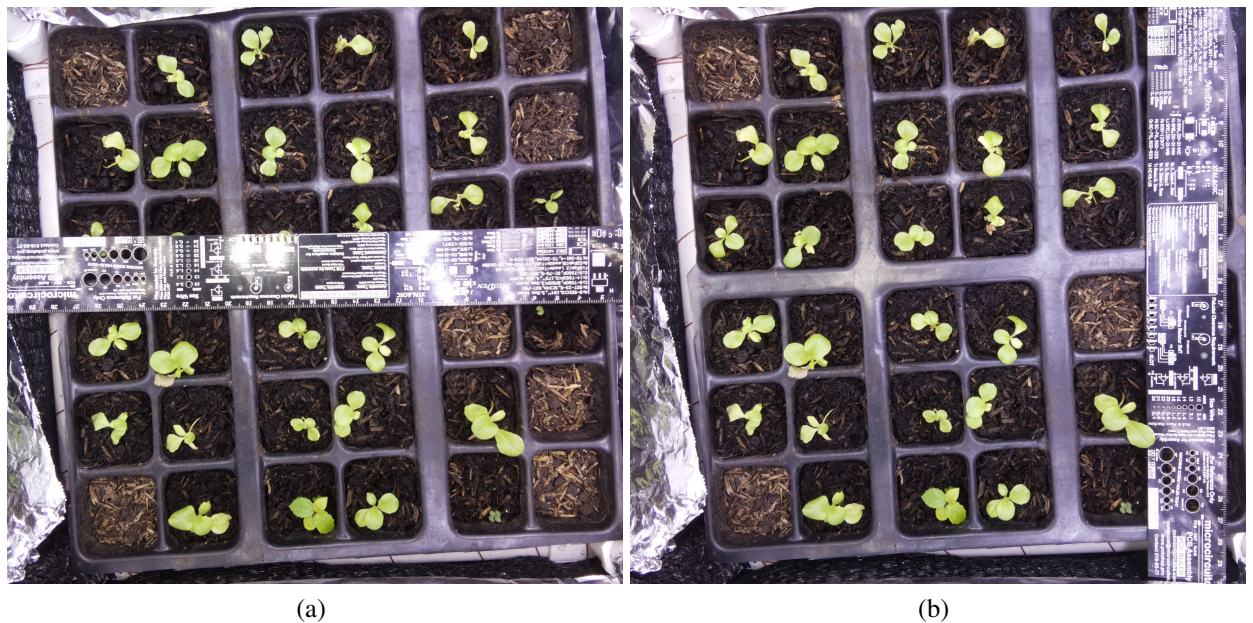


Figura 7.30: Dimensiones prácticas de foto - (a) Medición Horizontal, (b) Medición Vertical.

En la Figura 7.30 se observan las imágenes con la regla atravesada sobre el recipiente de las plantas. La Figura 7.30a muestra la medición horizontal que fue 28.1cm y la Figura 7.30b muestra la medición vertical que fue de 26.2cm. Estos datos tienen sentido por la configuración de la resolución de la cámara que se habla en la sección 7.8.2.

Entonces, al aplicar el teorema de Pitágoras con estas dos mediciones verticales y horizontales de la imagen para hallar la diagonal de la imagen, y compararla con el valor teórico, se obtuvo el valor de 38.42cm, con este, se halló un error relativo del 12%. En vista de esto, se apreció de que a pesar de haber un error significativo, el que hubiera sido mayor la cobertura de la imagen beneficiaba el experimento. Sin embargo, este error pudo haberse dado por la forma en que se calculó teóricamente el área de la diagonal, debido a que puede que a distancias cercanas, hayan otras variables que influyan en este cálculo y por lo tanto, se necesite un cálculo más elaborado.

7.8.2. Configuración de la cámara

Una vez instalada la cámara en la Raspberry, se procedió a configurar la cámara por medio de software, utilizando python para usar las librerías y colocar las dimensiones y la resolución que se necesitaba, esta programación se detalla en la sección 7.12.2. Entonces, al saber que la cámara alcanzaba una resolución máxima de 3280 x 2464 píxeles, se comenzó intentando definir esta máxima resolución, pero el compilador arrojaba un error de que no era posible definir esa resolución. Después, se bajó la resolución a 2500 x 2000 píxeles, pero tampoco lo permitía, así que se siguió bajando la resolución hasta llegar a una imagen de 1920 x 1080, que es la definición Full High Definition (FHD).

Luego de definidos estos parámetros, se utilizaron funciones para tomar fotografías de prueba y ver si la iluminación brindada por los LEDs de flash eran suficientes y saber cual era el área que alcanzaba a tomar la imagen. Cabe aclarar que para estas primeras pruebas se estaba

utilizando el primer diseño de la cámara de crecimiento mencionado en la sección 7.6.1, la cual tenía una altura de 50cm y alcanzaba a cubrir de largo poco más de 50 cm, lo cual fue muy prometedor. También, se estaban utilizando los primeros LEDs de 3W encapsulado star con una batería, más no con una fuente. Así, con estos elementos se obtuvieron las siguientes imágenes:

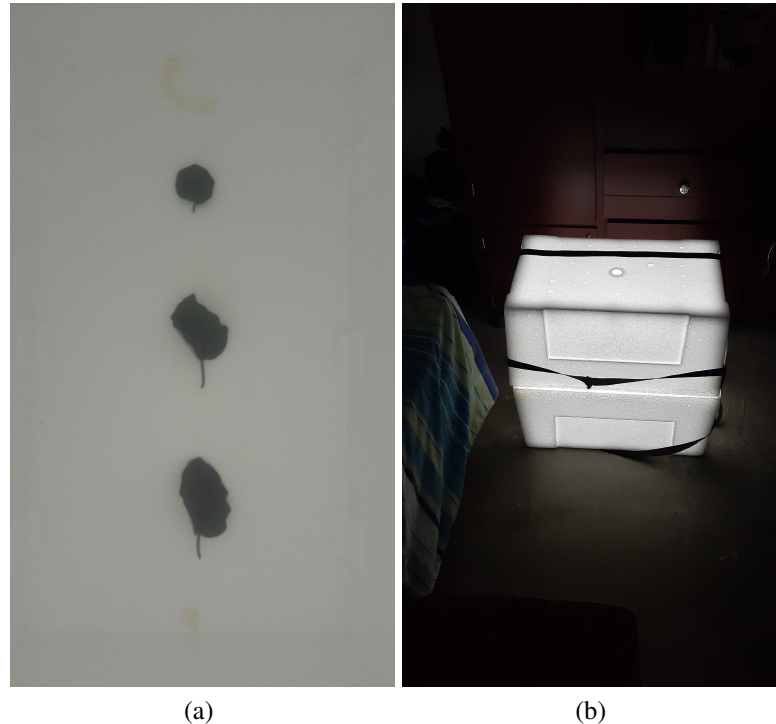


Figura 7.31: Foto de la caja iluminada - (a) Foto de prueba de la cámara con plantas dentro (b) Foto dentro de la caja de poliestireno expandido con flash

Las imágenes mostradas en la Figura 7.31 son de las primeras que se capturaron probando la cámara y revisando como se veía la cámara de crecimiento desde una perspectiva exterior. En la Figura 7.31a se muestra el interior de la caja del primer diseño que tenía unas dimensiones en la base de $47 \times 26 \text{ cm}^2$ junto con unas plantas conseguidas en la calle de prueba para saber cómo se verían los colores en la imagen. Lo cual, si bien cubría sin problemas el área base de la cámara de crecimiento, el color no era tan fiel a como se veía realmente, esto podría deberse a que el fondo era blanco y este color la materia no lo absorbe sino que lo refleja, saturando la cámara y haciéndole perder información. Por otro lado, en la Figura 7.31b se muestra que las cajas al no estar hecha de un material opaco, deja pasar gran parte de la luz, y así es como se veía la luz del flash desde afuera de la caja en una habitación a oscuras.

Ahora bien, como la resolución de la imagen no fue la mejor, para el diseño dos de la cámara de crecimiento mencionado en la sección 7.6.2 con unas dimensiones más cuadradas, se pensó en subirla un poco más. Además, como tampoco se quería ocupar espacio en el disco duro de la Raspberry con información que no iba a aportar a los datos buscados, se aumentó la resolución a 1920×1800 píxeles, formando casi una imagen cuadrada de acuerdo a la base del nuevo diseño de cámara de crecimiento y con más píxeles que permitirían analizar mejor la imagen más adelante.

Sin embargo, a pesar de tener una buena resolución, se podía notar en imágenes posteriores que no se estaba enfocando, y como no se tenía una herramienta por software para configurar esto, se pensó en mejorarla utilizando un promedio temporal, al usar varias imágenes en un corto lapso para promediarlas y así aumentar la magnitud del Signal to Noise Ratio (SNR) de la imagen. Por otra parte, también se consideró hacer uso de un promedio espacial, aprovechando la cantidad de píxeles que se tenía, pero se perderían datos que el software de la sección 7.12.1 y el programa que se estaba diseñando podrían aprovechar. No obstante, al aplicar esta técnica, visualmente no se notaba una mejora significativa, aunque teóricamente sí debía de haber mejorado, de esto se habla en la sección 7.12.3.

7.8.3. Distorsión del lente

Uno de los inconvenientes que se presenta las imágenes de las cámaras es la distorsión que presenta el lente, y este varía dependiendo del tipo de cámara que se usa. Aún así, los programas de edición fotográfica como Photoshop traen consigo una herramienta que puede corregir esta distorsión, pero hay que definir los espacios donde se supone que debería ser rectos y así internamente el programa lo arregla. No obstante, al usar esta herramienta para corregir la distorsión del lente, se pierde una parte de las dimensiones de la imagen, ya que por lo general se usa cuando se quiere hacer énfasis en un solo objeto.

Por lo tanto, para saber cual era el tipo de distorsión que se tenía se hizo uso de un tablero de ajedrez que se colocó sobre el recipiente de las plantas y se tomó una captura. Luego, con ayuda del programa Paint, se hicieron algunos ajustes como rotación de la imagen para enderezarla y así poder colocar cuadrados de iguales dimensiones en diferentes puntos de la imagen. De esta forma, se podía saber con qué patrón se deforma la imagen cuando se va alejando del centro e identificar el tipo de distorsión.

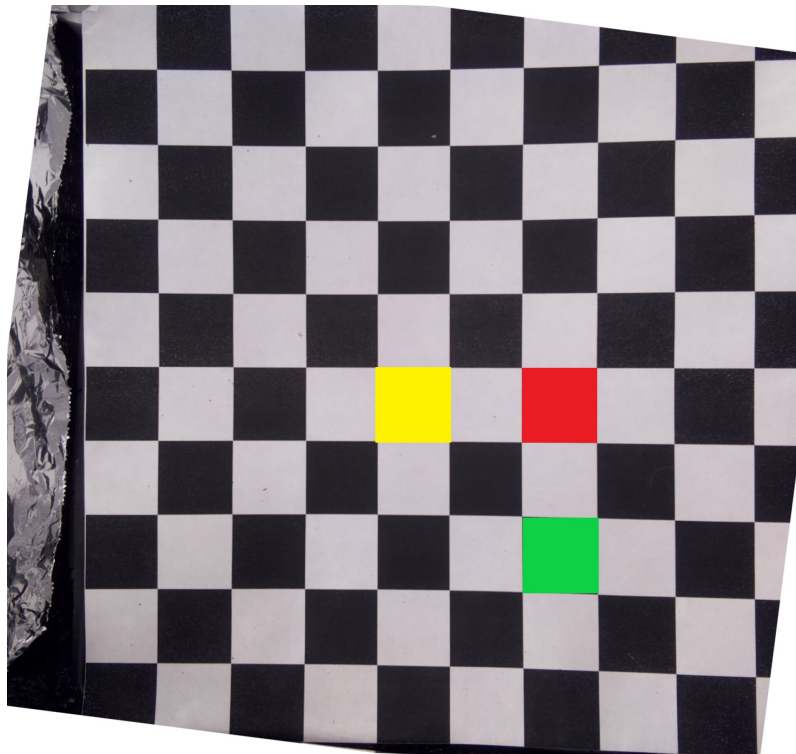


Figura 7.32: Tablero con distorsión del lente

La imagen utilizada con el tablero y las modificaciones utilizando Paint se muestra en la Figura 7.32. En ella se utilizó el cuadro rojo como referencia, el cual encajaba relativamente bien en uno de los cuadros negros del tablero, se copio, se pegó en otros 2 lugares diferentes y luego se les cambió de color, a amarillo y verde. De esta manera, se pudo comprobar que los cuadros amarillos y verdes tienen distintas deformaciones, desde tamaño hasta forma respectivamente. Ya que a simple vista, se puede notar que el tablero de ajedrez no está completamente derecho, y esta deformación coincide con la deformación de barril.

Ahora bien, una vez identificado que se tenía un lente con una distorsión de barril, se procedió a buscar en los repositorios de librerías de OpenCV para saber si había algún programa ya diseñado para corregir esta distorsión. Así que, se encontró documentación y un instructivo de como corregir este error utilizando Python [63], y se procedió a seguir el paso a paso. Dentro de este, se adecuó el código a las necesidades, cambiando el número de cuadros que tenía el tablero de ajedrez, reemplazando datos por variables, definiendo el tipo de formato de imagen por el cual debía hacer la búsqueda y la carpeta donde se encontrarían las imágenes.

En este mismo sentido, algo importante para que el programa funcionara correctamente era colocar el número de cuadros que había en una sola fila y en una sola columna menos uno. De esta manera, el programa podría identificar todas las esquinas del tablero y así calibrarse. También, se recomendaba colocar más de 10 fotos con el tablero posicionado en diferentes lugares dentro de la imagen, esto con el fin de aumentar la fidelidad de la corrección en la distorsión del lente.

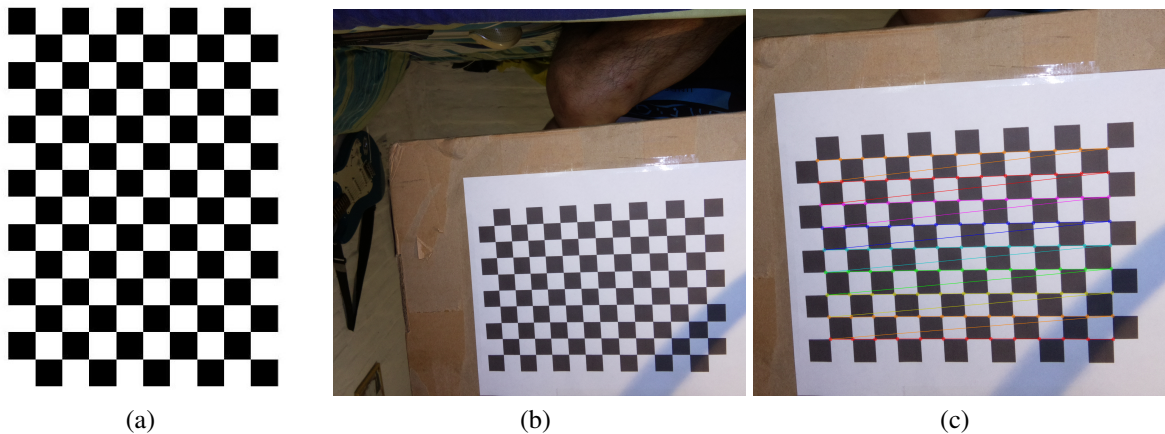


Figura 7.33: Tableros utilizados para la corrección de la distorsión del lente - (a) Tablero original diseñado, (b) Tablero piloto, (c) Identificación de esquinas de tablero piloto.

En la Figura 7.33 se enseñan algunas muestras de los tableros que se utilizaron para la corrección de la distorsión del lente. Así, en la Figura 7.33a se puede ver el tablero que se realizó con ayuda de MATLAB y su función **checkerboard**, a la cual se le especificaba la cantidad de cuadros que se quiere en fila y columnas junto con la cantidad de pixeles que lo compongan. En la Figura 7.33b se muestra una de las 15 imágenes que se tomaron del tablero en una de las posiciones, se trató de correrla poco a poco ocupando diferentes sectores de la imagen y se puede ver que está un poco alejada con el fin de que el programa mejore su calibración por tramos. La Figura 7.33c muestra la misma Figura 7.33b solo que con un zoom y mostrando que el programa identificó las esquinas del tablero de ajedrez, lo cual indicaba que estaba funcionando correctamente.

Después, una vez finalizada la calibración de la distorsión del lente, se pasaba una imagen para que le aplicara las correcciones de acuerdo con los datos obtenidos con las imágenes del tablero de ajedrez para calibrarse. En este caso, se quería saber como afectaba el número de iteraciones del programa con diferentes números de imágenes para la calibración.

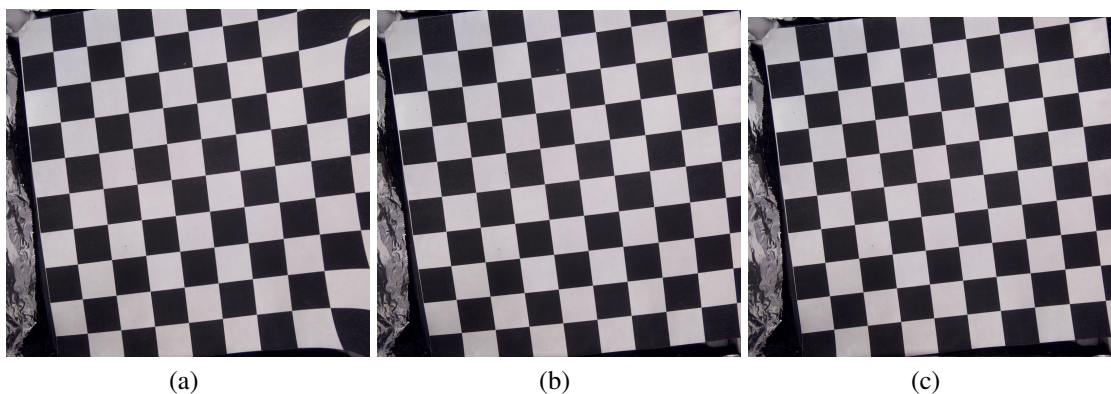


Figura 7.34: Resultados de la corrección del lente con diferentes iteraciones - (a) Corrección iterando solamente con una imagen, (b) Corrección iterando con 2 imágenes, (c) Corrección iterando con 15 imágenes.

En la Figura 7.34 se muestran 3 pruebas realizadas con las iteraciones en la calibración. En la Figura 7.34a se muestra el resultado de la imagen con la corrección de distorsión del lente de un tablero utilizando solamente una imagen para calibrar, y como se puede notar, la imagen se ha distorsionado más de lo que estaba inicialmente. Después, en la Figura 7.34b se muestra la misma imagen pero esta vez utilizando la corrección de distorsión del lente utilizando 2 imágenes para la calibración, la cual, a pesar de no salir bien corregida, mejoró con respecto a la que solo tenía una sola iteración. Por último, en la Figura 7.34c se muestra la imagen con la corrección de distorsión del lente utilizando 15 imágenes para la calibración, la cual, evidentemente, en contraste con las anteriores, tuvo una mejora significativa, llevando a entender la importancia de agregar las suficientes imágenes para la calibración.

Por consiguiente, se procedió a utilizar un script que venía junto con el template para encontrar el error que terminaron teniendo las imágenes después de la corrección de distorsión del lente, comparando las procesadas con las originales y hallando la curva que tendrían los puntos identificados del cuadro de ajedrez en comparación a uno modelo del programa. El error final que se obtuvo entre las imágenes originales y las corregidas fue del 9.2191 %.

7.9. Crecimiento del cultivo

Una vez se tenían todos los elementos implementados y parámetros configurados, se comenzó el proceso de germinación de las plantas. Así, como ya se mencionó en la sección 7.3, se requirió hacer un cambio en las plantas a usar, por factores externos. Teniendo esto en cuenta, se encontró que algunas lechugas tienen algunas características de crecimiento parecidas a las de *Arabidopsis thaliana*. Por ejemplo, las semillas de las lechugas **black seed simpson** o **simpson crespas**, que fue con las que se trabajó, tienen un fotoperiodo de 18h de luz y 6 de oscuridad, su temperatura ambiente de crecimiento es de 18-22°C, un ciclo para cosecha de 40 a 70 días y han tenido un excelente desarrollo al crecer bajo luces LED rojas y azules, con las longitudes de onda 630nm y 460nm, equivalentes a rojo y azul respectivamente [1]. Sin embargo, la potencia lumínica para crecer estas plantas es de 400 PPFd en adelante, lo cual estarían en una desventaja muy considerable con respecto a las *Arabidopsis thaliana* que se tenían planeadas en un principio, pero servirían para obtener datos de biomasa igualmente.

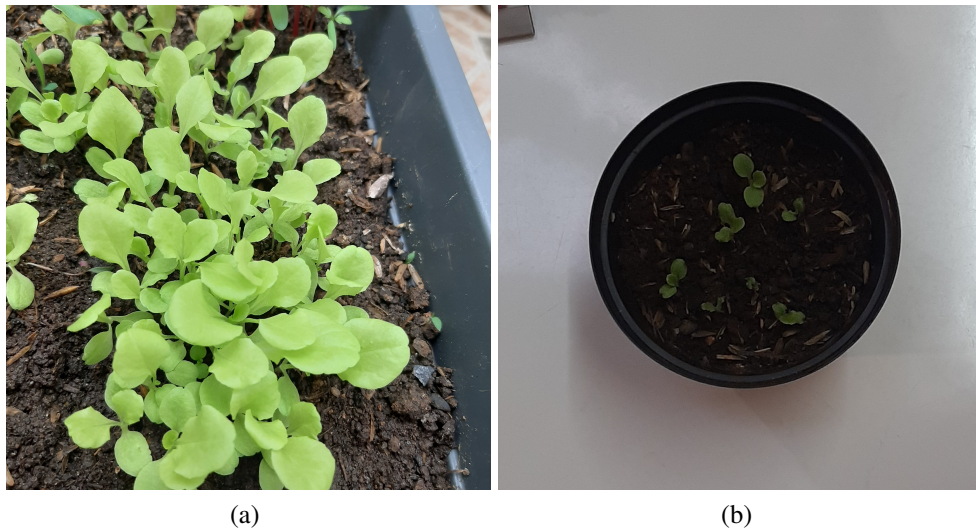


Figura 7.35: Primeras lechugas de prueba - (a) Cultivo de lechugas simpson crespas de amigo, (b) Plantas para pesaje de prueba.

Otro factor que impulsó a trabajar con estas plantas fue que, durante las pruebas con *Arabidopsis* y la construcción del sistema, una persona cercana se encontraba creciendo un cultivo de este tipo de lechuga en un pequeño invernadero sin mucha potencia lumínica, las cuales se muestran en la Figura 7.35a. Así, se pudo observar que tenían un crecimiento relativamente rápido y también que no eran muy grandes, lo que podía adecuarse al sistema que ya se tenía diseñado y construido. Por esta razón, mientras se seguía trabajando con *Arabidopsis* en la universidad, se le pidieron 5 lechugas como se muestra en la Figura 7.35b para hacer pruebas con el peso fresco y seco de las lechugas, y así obtener su biomasa.

Los resultados fueron cercanos a los esperados con *Arabidopsis*, ya que *Arabidopsis* no es una planta que ocupe mucho espacio ni pese mucho. Además, compartían un corto ciclo de vida, lo cual encajaba con el alcance del proyecto y el tiempo del experimento.

7.9.1. Primer cultivo

El primer cultivo de lechugas se hizo el 28 de noviembre de 2020, y el protocolo que se llevó a cabo inicialmente fue hacer una siembra de semillas en algodón con humedad para hacerlas germinar, y así, seleccionar las que estuvieran en una misma etapa de germinación y/o crecimiento. De esta manera, se observaría el efecto de las condiciones de la cámara de crecimiento en plantas con las mismas condiciones iniciales en cada muestra.



Figura 7.36: Recipiente utilizado para la siembra y crecimiento de las lechugas

En la Figura 7.36 se muestra la bandeja de germinación utilizada para el crecimiento de las semillas de lechuga, aprovechando que no iban a llegar a solaparse por el tiempo del experimento. Este tenía una dimensiones base de $25 \times 25 \text{ cm}^2$, que encajaba en el espacio de la cámara de crecimiento sin desperdiciar espacio.

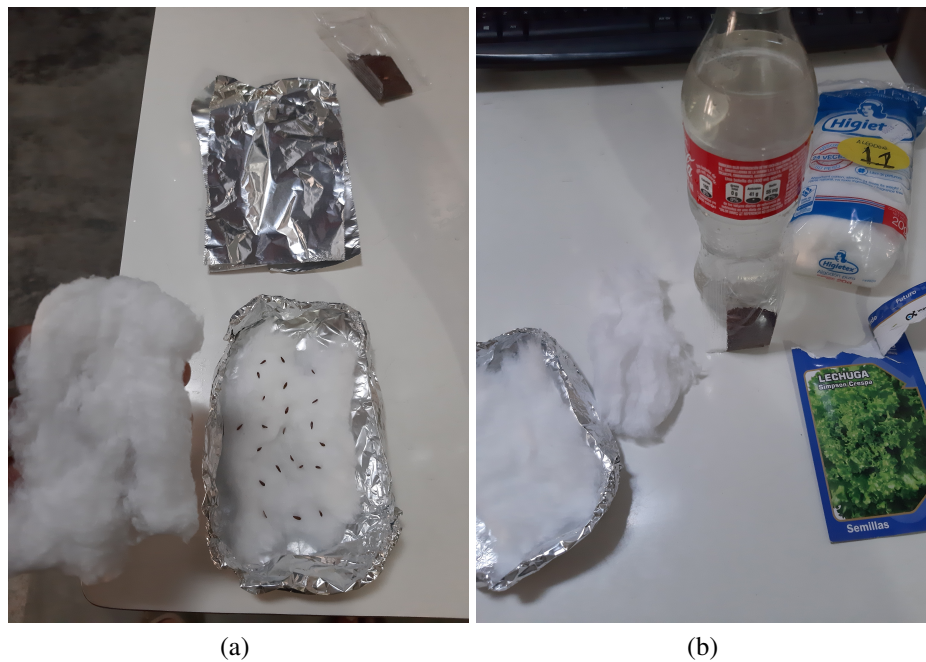


Figura 7.37: Siembra de semillas de lechuga en algodón - (a) Siembra de 100 semillas de lechugas, (b) Elementos para la siembra en algodón.

En la Figura 7.37 se muestran las semillas plantadas y los materiales con los que se trabajó al inicio. Así, al tener dos bandejas de germinación mostradas en la Figura 7.36 con 36 cuadrículas para las plantas cada uno, se hizo la siembra de 100 semillas como se muestra en la Figura 7.37a. Con esto, se podría tener un margen de error para aquellas que no germinaran o las que no estuvieran en la misma etapa de germinación. En la Figura 7.37b se observa el paquete de

semillas usado, algodón para las semillas, agua de río para evitar que el cloro del agua potable influyera en el experimento y papel aluminio para evitar que las semillas estuvieran en contacto con la luz mientras germinaban.

Desafortunadamente, 4 días después, muchas de las semillas habían comenzado a germinar prematuramente y creciendo en busca de luz. Así, al no tener la cantidad necesaria para pasarlas a la cámara de crecimiento, ni tampoco estar a la par con las demás semillas, se perdieron la mayoría al tener una elongación irregular y haber germinado bajo estrés. De esta forma, se determinó sembrar y germinar las semillas dentro de la cámara de crecimiento y dejarlas crecer naturalmente con las luces LEDs encendidas todo el tiempo durante 4 días para evitar que crecieran nuevamente bajo estrés.

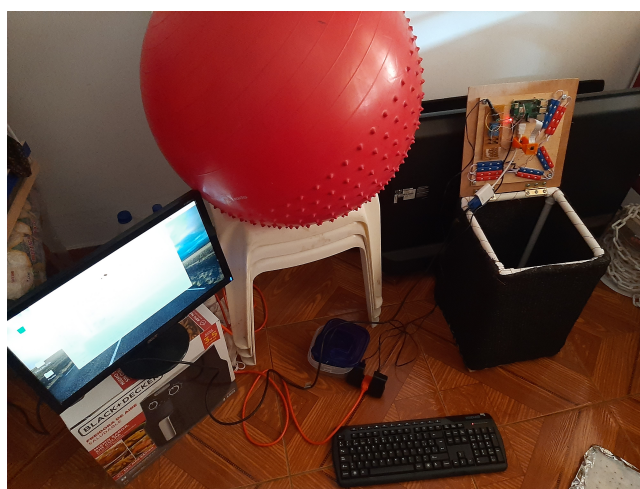


Figura 7.38: Espacio destinado para el crecimiento y monitoreo del cultivo en la cámara de crecimiento

Por cuestiones de comodidad, el espacio destinado para el crecimiento del primer cultivo fue una habitación como se muestra en la Figura 7.38 que estaría la mayor parte del tiempo cerrada para evitar la entrada de luz solar que interfiriera con los resultados de la cámara de crecimiento. En ese mismo sentido, la habitación en donde se encontraba la cámara de crecimiento diseñada estaba en el primer piso de la casa, y el cultivo que iba a estar creciendo en la otra bandeja con luz blanca estaba en el segundo. Esto, porque el invernadero donde iba a crecer estaba construido en el segundo piso para aprovechar parte la luz solar que entraba por el patio durante el día, cabe resaltar que este invernadero fue coincidencia que una persona cercana lo tuviera y permitiera usarlo para crecer las plantas con fotoperiodo de 12h bajo luz blanca.

Adicionalmente, para saber a qué intensidad lumínica estaban creciendo las plantas exteriores de la otra bandeja de germinación en el invernadero bajo luz blanca de 6500K a una distancia de 13cm de la fuente, se utilizó el luxómetro, en donde se obtuvieron 810lx. Luego, se usó el software [57] para convertir de lux a PPFD, obteniendo un valor de 11PPFD, esto debido a que la luz blanca teóricamente tiene más longitudes de onda que pueden incrementar los lux pero su energía es menor. Para este caso, las luces blancas debieron de haber alcanzado un total de 2760lx para alcanzar alcanzar los mismos PPFD a los que estaban creciendo las plantas dentro de la cámara de crecimiento.

Ahora bien, para la segunda siembra en el primer cultivo, se llevó a cabo otra estrategia, en donde se incluyeron 3 semillas en cada una de las cuadrículas de las bandejas de crecimiento para tener una mayor probabilidad de que, por lo menos una germinara. De ahí que, en el caso de que llegaran a germinar más de la cuenta, se despojarían de la cuadrícula, dejando solamente una para que las demás no interfirieran en el espacio. En adición, la tierra utilizada se adquirió fertilizada con cascaras de arroz y otros minerales para así asegurar que iba a tener los nutrientes necesarios para su desarrollo.



Figura 7.39: Proceso de riego de las plantas

También, se consiguió una jeringa de 5ml para echarle agua equitativamente a cada una de las cuadrículas con plantas cada 4 días, sin necesidad de sacarla una de las bandejas de la cámara de crecimiento, la otra al estar creciendo externamente no había ningún problema, como se muestra en la Figura 7.39. Este periodo de riego fue determinado al observar que la tierra comenzaba deshumedecerse.

Luego, 4 días después de la siembra de las semillas, comenzaron a germinar en ambas bandejas de germinación, teniendo aproximadamente 20 en las que están bajo luz blanca y fotoperiodo normal de 12h luz - 12h oscuridad, y 14 en las de fotoperiodo 18h luz - 6h con luz azul y roja. Dos días después, las plantas que crecían bajo luz blanca a fotoperiodo normal estaban creciendo como deberían con un buen desarrollo, no tan largo su tallo y hojas grandes. Por otro lado, las que están bajo luz azul y roja con fotoperiodo 18h luz - 6h oscuridad, sus tallos estaban más largos y las hojas pequeñas, incluso algunas cayeron de ser tan altas con tan delgado tallo.



Figura 7.40: Elongación inesperada de las lechugas

En la Figura 7.40 se muestra como estaban las plantas al sexto día de su siembra. Entonces, se pudo deducir que estaban creciendo bajo estrés debido a la falta de potencia lumínica. Por lo tanto, para aumentar la concentración de la energía emitida por los Módulos LED, se pensó en colocar papel aluminio en las paredes de la cámara de crecimiento diseñada. Esto debido a que el coeficiente de reflectancia del papel aluminio es de 0.799, lo que indica que es capaz de reflejar hasta el 79.9% de la luz incidente, que en este caso, era la de los LEDs. De este modo, se dejaron algunas de las plantas que apenas estaban germinando para saber si iba a funcionar, y se sembraron nuevamente las semillas en las demás cuadrículas. De esta forma, a largo de los 4 días posteriores, se pudo observar que las plantas que se dejaron comenzaron a crecer ya no a lo alto sino a lo ancho, ejerciendo su energía inicial expandiéndose en lugar de alzándose. Por ello, se concluyó que el papel aluminio afectó de manera positiva el cultivo, y, esto se pudo confirmar con las nuevas plantas que al germinar, ya que comenzaron a desarrollarse mejor.

Los cultivos continuaron por 18 días más, debido a que los elementos que se iban a usar para calcular la biomasa por el método tradicional estaban en los laboratorios de la universidad, y ya se acercaba el receso de actividades de final de año. Por ello, el cultivo de las luces blancas finaliza su ciclo de vida el 18 de diciembre, llevándolo a la universidad para hacer sus respectivos pesajes, y, el de la cámara de crecimiento termina el 19 de diciembre.

7.9.2. Segundo cultivo

Para corroborar información del experimento, se hizo la siembra de un segundo cultivo, en donde se buscaba mejorar la potencia lumínica que recibirían las plantas por parte de los LEDs, aumentando la cantidad y variedad. Para este caso, se añadieron 8 módulos rojos y 4 módulos azules de más, para verificar que la falta de potencia lumínica en las plantas fue lo que no les permitió desarrollarse de la mejor manera. Lo cual, teóricamente debía de aumentar la intensidad lumínica de 37 PPFD a 66 PPFD, nuevamente, haciendo uso del software [60].

Sin embargo, al hacer uso del luxómetro para validar el resultado, este marcó 700 lx, lo cual es equivalente a 62 PPFD de acuerdo al software [57]. Por ende, al aumentar la fuente energética que absorbe la planta se esperaba obtener más datos de su peso en relación a su área foliar en menor tiempo, y ver qué tan fiel era el ajuste de datos realizado para estimar su biomasa.

De esta forma, se sembraron las semillas de lechuga el 10 de febrero de 2021, planeando un tiempo de crecimiento de 2 meses, usando la misma metodología de crecimiento del primer cultivo, tal como riego, fotoperiodo, y número de semillas sembradas. También, se planeó sembrar semillas de lechuga para que crecieran bajo la luz solar, recibiendo toda la potencia que en un ambiente natural tendría, y para ello, se utilizaron otros tipos de recipientes.



Figura 7.41: Preparativos para el segundo cultivo exterior - (a) Segundo recipiente utilizado para sembrar lechugas en el exterior, (b) Lugar de crecimiento del segundo cultivo exterior.

Como esta vez se esperaba que crecieran más de lo que habían alcanzado a crecer en 18 días que fue lo que duró el primer cultivo, en la Figura 7.41 se muestran los recipientes y el lugar en donde se posicionaron las plantas que crecerían bajo luz solar. En la Figura 7.41a se muestra el recipiente en donde crecería al menos una de las lechugas, el cual tiene un radio de 10cm y una altura de 3cm, brindando un área suficiente para el crecimiento de la lechuga a lo ancho y una altura aceptable para que las raíces se pudiera expandir. Por otro lado, en la Figura 7.41b se muestra que estaban en un lugar aislado y con bajo riesgo de que animales o personas pudieran interferir con su crecimiento.

Aunque, desafortunadamente para este experimento, en el momento de la siembra de estas plantas en el exterior, se estaba comenzando una clima de invierno, en donde la lluvia no permitió el crecimiento de las plantas, porque apenas lograban salir y levantarse, las fuertes lluvias las arrancaban. Por esto, se tuvieron que descartar los datos de este cultivo externo.

Por otro lado, las lechugas que estaban creciendo dentro de la cámara de crecimiento se estaban desarrollando de forma ligeramente más rápida que la del primer cultivo. Así que, el procedimiento que se llevó a cabo esta vez para obtener una mejor variedad de datos de pesos

en relación a las áreas, fue que una vez cumplidos los 21 días de crecimiento, se comenzaría a llevar semanalmente una columna de la bandeja de germinación. Lo cual, permitiría redistribuir y trasplantar las demás plantas, en caso de que se comenzaran a superponerse debido al estrecho espacio que se tenía.



Figura 7.42: Lechugas después de 19 días de su siembra

En la Figura 7.42 se muestra la bandeja de crecimiento tras 19 días después de su siembra, se puede observar que así como no hay plantas en algunas cuadrículas, también hay más de una planta en otras cuadrículas. Las cuales, fueron trasplantadas en los respectivos espacios para así tenerlas aisladas entre sí, tener igualdad de muestras por columnas y analizarlas individualmente.

Seguidamente, una vez se comenzaron a llevar las plantas al laboratorio para medir su respectivo peso fresco y seco, se encontró que, hasta completar el mes, las plantas seguían teniendo un comportamiento lineal al analizar los datos peso fresco vs peso seco medidos. Aunque, una vez las plantas alcanzaron una etapa más madura, superior a 2 meses creciendo, su comportamiento comienza a dejar de ser lineal. Esto, se pudo revisar al no llevar las plantas en los periodos que se tenían planeados, debido a complicaciones de movilización por causa del problemas políticos en el país, el ciclo de vida de las plantas finalizó el 1 de junio de 2021.



Figura 7.43: Crecimiento final del segundo cultivo de lechugas

En la Figura 7.43 se muestra el estado en el que se encontraban las lechugas del segundo cultivo momentos antes de ser transportados hacia el laboratorio para obtener su peso fresco y después peso seco.

También, es importante tener en cuenta que por cuestiones de permisos, el tiempo que se tenían las plantas en el horno para deshidratar la planta y medir su peso seco no fue el mismo, se tuvo que reducir de 4 a 2 días en el horno, lo cual puede haber afectado en las mediciones de peso seco. Sin embargo, este cultivo sirvió para analizar hasta que punto el sistema arroja resultados válidos y resaltar los puntos débiles que se tuvieron.

7.10. Adquisición de pesos fresco y seco por el método tradicional

Una vez el primer cultivo de lechugas llegó creció lo suficiente para que su peso fuera perceptible por la balanza, y antes de que la universidad cerrara sus puertas, se procedió a apagar los sistemas y llevar las plantas a la universidad. Esto, para hacer uso de la balanza electrónica, cuyo rango de pesaje alcanzaba a diferenciar con precisión los miligramos, que era el rango en el que se encontraban los pesos de las lechugas. De ahí que, para hacer el cálculo de la biomasa, era necesario obtener el peso fresco y seco de las plantas y el área que ocupaban.

De esta forma, el primer cultivo que crecía bajo luz blanca, al llevarle 4 días de ventaja sobre el cultivo de la cámara de crecimiento, se llevó para la medición de su peso fresco el 18 de diciembre del 2020, con tal de equiparar los días de ventaja que se llevaban entre sí, y, más adelante, poder sacar conclusiones de su desarrollo. Luego, el 19 de diciembre del 2020 se llevó el cultivo que estaba creciendo dentro de la cámara de crecimiento.

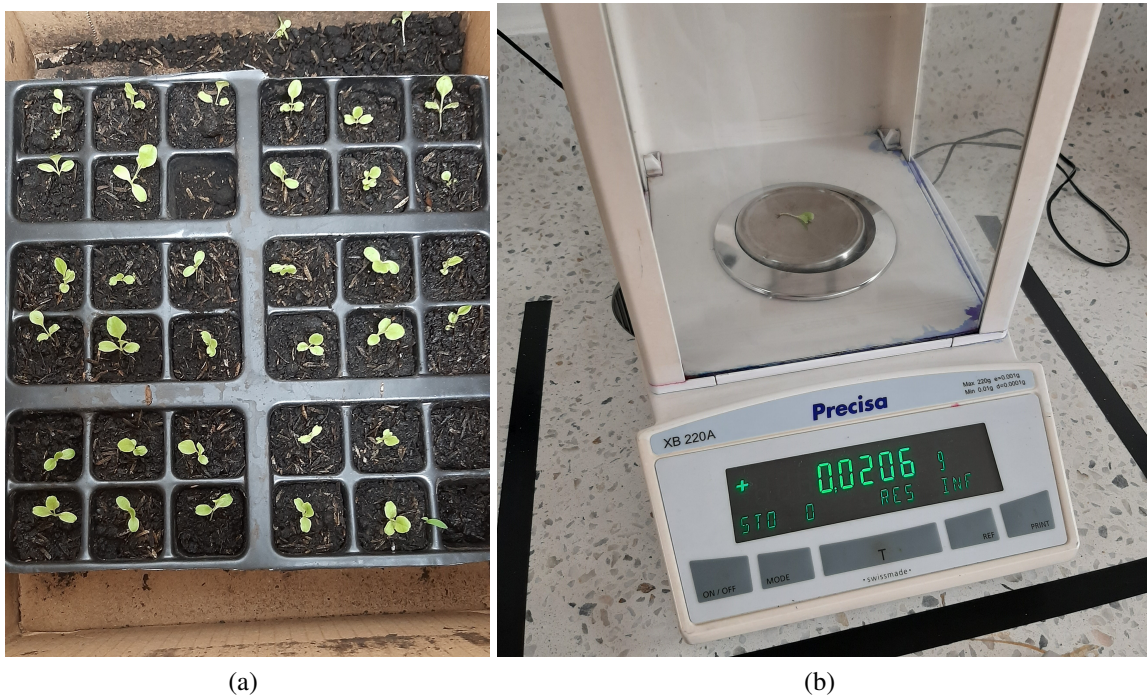


Figura 7.44: Último día del primer cultivo - (a) Lechugas después de 17 días de su siembra (b) Balanza utilizada para el pesaje de las lechugas.

En la Figura 7.44a se observa la última foto que se le tomó al interior de la caja en la que se transportaba al primer cultivo que estaba dentro de la cámara de crecimiento. También, en la Figura 7.44b se muestra la balanza de precisión de la universidad utilizada para obtener los pesos de las lechugas.

Una vez en la universidad, el procedimiento para obtener su peso fresco y seco fue el siguiente:

- Se identificaron las posiciones de las plantas.
- Se separó individualmente cada planta.
- Se lavaron las plantas con agua destilada para eliminar la tierra.
- Se pesaron las plantas en la cabina de la balanza, se cerró para evitar que las corrientes de viento afectaran el peso y así, obtener el **peso fresco**.
- Se insertaron en un pedazo de papel aluminio individual, se marcaron y enumeraron con sus posiciones pertenecientes.
- Se ingresaron al horno mostrado en la Figura 7.6 y se dejaron por 3 días a 50°C. Con tal de evaporar la mayor cantidad de agua de la que se componía la planta.
- Se sacaron del papel aluminio y se volvieron a pesar para hallar el **peso seco**

La adquisición del peso seco de ambos cultivos se hizo el día 21 de diciembre del 2020. De esta manera, una vez obtenidos los datos de los pesos, ahora, se debía obtener el área que ocupaban las lechugas cuando aún estaban en la bandeja de germinación. Para ello, se realizó un script del que se habla en la sección 7.12.3.

7.11. Impacto del color

Inicialmente, se planteó un supuesto, que el color de la planta relacionado con el valor del peso seco, estaría relacionado linealmente, lo cual estaba basado en la forma en que los seres humanos distinguen visualmente entre una planta que está llena de vitalidad y una que está secándose. De esta manera, se propuso que los valores que debían verse afectados directamente eran, por un lado la matiz del color (Hue), y su saturación. Por ejemplo, una planta llena de vitalidad se puede ver que tiene un color verde con alta saturación, lo que indica que hay varios fotorreceptores que están capturando la luz y por lo tanto, alimentando la planta. Por otro lado, se tiene el caso de una planta que se está secando, su color pareciese que cambia y su saturación disminuye por la falta de fotorreceptores. Entonces, lo que se comenzó buscando fue como se alteraban estos valores de matiz y saturación a medida que se desarrollaba desde la germinación.

Por esto, a medida que el cultivo iba creciendo, se iban comparando las imágenes de las plantas que estaban en la actualidad con las de días atrás, buscando un cambio significativo en las variables matiz y saturación. En ese mismo sentido, se encontró que la saturación fluctúa de manera brusca con el mínimo cambio de la incidencia de luz, dando como resultado valores que no se relacionaban, ni tenían un patrón que seguir. Igualmente, se observó que la matiz de las plantas tampoco variaba a medida que la planta se iba desarrollando, siempre se mantenía en un rango de valores de matiz entre 30 y 50. Aunque, si bien la cantidad de valores de matiz si variaba, tampoco seguían un patrón directo en la distribución de la misma, llevando a tener plantas que a pesar de tener un peso similar, su patrón de distribución porcentual de la matiz era distinta. En adición, una vez las plantas se llevaron a pesar, se tomaron fotos de las plantas frescas antes de llevarlas al horno, y luego, se fotografiaron después del proceso de secado para poder comparar su valor de matiz, encontrando que su matiz se mantenía incluso después de secarse, lo que efectivamente varió fue su saturación.

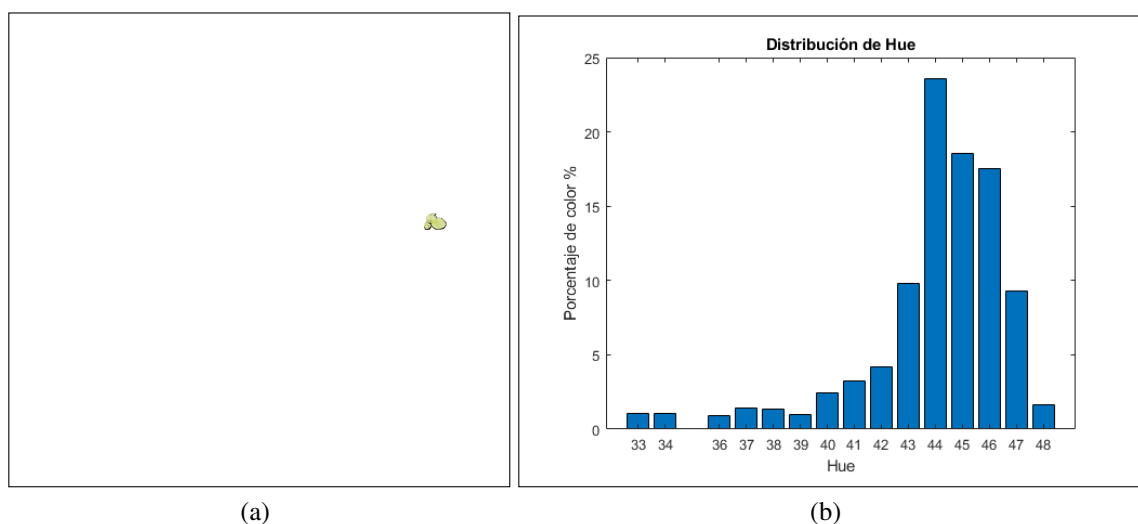


Figura 7.45: Histograma del color en la lechuga grande - (a) Lechuga más pequeña del primer cultivo dentro de la cámara de crecimiento, (b) Distribución de Hue en la lechuga pequeña.

De la Figura 7.45b se puede observar la distribución porcentual de los 15 valores más representativos de la matiz de la lechuga más pequeña mostrada en la Figura 7.45a del primer cultivo

de la cámara de crecimiento.

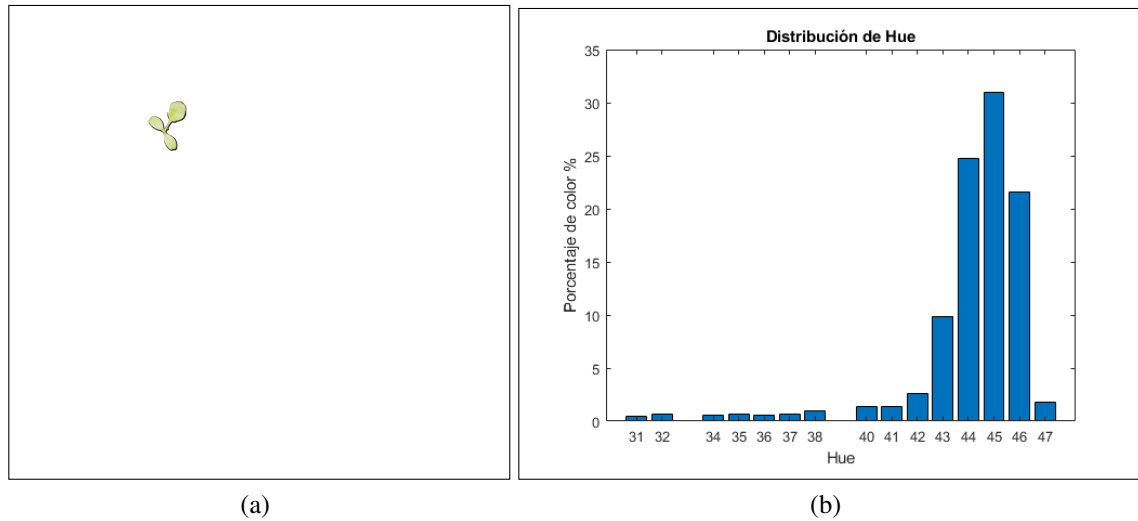


Figura 7.46: Histogramas del color en la lechuga pequeña - (a) Lechuga más grande del primer cultivo dentro de la cámara de crecimiento, (b) Distribución de Hue en la lechuga grande

Por otro lado, en la Figura 7.46b se muestra la distribución porcentual de los 15 valores más representativos de la matiz de la lechuga más grande mostrada en la Figura 7.46a del mismo cultivo. Así pues, al comparar las distribuciones de color de las Figuras 7.45 y 7.46, se puede apreciar que al estar pequeña la planta, pareciera que el patrón de distribución está más distribuido entre los valores de la matiz. Pero, lo que en realidad pasa, es que la cantidad de color verde de la planta es baja por su pequeño tamaño, estando casi al mismo nivel de la materia que no es hoja. Esto, se puede apreciar en la Figura 7.46b, en donde, al estar más desarrolladas las hojas de la planta, tiene más fotoreceptores que reflejan el color verde, lo que hace que la composición de la matiz de la imagen se concentre más en los rangos entre 40 y 50. No obstante, como se mencionó anteriormente, no se distribuyen en estos rango de manera uniforme, por lo tanto, no es posible asignarle pesos porcentuales a estos valores de la matiz que hubieran podido representar el peso de la planta con base en la cantidad que hubiese en las matices.

Por estas razones, debido a la varianza y falta de relación entre la distribución de la matiz y la alta sensibilidad de la saturación, se decidió descartar el análisis del color de las plantas para el cálculo de los pesos fresco y seco del proyecto.

7.12. Diseño de los programas

Para llevar a cabo el análisis de imágenes de la planta, se dividieron las diferentes en etapas en códigos por separado para poder hacer pruebas independientes y asegurar el correcto funcionamiento del programa. Por consiguiente, los procesos abarcaban las siguientes tareas:

- Identificación y separación de la planta.
- Control de ciclos de exposición a la luz, captura y almacenamiento de las imágenes del cultivo.

- Cálculo de área, pesaje y biomasa de la planta utilizando ajuste de datos obtenidos por medio del pesaje real.

Gracias a esto, fue posible separar y simplificar la carga que se tenía en cada punto, haciendo más sencillo el diseño y ejecución de cada programa. En todo caso, al final se hace un acoplamiento de estos programas en un solo lenguaje de programación para que el análisis de las imágenes no esté disperso en varios archivos.

7.12.1. PlantCV

Para lograr la separación de las componentes equivalentes a la planta del resto del fondo de la imagen, se hizo uso de librerías pertenecientes a la comunidad de OpenCV, específicamente PlantCV [2]. Se utilizó un script diseñado para remover el fondo no perteneciente a vegetación de un arreglo de plantas distanciadas entre sí, identificando, separando y guardando cada planta por aparte en una carpeta. Teniendo esto en cuenta, inicialmente, al estar trabajando con *Arabidopsis thaliana*, se recurrió a buscar imágenes de arreglos de esta planta para poder simular el resultado del cultivo y hacer pruebas con el script en PlantCV.

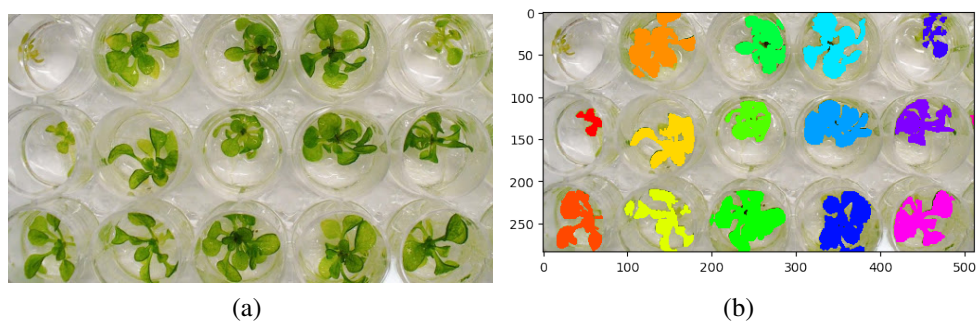


Figura 7.47: Primera prueba de separación de planta - (a) Imagen de Arabidopsis en recipientes usada en PlantCV - Fuente [15], (b) Identificación de las Arabidopsis.

Afortunadamente, se encontró la imagen que se muestra en la Figura 7.47a, la cual, se aproximaba a la imagen que se obtendría a través del sistema de captura con la cámara. De esta forma, se comenzaron a hacer pruebas para entender el funcionamiento del programa, logrando identificar y separar una parte de las plantas como se muestra en 7.47b. Así, una vez realizado las pruebas con configuraciones estándar, se encontraron algunos percances con algunos parámetros del programa.

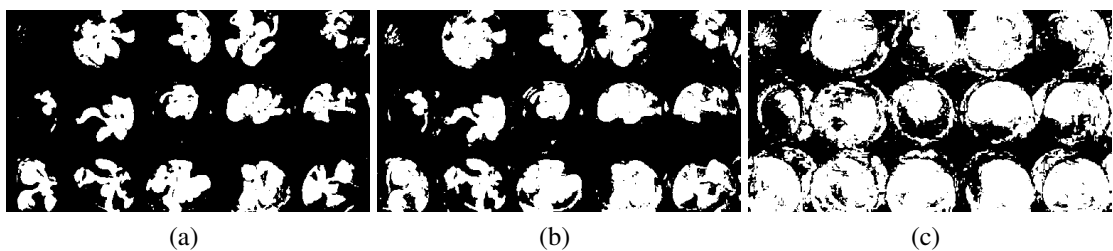


Figura 7.48: Impacto del valor del *Threshold* en la imagen - (a) Threshold 115, (b) Threshold 120, (c) Threshold 125.

Entre estos percances estaba el parámetro Threshold, el cual, con una sutil variación para filtrar el contenido de la planta, como se puede apreciar en la Figura 7.48, este podía tomar partes de la imagen que no eran relevantes a vegetación, como se muestra en la Figura 7.48c. O, en su caso contrario, omitir partes de la planta como se muestra en la Figura 7.48a, el caso neutro que se pudo lograr fue con un valor de 120, como se muestra en la Figura 7.48b. Lo anterior, fue un error que se encontró al usar las cajas de petri como recipiente para las plantas, ya que, al no ser un material completamente translúcido, parte de la lechuga se podía reflejar desde algún ángulo. Lo cual, presentaba un problema para el reconocimiento del programa, al no permitir que el filtrado de la planta se hiciera correctamente y brindando información falsa sobre la cantidad de vegetación que se encontraba en la imagen.

Más adelante, ya teniendo en cuenta que el recipiente translúcido puede brindar información falsa, se cambió el recipiente en el cual se iba a crecer el cultivo. Aunque, para esta ocasión, ya se había tomado la decisión de cambiar la planta de *Arabidopsis thaliana* a *Lechuga cressa simpson*. Entonces, se buscó en internet una imagen con un arreglo de estas lechugas en un recipiente opaco, nuevamente, para realizar pruebas mientras las plantas dentro de la cámara de crecimiento alcanzaban una etapa más madura.



Figura 7.49: Imagen de arreglo de lechugas usada en PlantCV - Fuente [16]

La imagen encontrada fue la que se muestra en la Figura 7.49, cuyo procesamiento fue más simple de hacer en comparación al de las *Arabidopsis* en cajas petri. Ya que, las plantas no tenían una superficie que reflejara la planta, y por ello, el programa lograba identificar su vegetación con más precisión. De esta forma, una vez comprendida la configuración del programa a grandes rasgos y con las plantas listas para el análisis, se procedió a ejecutarlo.

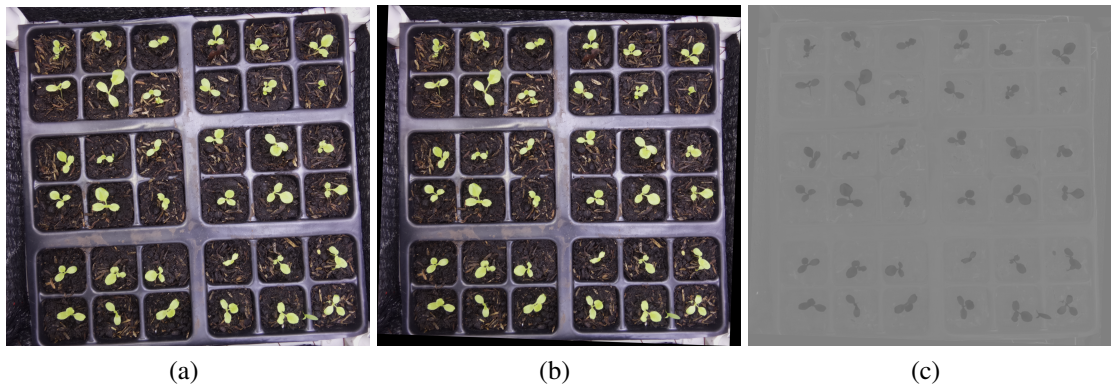


Figura 7.50: Rotación y conversión de espacio de la imagen - (a) Cultivo original sin procesamiento, (b) Imagen rotada -2° , (c) Conversión de RGB a espacio de color LAB.

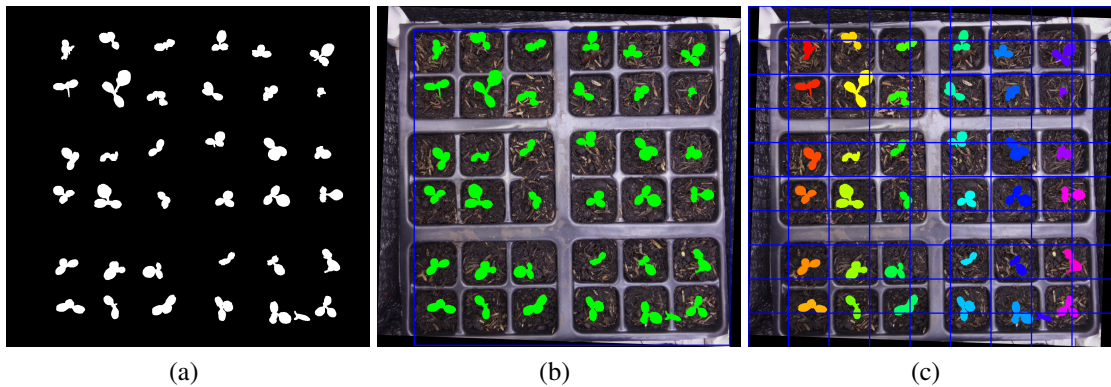


Figura 7.51: Identificación y separación de las plantas - (a) Dilatación de la imagen, (b) Localización de plantas en la imagen, (c) Identificación de plantas por separado.

En las Figuras 7.50 y 7.51 se muestran partes clave de los resultados de los pasos que se seguían para entender cómo era el funcionamiento del programa. Así pues, se puede describir de la siguiente forma:

- Primero, en la Figura 7.50a se muestra la imagen capturada por la cámara y sin procesar del primer cultivo, la cual, ingresa como input al programa.
- Segundo, en la Figura 7.50b se muestra que al no tener la imagen derecha, se hace un ajuste en su rotación, girandola 2° en el sentido de las manecillas del reloj.
- Tercero, en la Figura 7.50c se muestra la transformación del espacio de la imagen, pasándolo del espacio RGB al LAB; el espacio LAB cumple la funcionalidad de representar el color de una forma perspectivamente lineal, lo que significa que un cambio en la misma cantidad de un color debería producir un cambio parecido a nivel visual [64].
- Cuarto, utilizando la imagen en el espacio LAB, se obtiene la mascara de la imagen, separando las plantas del fondo por medio del parámetro *Threshold*, y se identificaban los objetos más pequeños ajustando el parámetro del tamaño mínimo que podían tener y

luego se dilataba la imagen para suavizar sus bordes y no perder información de las hojas, como se muestra en la Figura 7.51a.

- Quinto, como se muestra en la Figura 7.51b, se toman los datos de las posiciones encontradas previamente y se ubican en la imagen original.
- Sexto y último, una vez identificadas la posiciones de las plantas, se coloca una cuadrícula en la imagen para saber de qué tamaño es el arreglo y así saber cuantas plantas debería de encontrar. Entonces, se pasa a separar cada una de estas y se les asigna un color para verificar que estén las deseadas como se muestra en la Figura 7.51c y luego se guardan en la carpeta.

Así pues, una vez separadas todas las plantas del cultivo, se les asignaba un fondo blanco con la planta en la posición en la que estaba en la imagen. Por consiguiente, al tener cada planta por separado, se podía proceder a realizar el cálculo de área, pesos y biomasa con el programa de la sección 7.12.3.

7.12.2. Python en Raspberry

Para llevar a cabo el sistema de monitoreo y control del fotoperiodo, fue necesario diseñar un script en la Raspberry que permitiera tomar y almacenar las capturas realizadas por la cámara y a su vez, controlar los tiempos de exposición de luz a las plantas. Así pues, se diseñó un diagrama de bloques para plasmar la idea general de la funcionalidad del script. Y, una vez realizado y validado, se procedería a programarlo utilizando el lenguaje de programación Python, el cual es uno de los default en la Raspberry y con el que se planeó trabajar en el proyecto.

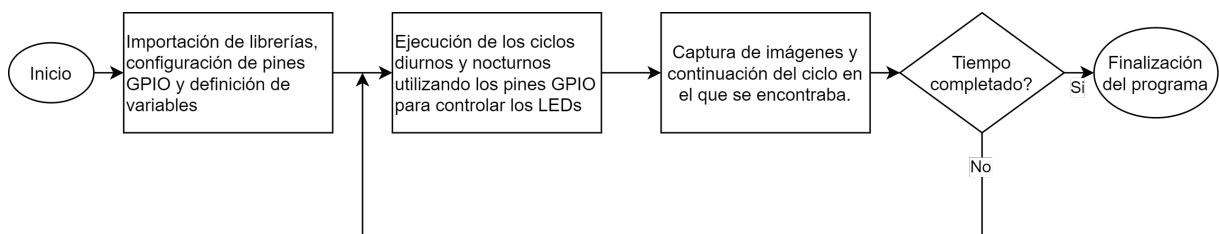


Figura 7.52: Diagrama de bloques del programa ejecutado en la Raspberry

El diagrama de bloques mostrado en la Figura 7.52 representa las etapas fundamentales del código que capturan y almacenan las imágenes junto con el control del fotoperiodo. En ese sentido, una vez iniciado el programa, se comienza con la importación de las librerías correspondientes a la **cámara** Raspberry para configurar sus propiedades de captura, **los pines GPIO** de la Raspberry para configurar su modo de funcionamiento como OUTPUT para la conmutación de los módulos LED de este proyecto. Y, la librería de **tiempo**, con la cual se añadirían funciones para asignar variables de tipo tiempo para usar el reloj interno de la Raspberry, y así, tener un control de fotoperiodo y los tiempos de captura de la imagen en el día. Es importante mencionar que usar la función "*delay*" para el control del fotoperiodo no era una opción, debido a que esta función coloca en pausa el programa entero y no se estaría evaluando si es tiempo de encender las luces flash y tomar la captura de imagen.

Después, una vez se han importado, configurado y definido las variables en su estado inicial, se procede a entrar al bucle del programa, el cual será el que se estará ejecutando continuamente durante el tiempo asignado a la duración del proyecto, en este caso, un mes. Entonces, dentro de este bucle se tienen dos procesos clave, el primero es el que está evaluando el estado del fotoperiodo y el tiempo que llevan, para así, determinar que acción se debe realizar, ya sea accionar los pines GPIO para cambiar el estado del fotoperiodo de día a noche o viceversa. Así mismo, los tiempos definidos para el fotoperiodo del programa diurno y nocturno fueron 18h y 6h respectivamente, ya que, este es el fotoperiodo en el que la planta se desarrolla de forma idónea [1].

Conjuntamente, se encuentra el proceso de captura de imágenes, en donde se programó que hiciera la captura de la imagen cada 12h. Esto, se definió en base al tiempo en el cual se podía notar una diferencia visual explícita en el desarrollo de las plantas. También, fue necesario utilizar la función delay para detener el programa por 5 segundos una vez encendidas las luces flash o LEDs blancos, esto con tal de darle un tiempo a la cámara de que se encienda y enfoque el objeto. Entonces, se debía contemplar que si el estado del fotoperiodo era diurno, el sistema debía apagar las luces LED rojas y azules para que seguidamente, se encendieran las luces flash para hacer la captura con toda la información de las longitudes de onda visibles, y, acto seguido después de capturar las imágenes, volver a encender las luces para que siga su fotoperiodo diurno. Por otro lado, si se encontraba en fotoperiodo nocturno, se debían de encender las luces flash, capturar la imagen y volver a apagar las luces para que continuara con su fotoperiodo nocturno.

De esta forma, al terminar de evaluar los estados, tiempos de las variables y ejecución de las acciones, se pasa a evaluar el tiempo que lleva ejecutándose el programa desde el principio. Para así, en caso de que ya se haya completado tiempo destinado, finalice el programa y apague todo. De lo contrario, volverá al comienzo del bucle, analizando nuevamente los estados y actualizando las variables de tiempo.

7.12.3. Matlab

Cálculo del área de la planta

Así pues, una vez culminado el proceso de separación del fondo ejecutado en la sección 7.12.1, se hizo una transformación del modelo RGB de la imagen a HSV, para así, separar y analizar su componente matiz y tener una relación más directa con el color, en sentido de que solo es una componente la que hay que analizar, y no 3 como en RGB. Después, se hizo un ajuste de la escala del rango de los valores del elemento matiz multiplicando el vector por 240, debido a que estos se convierten en el rango entre 0 y 1, pero normalmente se analizan con números enteros desde 0 a 240.

Luego, se realizó filtrado de bordes de la planta por color, debido a que era un borde añadido por PlantCV después del filtrado del fondo de la imagen completa que no equivalía a planta. Para este caso, se hizo el filtrado para seleccionar solo los valores entre 30 y 100, los cuales, representaban los valores del verde más representativo en la lechuga. Además, en los datos arrojados por el histograma en la Figura 7.45 y 7.46, se pudo analizar que en este rango se encontraban la mayoría de los píxeles, llevando a entender que era el color predominante a analizar su relación con los pesos fresco y seco. Así, en caso de estar por fuera de este rango, se le

colocó un valor de matiz de 0, que se sitúa en un valor rojo con saturación en 0, y, al quitarle la saturación, sitúa el color del pixel en un blanco, el cual era el color del resto de la imagen filtrada en la sección 7.12.1.

De esta forma, se dejaron incluidos en un vector el número de píxeles equivalentes a la planta, excluyendo los de color blanco ya que eran el fondo. De aquí, se reconstruyó la imagen y se mostró para verificar las correcciones.

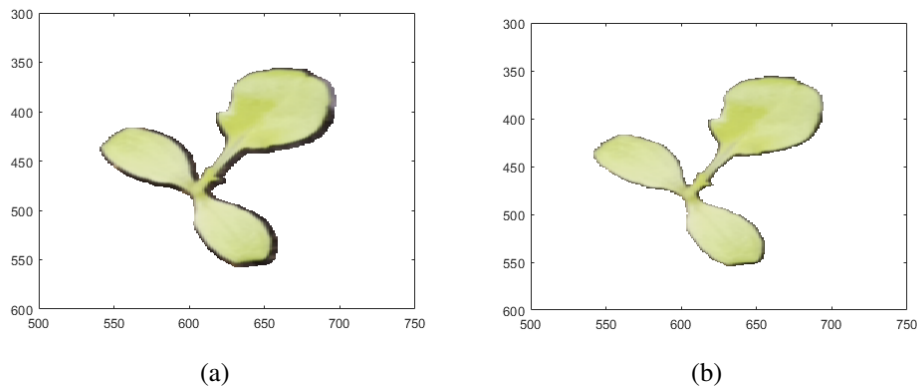


Figura 7.53: Filtrado del color - (a) Planta sin filtro de color, (b) Planta con filtro de color.

En la Figura 7.53 se muestra la transición de la imagen antes de realizar el filtrado (7.53a) y después del filtrado (7.53b). También, como ya se conocía el valor de las dimensiones de la imagen mencionadas en la sección 7.8.1, por ende, se podía hallar el valor del área de cada pixel, al dividir la dimensión de la imagen por la cantidad de píxeles de esa dimensión. En este caso, al tener un área de $28.1 \times 26.2 \text{ cm}^2$, y una cantidad de 1800×1920 píxeles respectivamente, se procedió a dividirse entre sí, y luego, se multiplicó el resultado por la cantidad de píxeles diferentes en matiz a 0 y 1 hallados anteriormente. De esta forma, se calculó el área que ocupaba la planta en la imagen, no obstante, con el fin de obtener una validación de este dato, se procedió a usar el programa EasyLeaf para ver cual era el error entre estas aproximaciones.

EasyLeaf

Es un software utilizado para saber directamente cual es el área que ocupa una planta. Este programa utiliza la relación entre un objeto de referencia color rojo cuyas medidas son conocidas para así descartar el fondo por medio basandose en el color verde y de la imagen y seleccionar de una forma básica lo que es planta y sus medidas aproximadas. Sin embargo, al ya tenerse una imagen con el fondo filtrado, el programa solo debería relacionar las medidas del objeto rojo con la planta, el cual, para esta prueba, fue una figura cuadrada.

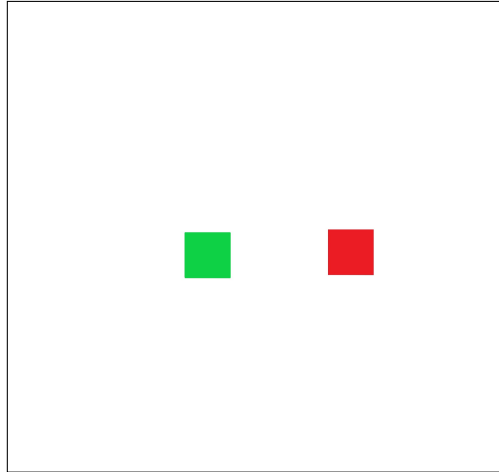


Figura 7.54: Cuadros para comparación de áreas calculadas

Los cuadrados mostrados en la Figura 7.54 fueron diseñados en paint con las mismas medidas, tomando como referencia uno de los cuadrados del tablero de ajedrez mostrado en la Figura 7.32, cuyas dimensiones reales eran $(2,75\text{cm})^2 = 7,56\text{cm}^2$. También, se hizo la imagen con la misma cantidad de pixeles que la imagen tomada por la cámara, 1920x1800 pixeles. Esto, para representar las dimensiones de la imagen capturada, y así, ver cuan precisa podría ser la aproximación de este software comparado con el programa diseñado. Entonces, el resultado del análisis de Easyleaf fue igual a 7.8cm^2 , mientras que, el resultado obtenido en el programa diseñado fue de 7.77cm^2 . No obstante, el error se debió a que el programa no dejaba escalar las dimensiones del cuadro a 7.56cm^2 , así que, se redondeó hacia arriba a 7.6cm^2 .

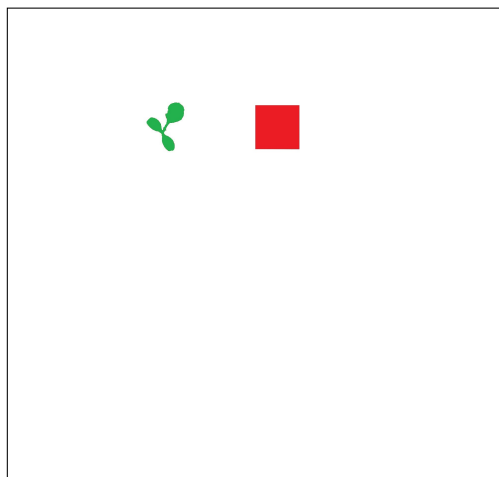


Figura 7.55: Planta con cuadro utilizado para la comparación de áreas

En ese mismo sentido, la Figura 7.55 se muestra la imagen utilizada para hallar el área de una de las plantas del cultivo, para saber cual sería el error ya en las imágenes prácticas. Ahora bien, al utilizar el mismo software de Easyleaf con los parámetros anteriores, se obtuvo que el área es igual a 2.61cm^2 . Por otro lado, utilizando el programa diseñado, se obtuvo un área de 3.06cm^2 , cuya diferencia tiene un error del 15%. Esta se debe a que, se parte del hecho de que PlantCV entrega la imagen con lo que representa solamente planta y Easyleaf tiene otro

filtro independiente en donde busca eliminar lo que no hace parte de la planta. Lo cual, causa conflicto con la imagen entregada por PlantCV, y, para ello, se rellenó manualmente la planta de color verde y así, evitar que Easyleaf eliminara partes de la planta en la imagen. Sin embargo, este sigue contemplando otros componentes diferentes a los que se considera en el programa diseñado, más allá de los bordes.

De esta manera, se puede concluir que el programa diseñado tiene un error en el cálculo del área relativamente bajo al compararlo con el resultado de Easyleaf, descargado para validar que los datos obtenidos con el programa diseñado tengan sentido. Sin embargo, no se usa Easyleaf como programa para calibración, ya que, sus propiedades internas de separado de planta hacen que difieran los resultados.

Mejora de la calidad de la imagen

Como ya se mencionó antes en la sección 7.8.2, inicialmente se tuvo la idea de que la baja resolución de la imagen podía ser causada por la baja luminosidad del flash que daría como resultado una baja relación SNR. Entonces, para mejorarla, se utilizó el promedio temporal. El cual, cumple la función de aumentar la relación SNR a través del promedio de múltiples imágenes capturadas en un corto lapso, el cual fue de 20s aproximadamente para 10 fotos.

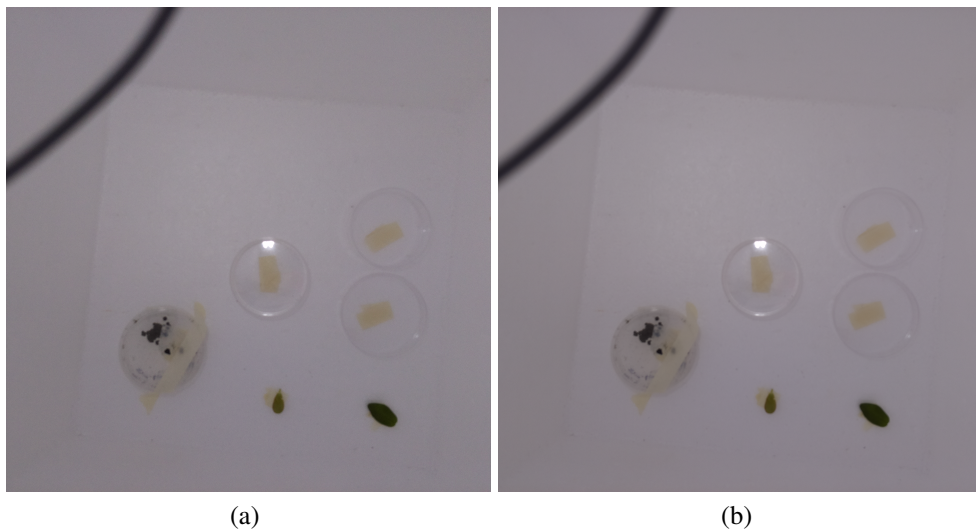


Figura 7.56: Cámaras Raspberry - (a) Imagen N piloto, (b) Imagen obtenida con el promedio de las imágenes.

En la Figura 7.56 se muestra la comparación entre una de las 10 imágenes capturadas al inicio del proyecto (7.56a) para probar la mejora de la imagen. De esta forma, en la Figura 7.56b se muestra el resultado del promedio de las imágenes, cuya mejora no fue lo suficientemente significativa. Y, al no tener esta mejora, ni una referencia de la señal con respecto al ruido, no se logró cuantificar este resultado, pero era evidente que debía mejorarse de otra forma.

Así pues, más adelante se encontró que la cámara tiene un anillo de enfoque al lado del lente, el cual pasa desapercibido a primera vista. Con este, se logró mejorar la captura de información de la imagen, dándole más nitidez para procesarla.

En resumen, lo que se pensaba que era un problema de resolución de la imagen por carencia de luz, terminó siendo un problema de enfoque de la cámara. Ya que, por software no era posible hacer este enfoque y visualmente estaba algo escondida al ser tan pequeña.

Capítulo 8

Resultados y análisis

8.1. Ajuste de datos

El ajuste de datos para hallar los pesos fresco y seco fue realizado con regresiones lineales, polinomiales y splines. Esto para comparar la bondad de ajuste de las funciones resultantes con los datos experimentales obtenidos. De esta manera, se tendrían funciones para calcular los indicadores de desarrollo a partir de datos obtenidos a partir de la imagen, como el peso fresco a partir del área de la planta.

8.1.1. Peso seco

El cálculo del peso seco se realizó de manera sencilla, una vez obtenidos los datos reales de los pesos de las plantas tanto en seco como en fresco, se pasó a hacer una gráfica para ver si tenían un patrón que los relacionara directamente. Para esto, se hizo uso tanto de los pesos frescos de las plantas crecidas bajo luz blanca como de las plantas crecidas dentro de la cámara de crecimiento diseñada, con un total de 65 muestras. De esta manera, al ampliar el rango de datos que se tenía, se tendría más certeza sobre el tipo de patrón que se iba a encontrar.

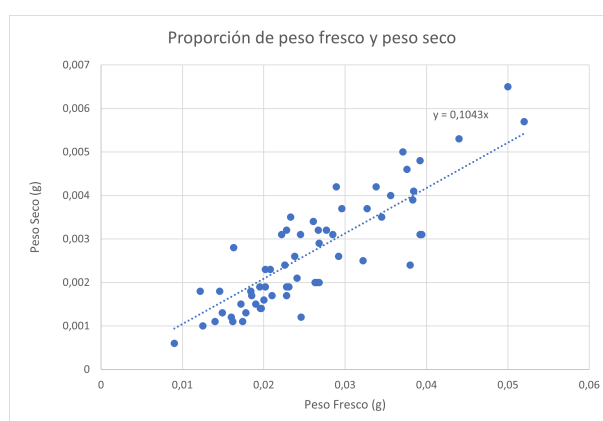


Figura 8.1: Ajuste lineal de la relación peso seco vs peso fresco

Como se puede observar en la Figura 8.1, se consideró una aproximación lineal en relación entre el peso seco vs el peso fresco. Esto porque de la gráfica se puede notar que, a pesar de la dispersión, a medida que van aumentando de peso fresco las plantas, también van aumentando

con una pendiente constante los pesos secos, y esa gran dispersión puede ser debido a que en todas las muestras, no se hizo un protocolo igual, debido a todas las situaciones que se presentaron tanto en tiempo como en materiales. Entonces, de la regresión lineal de los datos se encontró que la pendiente de la recta que describía la relación peso seco vs peso fresco es de **0.1043**, como se muestra en la Figura 8.1. Una vez obtenida la ecuación que la relacionaba, era posible hacer la conversión directa de peso fresco a peso seco al multiplicar el valor de la pendiente por el peso fresco obtenido con un error relativo del 25.66% debido a la alta dispersión de los datos. Esta alta magnitud del error no se consideraba en un inicio por la planta que se iba a manejar y las escalas de peso en las que se analizarían los datos, se esperaba un error menor al 15

8.1.2. Peso fresco

El cálculo del peso fresco fue más elaborado que el del peso seco. Esto, debido a la relación que se buscó con el área que ocupaba la planta en la imagen, y, el comportamiento que se esperaba que tuviera la gráfica en un rango de valores razonables. Por ejemplo, al proyecto tener un corto alcance, en donde las plantas no iban a culminar todo su ciclo de vida, no era posible abarcar los datos del área de la planta desde 0 hasta el área máxima. Por esto, era necesario hacer una extrapolación utilizando los datos que ya se tenían para predecir los siguientes. No obstante, el comportamiento de la gráfica debía ser tal que al inicio comenzara de forma constante mientras desarrollaba sus hojas y su sistema de fotosíntesis, en su intermedio debía haber un punto de inflexión donde podría capturar más energía lumínica, para así, crecer de una forma más rápida por su sistema de fotosíntesis. Y, por último, al saber que la planta no iba a crecer indefinidamente, debía llegar a un tope en el que se mantuviera constante el peso por más que creciera el área.

Por esta razón, se añadieron 3 componentes al final de los datos, 2 de ellas tenían el valor (área, peso fresco) de (300, 40) y (500,80), las cuales, cumplirían la función de guiar el ajuste de datos para que tuviera la forma con las características que se describieron anteriormente. Sin embargo, la última componente de peso final [40] y área máxima [5], equivalentes a 93g y 706cm^2 respectivamente, fueron puestas con referencia a páginas de agricultura que tenían información sobre las características de la lechuga simpson crespita. De esta forma, se tendrían valores finales que corresponden a las características reales de la planta.

Una vez tenidas estas bases se procedió a realizar los diferentes ajustes de datos.

8.1.3. Ajuste polinomial

Para el este tipo de ajuste se hizo uso de la función **Polyfit** de MATLAB, la cual, su facilidad de uso permite hallar los coeficientes de un polinomio para ajustar los datos obtenidos. Como lo son el peso fresco de la balanza, los valores de las áreas de la planta encontradas por medio del programa diseñado previamente en 7.12.3 y también tomara el grado del polinomio con el cual se quería realizar el ajuste de datos. De esta manera, se procedió a ajustar los datos utilizando polinomios de grado 2 y 3 para ver cuál era su comportamiento, y así, seleccionar el mejor en caso de ser lo suficientemente precisos.

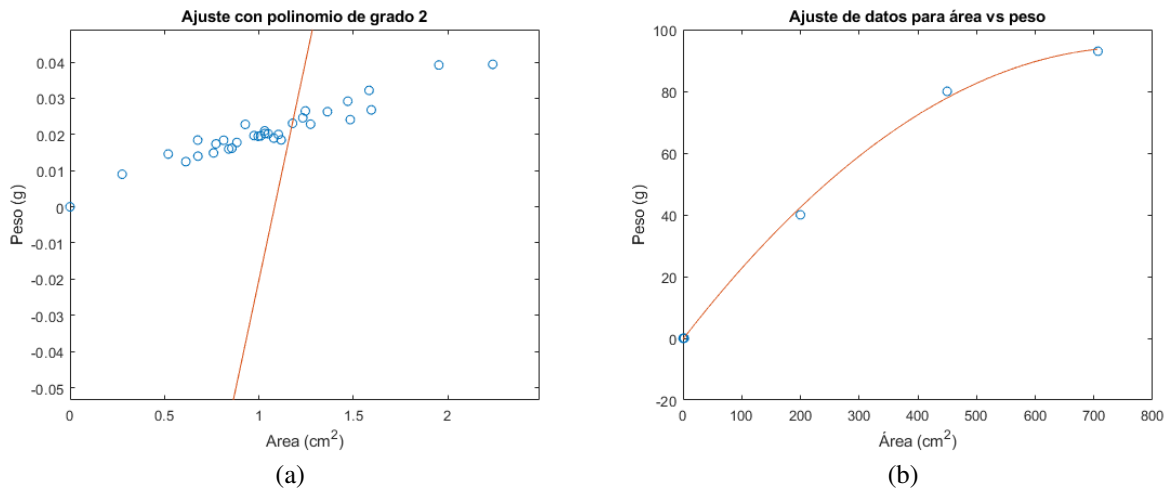


Figura 8.2: Ajuste de datos utilizando polinomio de grado 2 con la función spline - (a) Superposición de las muestras medidas y las calculadas con el polinomio de grado 2, (b) Función extrapolada obtenida con los coeficientes de polinomio de grado 2.

Las gráficas mostradas en la Figura 8.2 muestran una superposición de los datos reales con la función continua generada por los coeficientes entregados por la función `polyfit` de MATLAB para un ajuste con un polinomio de grado 2. Así, se puede observar en la Figura 8.2a que la fidelidad de ajuste de es baja, comenzado por el hecho de que no se ajusta al patrón que tienen los datos al principio, creciendo de una forma acelerada desde valores negativos y dejando por fuera valores que están cerca más cercanos al origen. Por otro lado, en la Figura 8.2b se observa que el comportamiento de la gráfica extrapolada a mayor escala cumple a grandes rasgos con las características propuestas, de peso final igual a 93g con un área de 706cm^2 .

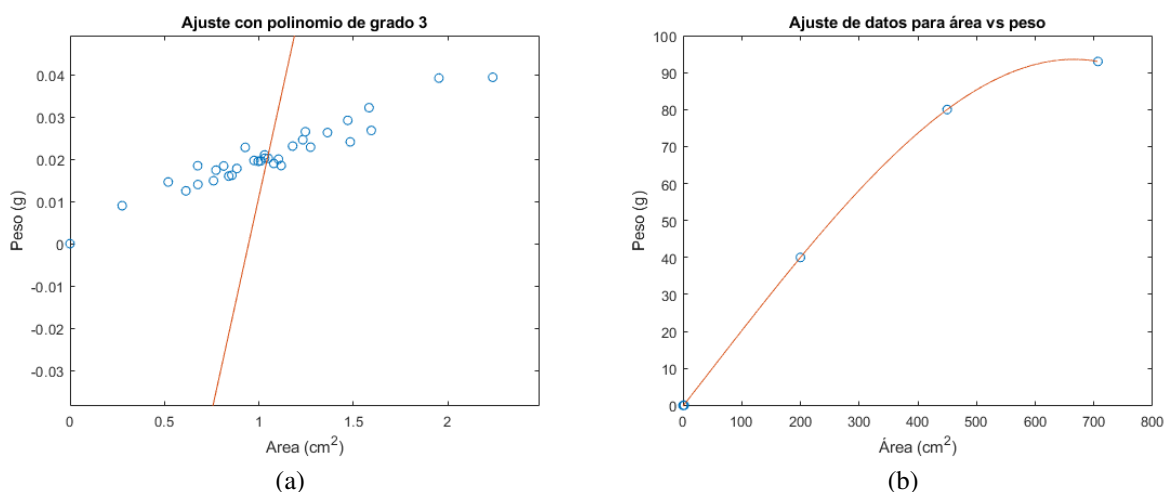


Figura 8.3: Ajuste de datos utilizando polinomio de grado 3 con la función spline - (a) Pesos obtenidos con los coeficientes de Hermite en las áreas registradas, (b) Función extrapolada resultante con los coeficientes utilizando un polinomio de grado 3.

En las Figuras 8.3 se muestra nuevamente la superposición de los datos reales junto con la función continua generada, pero esta vez, utilizando un polinomio de grado 3. De igual forma, se puede observar en la Figura 8.3a que los datos de la función no siguen fielmente los datos reales que se buscaban ajustar. Sin embargo, se puede notar que a diferencia del polinomio de grado 2 de la Figura 8.2 la pendiente disminuye y es más parecida a los datos con un polinomio de grado 3. También, en la Figura 8.3b se muestra la función resultante extrapolada, la cual, se puede notar que tiene un comportamiento más parecido a las características propuestas a largo de la función.

8.1.4. Ajuste de datos con Hermite cúbico

Una vez analizados los resultados de las aproximaciones polinomiales, se buscó una forma más robusta de ajustar los datos y lograr un comportamiento de la función fiel a los datos reales y que siga el patrón de relación área vs peso que se propuso previamente.

De esta manera, se consideró usar el interpolador cúbico de Hermite descrito en 5.3.5 para ajustar los datos. Dado a que, a pesar de este tener polinomios cúbicos, este permite manipular la forma de la función con respecto a la suma de diferentes funciones básicas de Hermite, teniendo un mayor control sobre el ajuste de los datos, mientras que el ajuste polinomial define los coeficientes del polinomio con respecto a los datos. Así, las características que permite manejar este ajuste de Hermite es el comportamiento de la gráfica al comienzo y al final de su intervalo de trabajo. Por este caso, se hizo uso de dos de las funciones mencionadas en 5.3.5, la h_{10} y la h_{01} cuyas entradas eran respectivamente la pendiente con la que comenzaba, y la otra, era el valor final máximo que se esperaba del peso fresco. Así, al tener una pendiente inicial definida se corregía una de las falencias de los ajustes polinomiales, la cual fue que no se adecuaban al patrón que tenían los datos al comienzo, cuya escala era pequeña. También, al tener un valor máximo para el peso, se cumplía otra de las características propuestas, que sin importar el área, se mantendría constante.

En ese sentido, para hallar la pendiente que seguían los datos al principio, se hizo uso de una hoja de cálculo de Excel para implementar una regresión lineal en los datos iniciales, y así, hallar la pendiente que mejor describía los datos.

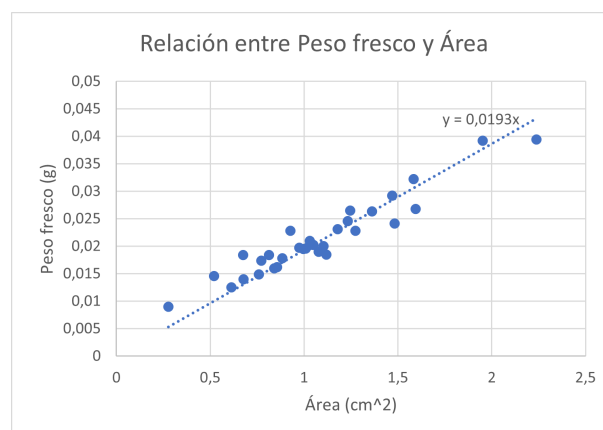


Figura 8.4: Ajuste lineal de la relación área vs peso fresco

La pendiente (m_0 hallada por la hoja de cálculo) tenía un valor de **0.0193**, como se muestra en la Figura 8.4. Por otro lado, para este proyecto, debido a la falta de datos de todo el ciclo de vida de la planta por el alcance del proyecto, se hizo uso de los valores hallados con las plantas que se crecieron en la pequeña escala, y luego se intentó extrapolar para darle una forma esperada de la relación área y peso fresco. Así, se sabía que uno de los mayores pesos alcanzados (P_f) por este tipo de lechuga era de 93g [40], entonces, para hallar el área máxima que podía alcanzar y relacionarlo con ese peso, se aprovechó la forma casi circular de la planta en su etapa madura hallada páginas de agricultura y se aproximó su área utilizando el radio que tenía la planta, el cual era de 15cm [5] y se usó la ecuación para hallar el área de un círculo:

$$A_f = \pi r^2 \rightarrow \pi 15cm^2 = 706,8583cm^2 \quad (8.1)$$

De esta manera, ya se tendrían todos los datos necesarios para construir la función utilizando el interpolador cúbico de Hermite. Por lo tanto, los pasos para construir la función basándose en los parámetros descritos en 5.3.5 fueron los siguientes:

- Se declararon las variables de la pendiente (m_0), el área máxima (A_f) y el peso final (P_f).
- Se normalizó con el valor del área máxima (A_f) el eje de la variable independiente, correspondiente al eje de las áreas.
- Se calcula el valor de h_{10} y h_{01} .
- Se construye la representación final del polinomio utilizando las funciones de Hermite h_{10} y h_{01} , teniendo como resultado:

$$p(t) = A_f h_{10}(t) m_0 + P_f h_{01}(t) \quad (8.2)$$

En donde el primer termino se multiplicó por A_f para desnormalizar la variable independiente correspondiente al área, y, también se multiplica por m_0 para asignarle el comportamiento inicial con esa pendiente. Igualmente, el segundo termino se multiplica por P_f para escalar la variable dependiente correspondiente al peso fresco.

Así pues, una vez obtenida la función que ajusta los datos de peso fresco y área, se procede a graficarla para ver cual es su comportamiento y compararlo con los datos reales.

8.2. EVALUACIÓN DE DATOS CALCULADOS POR EL SISTEMA DE MONITOREO Y POR EL MÉTODO TRADICIONAL

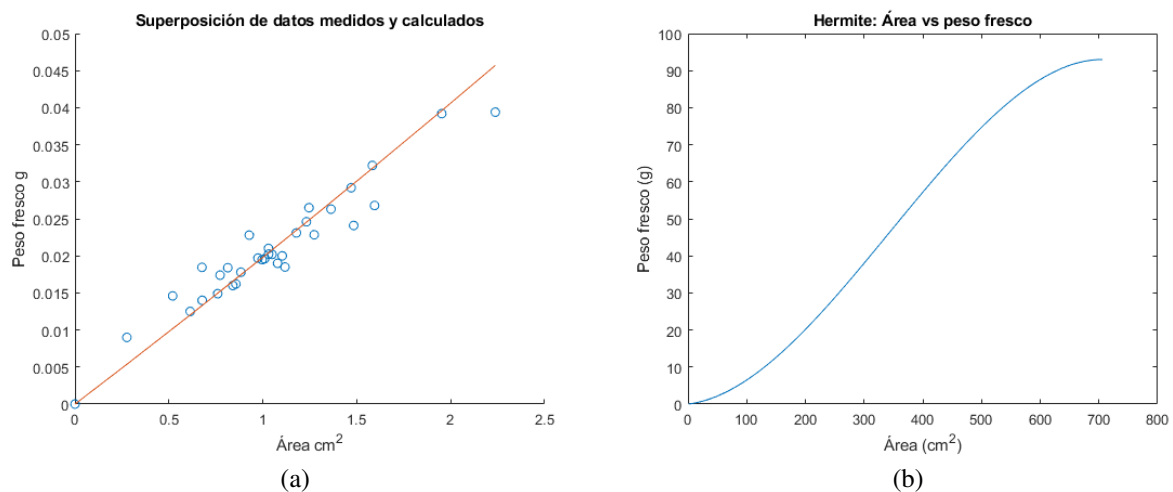


Figura 8.5: Función de Hermite - (a) Pesos obtenidos con los coeficientes de Hermite en las áreas registradas, (b) Función extrapolada de peso fresco en relación al área por el método de Hermite.

En la Figura 8.5 se pueden observar las gráficas obtenidas al utilizar el interpolador cúbico de Hermite. En donde, se puede apreciar en la Figura 8.5a que el ajuste de datos satisfactoriamente sigue el patrón de los datos reales a escalas pequeñas, lo cual era el fallo al usar los ajuste polinomiales. De igual forma, se muestra en la Figura 8.5b como el comportamiento de la función extrapolada cumple con las características propuestas en un inicio. En donde, se puede observar el punto de inflexión que representa la mejora absorbiendo la energía solar una vez alcanza una etapa de crecimiento más madura. También, se puede observar como al final se comienza a estabilizar suavemente en un punto máximo, lo cual sucede porque alcanza la mayor etapa de madurez, donde sería ideal su cosecha.

De esta forma, por los excelentes resultados obtenidos utilizando el interpolador cúbico de Hermite, se seleccionó para ajustar el peso fresco de la planta a partir del área que esta ocupa en la imagen.

8.2. Evaluación de datos calculados por el sistema de monitoreo y por el método tradicional

Ahora bien, a pesar de que el resultado final del programa debe ser biomasa, la forma en la que esta se define en 5.1.6 es el peso sobre el área que ocupa, lo cual, al tener una relación lineal, es posible hacer la prueba de bondad desde la estimación del peso fresco. Así, para cuantificar la bondad de ajuste del modelo empleado, se utilizaron 2 indicadores:

- Raíz del error medio cuadrado
- Error relativo cuadrado

Sin embargo, el valor obtenido por el RSME descrito en 5.3.6 arroja un valor porcentual de error equivalente al 1.5%. Lo cual significaría que el modelo ajusta de forma casi ideal el valor

del peso fresco, sin embargo, este tampoco tiene en cuenta el rango de los datos tomados.

Después, se hizo uso del RSE descrito en 5.3.7, en donde, se calculó un error del 12%. Este indicador evalúa los datos de forma relativa a su escala, obteniendo un error resultante bajo y correspondiente para el rango en el que se estaba trabajando, y cumpliendo con lo que se requería de que tuviera un error máximo del 15%.

Por estas razones, es posible decir que, el modelo hallado con el interpolador cúbico de Hermite para el cálculo de la biomasa es lo suficientemente precisa para la escala y el uso de imágenes para el cálculo de la biomasa.

8.3. Unificación de los programas

Finalmente, una vez se tenían todos los programas que permitirían hacer el cálculo de la biomasa de la planta, se procedió a unificarlos en un archivo de Jupyter notebook, cuyo lenguaje de programación es Python. Esto, debido a que la mayoría del código fue desarrollado en este lenguaje por su amplio contenido de librerías y soporte en foros. De esta forma, el funcionamiento de los procesos del programa diseñado se puede resumir como se muestra en el siguiente diagrama de bloques:

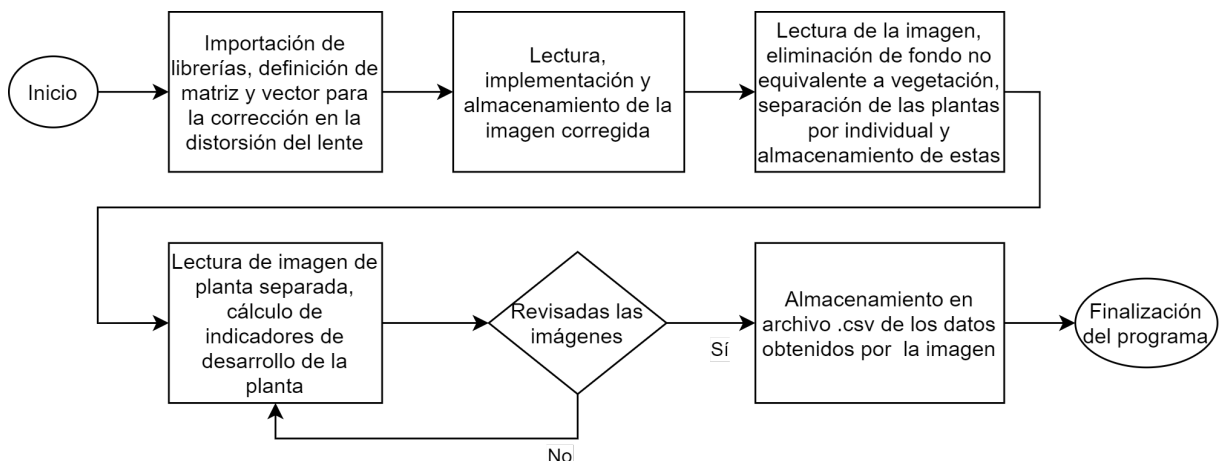


Figura 8.6: Diagrama de bloques del programa final de cálculo de indicadores de desarrollo de la planta

Así pues, como se puede apreciar en la Figura 8.6, cada proceso del diagrama es equivalente a los programas diseñados a lo largo de esta sección 7.12, organizandolos de acuerdo a su impacto en el procesamiento de la imagen. Así, se puede entender el siguiente orden en la ejecución del programa:

- Inicialmente, se hace la importación de todas las librerías utilizadas en todos los programas y se definen las matrices encontradas al utilizar el script para la corrección del lente de la sección 7.8.3. Con estas matrices, se podían corregir la distorsión que tuvieron en común todas las imágenes al ser capturadas por una misma cámara con la misma configuración.

- Después, se ingresa la imagen del cultivo para su respectiva corrección haciendo uso de las matrices de corrección y el almacenamiento de la imagen resultante.
- Luego, se ingresa la imagen corregida para su identificación y separación de lo equivalente a vegetación utilizando el software descrito en la sección 7.12.1.
- Seguidamente, se cargan todas las imágenes creadas de las plantas por separado para hacerle el cálculo de los indicadores de desarrollo a cada una de las plantas por individual, calculando el área, peso fresco, peso seco y biomasa, como se describió entre las secciones 7.12.3 y 8.1, almacenando estos datos en una variable de tipo array.
- Por último, una vez obtenidos todos los indicadores de las plantas, se almacena la variable de tipo array en un archivo .csv.

De esta forma, el resultado final del programa realizaba el cálculo de estos indicadores y almacenaba los datos en un archivo .csv para que pudiesen ser manipulados por el usuario después, ya sea subiéndolos a una base de datos o importándolos a una hoja de cálculo.

Por otro lado, cabe mencionar que el programa de captura de imágenes desarrollado en la sección 7.12.2 no fue unificado por facilidad de manipulación y almacenamiento de las imágenes en caso de que el usuario deseara hacer uso de estas. Así, podría acomodarlas junto con el resultado del análisis en una carpeta aparte con más almacenamiento.

8.4. Análisis de resultados

La intensidad lumínica a la que se deben de alimentar las plantas, la temperatura del ambiente, el riego de las plantas, el recipiente de las plantas y la tierra en la que se cultivan, son parámetros y actividades cruciales para el buen desarrollo de la planta. Como se pudo observar a lo largo del proyecto, a pesar de hacerle incidir en la planta el fotoperiodo adecuado para su crecimiento, la carencia de intensidad lumínica entregada por el sistema fue una de las razones por las cuales el desarrollo de la planta no fue óptimo y no se pudo llevar a cabo un correcto análisis en las diferentes etapas del ciclo de la planta.

En contraste a lo anterior, se obtuvo un peso máximo de 0.5g en los mismos 70 días que se tuvo dentro de la cámara de crecimiento. Esto se debió a la gran diferencia que había entre la intensidad lumínica que requería la planta que era de 300 PPFd [1] y la proporcionada por el sistema que fue de 63 PPFd. Por lo cual, la fotosíntesis realizada no alcanzaba a suplirle toda la energía que requería la planta para su óptimo desarrollo, lo que se reflejó en la baja velocidad de crecimiento con la que la planta se desarrollaba.

Igualmente, las longitudes de onda con las que se alimentaba la planta tienen un impacto significativo en su crecimiento. Esto se muestra al comparar el desarrollo del cultivo dentro de la cámara de crecimiento y el cultivo dentro del invernadero externo de la sección 7.9.1, en donde el cultivo del invernadero a pesar de tener menor intensidad lumínica con luz blanca en fotoperiodo de 12h, tuvo un mejor desarrollo que la de la cámara de crecimiento. Más aún, el no tener los materiales y ambientes adecuados para la implementación del sistema tales como la temperatura del ambiente y el espacio de crecimiento de las plantas, se le dificultó a la planta llevar

a cabo su desarrollo completamente. Debido a que, al estar en un espacio pequeño, sus raíces requerían de más nutrientes y riego del que se les estaba proporcionando para complementar su proceso de fotosíntesis.

Por otra parte, es importante mencionar que ante uno de los problemas encontrados, el cual era la elongación del tallo por falta de intensidad lumínica en las plantas, la solución proporcionada por el papel aluminio fue eficiente. Esto en el sentido que, ayudó a impedir la disipación de energía lumínica en las paredes de la cámara de crecimiento, y en su lugar, la redirigió hacia donde estaba el cultivo, brindándoles la energía para comenzar a crecer no a lo alto sino a lo ancho que era lo que se buscaba. Por esta razón, el hacer uso de materiales reflectivos en las paredes de la cámara de crecimiento cuando se tiene larga distancia entre la fuente lumínica y el cultivo, ayuda a mejorar conservar la energía transportada por los fotones adentro.



Figura 8.7: Segundo cultivo en etapa de crecimiento avanzada en relación al primer cultivo

Por otro lado, las imágenes capturadas del segundo cultivo como la de la Figura 8.7 mostraban que a medida que las plantas van creciendo, no se van a mostrar en todo momento el área de sus hojas a la cámara, sino que, también crecerán a lo alto y en dirección hacia la cámara. Lo cual, llevó al programa a dar información incompleta sobre su área total, puesto que no era posible con una sola imagen del cultivo desde arriba ver cual era la proporción restante de vegetación de la planta. En este mismo sentido, la implementación de análisis del color de las plantas utilizando el modelo HSV no fue posible utilizarlo para complementar el cálculo del peso fresco y seco calculado a través del área que ocupaba la planta. Ya que, sus grandes variaciones en sus componentes de Saturación y Luminosidad en respuesta a un ligero cambio de luz no permitió realizar un análisis para poder relacionarlos. Igualmente, las diferentes distribuciones en el componente Matiz de dos plantas con pesos y formas similares tampoco permitió hallar un patrón para relacionar los pesos con este parámetro.

Ahora bien, al revisar los cálculos de área, pesos y biomasa a través del programa, si bien los ajustes de datos realizados tenían un error del 12%, al compararlos con los datos reales obtenidos por medio del método tradicional, eran aceptables para el rango que se había destinado

para el experimento y dentro de los requisitos de error. Sin embargo, a medida que la planta comienza a desarrollarse, su comportamiento cambia, comenzando a dar resultados que difieren una vez la planta crece a lo alto hacia la cámara. De igual manera, esto ocurre cuando se usa el factor de escala para pasar de peso fresco a peso seco, lo cual es un punto que se menciona en [65], en donde se dice la masa foliar de agua incrementa de forma desproporcional a medida que el peso seco de la hoja aumenta, lo que significa que la relación de peso fresco vs peso seco no es lineal después de una etapa madura de la planta. Sin embargo, para el caso de esta especie de lechuga, la relación en su inicio del crecimiento si era proporcional, aunque esto se le puede atribuir a que la forma de la planta inicialmente no tiene tantas hojas y su crecimiento es a lo ancho, mostrando la mayor parte de su área que es utilizada por el programa para asignarle la cantidad adecuada de peso fresco en su etapa de crecimiento.

No obstante, cabe resaltar que el sistema de monitoreo y captura de imágenes de la planta funcionó sin problemas durante los dos diferentes cultivos que se analizaron. Así, se pudo mantener el fotoperiodo de las plantas propuesto, registrar el crecimiento de ambos cultivos y hacer la revisión de los indicadores de desarrollo de las fotos que se quisieran seleccionar, las cuales, fueron las del mismo día en que se llevarían a pesar al laboratorio, para poder obtener los datos del peso fresco antes de que la planta se comenzara a deshidratar. Por ende, el programa al utilizar la función obtenida con el ajuste de datos que relacionaba el peso fresco con el área de la planta, cuya área se obtuvo a través del procesamiento de imágenes, se consiguieron resultados con diferentes márgenes de error para los indicadores de desarrollo, pero en su mayoría dentro del requerido. De esta forma, se hizo el análisis del desarrollo de la planta Black seed simpson en una etapa temprana de su crecimiento.

Capítulo 9

Conclusiones

Los resultados obtenidos a lo largo del proyecto de grado abarcaron los diferentes procesos de concepción, diseño e implementación del sistema de monitoreo por medio del procesamiento de imágenes de crecimiento de las plantas Black seed simpon afectadas por distinto fotoperiodo. Por esta razón, al analizar los resultados, es posible discutir los resultados obtenidos desde la parte de la ciencia en como afectó esta combinación de luces el crecimiento de la planta, y también, concluir el cumplimiento de los objetivos con los requisitos del sistema propuesto.

Además, en etapas tempranas del crecimiento de la lechuga, utilizar luz blanca a un fotoperiodo de 12h día y noche logra un mejor desarrollo de la planta con menor intensidad lumínica, lo cual es algo contradictorio con los resultados obtenidos en otros estudios [1] aplicados en *Arabidopsis thaliana*, cuyo crecimiento mejora al aplicar la combinación de luces roja y azul en comparación a cuando crecen con la luz blanca. Pero en el caso de las lechugas Black seeded simpson, se observa en los resultados del cultivo que el crecimiento de la planta bajo luz blanco tuvo un mejor desarrollo en contraste con el cultivo crecido dentro de la cámara de crecimiento con luz LED rojo y azul con un fotoperiodo de 18h día y 6h noche.

Por otra parte, se alcanzó el objetivo general con sus respectivos requerimientos al implementar el sistema de monitoreo que realizó el seguimiento del crecimiento en etapas tempranas de la planta *Lactuca sativa* Black seeded simpson. Lo que se logró al diseñar la cámara de crecimiento resistente a su manipulación, entorno y espacio a oscuras, en donde la temperatura y la humedad tenían magnitudes que no variaban significativamente durante el funcionamiento del sistema. Dentro de esta creció un arreglo plantas monitoreado por un cámara que automáticamente capturaba las imágenes con una resolución de 1920x1800 pixeles, superior a la FHD al utilizar una cámara Pi NoIR v2, una iluminación flash junto con luces mixtas rojas y azules utilizando módulos SMD 5730 LED, cuya conmutación se hacía desde la Raspberry pi 3 B+ con un fotoperiodo de 18h luz, 6h noche.

De igual forma, se utilizaron las imágenes capturadas para cuantificar indicadores de desarrollo como la biomasa, peso fresco y peso seco de la planta utilizando procesamiento de imágenes con software de plantCV, regresiones lineales y polinómicas, aprovechando la relación que había entre área y peso. Y así, finalmente se compararon los resultados obtenidos del análisis de imágenes con los valores obtenidos a través del método tradicional de obtener peso fresco, peso seco y biomasa, el cual fue destruyendo las plantas, logrando obtener errores en los cálculos

inferiores al 15 % de la mayoría de indicadores.

También, durante la etapa de selección de materiales para construir la cámara de crecimiento, se pudo concluir que al diseñar la estructura de un sistema, no necesariamente hay que hacerla de un mismo material. Al ensamblar diferentes materiales, se puede tener un beneficio económico al combinar materiales resistentes para el esqueleto del sistema y materiales opacos que no contengan el calor para las paredes. Así como se implementó en este sistema, piezas de PVC para el esqueleto, las cuales eran rígidas e impermeables, y polisombra para las paredes, las cuales permitía la circulación de aire y bloqueaba en un 79.9 % los rayos de luz externos.

Por otro lado, identificar el tipo de distorsión que se presenta en el lente se permitió hacer un análisis más preciso del objeto en estudio. No todas las cámaras traen un procesamiento para la corrección en la distorsión del lente, así que es necesario hallar su patrón utilizando scripts que identifiquen puntos de referencia rectos y definan una matriz de transformación para mejorar la distorsión del lente, como se hizo utilizando el cuadro de ajedrez.

También, para este experimento tuvo que descartarse el análisis del color para usarlo como complemento para el cálculo de peso fresco y seco. Esto debido a que, era muy sensible ante cualquier variación de la luz, y, por lo tanto, se concluyó que para hacer uso de esta relación, se debe de diseñar un programa más robusto, capaz de hacer una realimentación de las componentes para hallar una relación más explícita.

Finalmente, el uso del interpolador cúbico de Hermite resultó adecuado para realizar el ajuste de los datos obtenidos con el método tradicional y así construir la función que relaciona el peso fresco con el área con un error del 12 % a escalas pequeñas, y este también se utilizó para extrapolar los datos, tomando el peso y área "máximos" como 93g con un área de 706cm^2 que se han encontrado por agricultores, generando una gráfica que cumplió con el comportamiento que se presumía debía de tener la relación peso vs área. En contraste con las regresiones polinómicas de grado 2 y 3, las que a pesar de cumplir con el comportamiento deseado en los valores de gran escala, no se relacionaban con los de pequeña escala. Por esta razón, se descartó el uso de las regresiones polinómicas en este trabajo.

Capítulo 10

Trabajos futuros

Para los trabajos futuros se podrían añadir más cámaras a los lados de la planta para capturar imágenes para complementar los datos. Con esto, se podría analizar la planta de una forma más completa, incluyendo el área completa que puede ocupar las hojas, y, analizando los diferentes contrastes de luz, en donde podría encontrarse una relación más estable en los parámetros del modelo de color.

También, podría hacerse un rediseño de la cámara de crecimiento, en donde se realice el montaje de las luces LED con disipadores que conduzcan el calor hacia afuera de ella. Esto para evitar que se acumule calor dentro de la cámara de crecimiento, y además, podría servir como soporte para agregar más luces LED y ajustar la intensidad lumínica a la que la planta requiera. Igualmente, se puede añadir al sistema una configuración para que en diferentes etapas de crecimiento de la planta, ajuste fotoperiodos distintos. Lo cual, permitiría investigar e identificar si en las diferentes etapas de crecimiento, la planta puede necesitar más tiempo de exposición a la luz o menos tiempo, todo dependería del espécimen con el que se trabaje.

Además, también se podría realizar el monitoreo completo de todo el crecimiento de la planta bajo condiciones óptimas en una cámara de crecimiento que controle la temperatura, humedad y fotoperiodo. Así, se le podría dejar a la Raspberry la parte de captura de la imagen en periodos de tiempo y el análisis de los indicadores de desarrollo. Incluso, como el archivo donde se guardan estos datos es un .csv, se podría hacer uso del wifi de la Raspberry para subir estos datos a una base de datos para que el usuario pueda acceder al desarrollo del cultivo desde otra parte.

En ese mismo orden de ideas, si se utilizara el software en un ambiente de cultivos masivos, este podría desde la base de datos, enviar unas alarmas a los propietarios de los cultivos cuando las plantas alcancen unos parámetros determinados de vegetación o desarrollo. De esta manera, se conseguiría realizar la cosecha de las plantas en el punto óptimo de su ciclo de vida. Igualmente, para evitar pérdidas de una de las plantas, podría ir verificando que el crecimiento de todas las plantas tenga una pendiente positiva. En caso contrario, podría notificar también para que se revise qué está sucediendo con la planta, ya que podría tener alguna plaga o no se está haciendo el riego necesario.

Igualmente, se podría hacer uso del aprendizaje automático para hacer el análisis de los indicadores de desarrollo. Además, si se recrea la funcionalidad que tiene el ojo humano para

ayudarnos a distinguir entre una planta seca y una planta fresca, y, esto al combinarlo con un análisis del color para complementar el cálculo de estos indicadores de desarrollo. Como resultado, se podrían obtener datos más fiables al identificar con mayor precisión lo que es una planta y cuanta biomasa equivaldría cada parte dependiendo de sus características, ya sea de forma, color o área.

Bibliografía

- [1] Yelton, Melanie y Nate Ohzourks: *Optimizing Lettuce Quality, Taste and Morphology with LED Lighting*. https://lumigrow.com/wp-content/uploads/2017/04/research-optimize_lettuce_quality_morphology-lumigrow-led.pdf. Accedido en 2020, 10, 20.
- [2] Center, Donald Danforth Plant Science: *Tutorial: Multi Plant Image Workflow*. https://plantcv.readthedocs.io/en/stable/multi-plant_tutorial/. Accedido en 2020, 8, 23.
- [3] Rodrigo, Joaquín Amat: *Regresión lineal simple*. https://www.cienciadedatos.net/documentos/24_correlacion_y_regresion_lineal#Regresi%C3%B3n_lineal_simple. Accedido en 2021, 3, 2.
- [4] Wikipedia: *Cubic Hermite spline*. https://en.wikipedia.org/wiki/Cubic_Hermite_spline. Accedido en 2021, 2, 16.
- [5] Needs, Seed: *BLACK SEEDED SIMPSON LETTUCE SEEDS (LACTUCA SATIVA)*. <https://www.seedneeds.com/products/black-seeded-simpson#:~:text=The%20plants%20will%20reach%20a,rows%20spaced%208%20inches%20apart>. Accedido en 2020, 12, 27.
- [6] Wikipedia: *Chlorophyll b*. https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/2/23/Chlorophyll_ab_spectra-en.svg/800px-Chlorophyll_ab_spectra-en.svg.png. Accedido en 2021, 6, 17.
- [7] Wikipedia: *Modelo de color HSV*. https://es.wikipedia.org/wiki/Modelo_de_color_HSV. Accedido en 2021, 5, 22.
- [8] Puebla, Javier: *Distorsión radial causada por el lente de la cámara*. https://www.researchgate.net/figure/Figura-12-Distorsion-radial-causada-por-el-lente-de-la-camara-40_fig4_338955882. Accedido en 2021, 4, 2.
- [9] N/A: *N/A*. <https://franja2020.tusanteojos.com/images/AGENDAS/hola/PROMOCIONES/PLANO/2ps.png>. Accedido en 2021, 4, 2.
- [10] Electronics, ECG: *MODULO ECONO 3 SMD 5730 0.72W AZUL*. <https://www.tuvoltio.com/categorias/124-iluminacion-publicitaria/1814-modulo-led-led-module>. Accedido en 2021, 4, 22.

- [11] Tlalnepantla De Baz, Estado De México: *4n25 4n35 Optoacoplador Optoaislador Salida Fototransistor*. <https://articulo.mercadolibre.com.mx/MLM-740291422-4n25-4n35-optoacoplador-optoaislador-salida-fototrans> JM. Accedido en 2020, 9, 24.
- [12] Malvia, Rahul: *Single Pole Double Throw (SPDT)*. <https://www.quora.com/I-dont-seem-to-understand-the-relay-JQC-3FC-T73-Which-pins-do-what>. Accedido en 2020, 9, 24.
- [13] PROMETEC: *USANDO LOS GPIO CON PYTHON*. <https://www.prometec.net/usando-los-gpio-con-python/>. Accedido en 2020, 9, 14.
- [14] electronics, DYNAMO: *Raspberry PI camara NOIR V2*. <https://dynamoelectronics.com/tienda/camara-ir-raspberry-noir/>. Accedido en 2020, 9, 17.
- [15] Chicago, University of: *NATURAL GENETIC VARIATION OF PAMP INDUCED GROWTH RESPONSES IN ARABIDOPSIS THALIANA*. <http://bergelson.uchicago.edu/?p=402>. Accedido en 2021, 5, 24.
- [16] Korotkova, Anastasia: *Stock Photo - light greenhouse. A lot of lettuce seedlings*. https://www.123rf.com/photo_123653301_light-greenhouse-a-lot-of-lettuce-seedlings-sprouts-of-a-large-number.html. Accedido en 2020, 09, 14.
- [17] OMICAS: *¿Qué es OMICAS?* <https://www.omicas.co/que-es-omicas,07-02-2020>. Accedido en 2020, 02, 07.
- [18] Heiney, Anna: *Growing Plants in Space*. <https://www.nasa.gov/content/growing-plants-in-space,01-29-2020>. Accedido en 2020, 02, 24.
- [19] Nations, United: *World Population Prospects 2019: Highlights*. https://population.un.org/wpp/Publications/Files/WPP2019_10KeyFindings.pdf, Junio 2019. Accedido en 2019, 08, 11.
- [20] Biology, Royal Society of: *Chemistry for Biologists*. <https://www.rsb.org.uk/education/teaching-resources/secondary-schools/chemistry-for-biologists>, NN NN. Accedido en 2020, 05, 10.
- [21] Lee A. Meisell, et al: *Fundamentals and applications of light-emitting diodes (LEDs) in in vitro plant growth and morphogenesis*. Plant Biotechnol Rep, 7(NN):211 – 220, 28 - 03 2013.
- [22] Anna Trojan, et al.: *Chloroplast Distribution in Arabidopsis thaliana (L.) Depends on Light Conditions during Growth*. Plant Physiol, 111(NN):419 – 425, NN 1996.
- [23] Iain Searle, George Coupland: *Induction of flowering by seasonal changes in photoperiod*. THE EMBO JOURNAL, 23(NN):1217 – 1222, Marzo 2004.
- [24] Antony N. Dodd, et al.: *Plant Circadian Clocks Increase Photosynthesis, Growth, Survival, and Competitive Advantage*. Science, 309(1115581):630 – 633, 07 - 22 2005.

- [25] Noah Fahlgren, et al.: *Lights, camera, action: high-throughput plant phenotyping is ready for a close-up*. CURRENT OPINION IN PLANT BIOLOGY, 24(NN):93–99, Abril 2015.
- [26] Golembeski, et al: *Photoperiodic flowering regulation in Arabidopsis thaliana*. Advances in botanical research, 72(NN):1 – 28, Enero 2014.
- [27] Inc., Apogee Instruments: *Toward an Optimal Spectral Quality for Plant Growth and Development*. <https://www.youtube.com/watch?v=dXkYPN3HD6A>. Accedido en 2020, 6, 16.
- [28] PNUD: *Objetivos del desarrollo sostenible | PNUD*. <https://www.undp.org/content/undp/es/home/sustainable-development-goals.html>, 02 - 21 2020. Accedido en 2020, 02, 21.
- [29] Minagricultura: *El agro colombiano se consolidó como el motor de la economía nacional*. <https://www.minagricultura.gov.co/noticias/Paginas/El-agro-colombiano-se-consolid%C3%B3-como-el-motor-de-la-econom%C3%ADa-nacional.aspx>, 07 - 06 2018. Accedido en 2020, 02, 24.
- [30] Kirschbaum, M. U.: *Does enhanced photosynthesis enhance growth? Lessons learned from CO2 enrichment studies*. Plant physiology, 155(NN):117–124, Enero 2011.
- [31] Worldometer: *Population*. <https://www.worldometers.info/world-population/>, 14 - 03 2020. Accedido en 2020, 03, 14.
- [32] Antony N. Dodd, et al.: *Interactions between circadian clocks and photosynthesis for the temporal and spatial coordination of metabolism*. Frontiers in Plant Science, 6(245):0–7, Abril 2015.
- [33] CGIAR: *Improve food and nutrition security*. <https://www.cgiar.org/how-we-work/strategy/>, 16 - 05 2020. Accedido en 2020, 05, 16.
- [34] Food y Agriculture Organization: *Información general*. <http://www.fao.org/unfao/procurement/general-information/es/>, 16 - 05 2020. Accedido en 2020, 05, 16.
- [35] Official, Designmate Pvt. Ltd.: *Science - Amazing Process Of Photosynthesis*. <https://www.youtube.com/watch?v=pFaBpVoQD4E&feature=youtu.be>, 09 - 11 2015. Accedido en 2020, 02, 26.
- [36] DENFANIC: *Photosynthesis Light reaction, Calvin cycle, Electron Transport 3D Animation*. <https://www.youtube.com/watch?v=KfvYQgT2M-k&feature=youtu.be>, 10 - 10 2016. Accedido en 2020, 04, 26.
- [37] Lee A. Meisell, et al: *Fotorreceptores y Respuestas de Plantas a Señales Lumínicas*. Fisiología Vegetal, 18(NN):1217–1222, NN 2011.
- [38] Academy, Khan: *Fototropismo y fotoperiodicidad*. <https://es.khanacademy.org/science/biology/plant-biology/plant-responses-to-light-cues/a/>

- phototropism-photoperiodism, 26 - 04 2020. Accedido en 2020, 04, 26.
- [39] Inc., Apogee Instruments: *PAR, PPF, PPF, and PFD Explained*. <https://www.youtube.com/watch?v=UZ08Fb0ryW8>. Accedido en 2020, 6, 16.
- [40] Sapkota, Sundar, Sanjib Sapkota y Zhiming Liu: *Effects of Nutrient Composition and Lettuce Cultivar on Crop Production in Hydroponic Culture*. *Horticulturae*, 5(4), 2019, ISSN 2311-7524. <https://www.mdpi.com/2311-7524/5/4/72>.
- [41] Morello, Jorge: *Biomasa*. <https://www.mendoza.conicet.gov.ar/portal/enciclopedia/terminos/Biomasa.htm>. Accedido en 2021, 5, 27.
- [42] N/N: *PLANT BIOMASS DETERMINATION*. <https://clu-in.org/download/ert/2034-R00.pdf>. Accedido en 2021, 5, 27.
- [43] INFAIMON: *Distorsión*. <https://www.infaimon.com/enciclopedia-de-la-vision/distorsion/>. Accedido en 2021, 04, 16.
- [44] Malia A. Gehan, et al.: *PlantCV v2: Image analysis software for high-throughput plant phenotyping*. *PeerJ*, 5(4088):1 – 23, 01 - 12 2017.
- [45] Rodrigo, Joaquín Amat: *Métodos de regresión no lineal: regresión polinómica, regresión splines, smooth splines y GAMs*. https://www.cienciadedatos.net/documentos/32_metodos_de_regresion_no_lineal_polinomica_splines_gams.html. Accedido en 2021, 5, 22.
- [46] Hiregoudar, Shravankumar: *Ways to Evaluate Regression Models*. <https://towardsdatascience.com/ways-to-evaluate-regression-models-77a3ff45ba70>. Accedido en 2021, 2, 16.
- [47] Juncheng Ma, et al.: *Estimating above ground biomass of winter wheat at early growth stages using digital images and deep convolutional neural network*. *European Journal of Agronomy*, 103(NN):117–129, 12 - 09 2019.
- [48] Yusuke Niwa, et al.: *The Circadian Clock Regulates the Photoperiodic Response of Hypocotyl Elongation through a Coincidence Mechanism in Arabidopsis thaliana*. *PLANT AND CELL PHYSIOLOGY*, 50(NN):838–854, Abril 2009.
- [49] Hengbiao Zheng, et al.: *Improved estimation of rice aboveground biomass combining textural and spectral analysis of UAV imagery*. *PRECISION AGRICULTURE*, 20(NN):611–629, Junio 2019.
- [50] Jibo Yue, et al.: *Estimate of winter-wheat above-ground biomass based on UAV ultrahigh-resolution image textures and vegetation indices*. *ISPRS Journal of Photogrammetry and Remote Sensing*, 150(NN):226–244, Abril 2019.
- [51] Yaxiao Niu, et al.: *Estimating Above-Ground Biomass of Maize Using Features Derived from UAV-Based RGB Imagery*. *REMOTE SENSING*, 11(1261):0–21, Junio 2019.

- [52] Michael Schirrmann, et al.: *Estimating wheat biomass by combining image clustering with crop heigh*. Computers and Electronics in Agriculture, 121(NN):374–384, Febrero 2016.
- [53] Yusuke Niwa, Takafumi Yamashino * y Takeshi Mizuno: *The Circadian Clock Regulates the Photoperiodic Response of Hypocotyl Elongation through a Coincidence Mechanism in Arabidopsis thaliana*. Plants and Cell Physiology, 50(4):838 – 854, 2009.
- [54] S.R.L., Semiconductores y componentes: *Catalogo de leds*. https://www.vistronica.com/optoelectronico/bombillo-38-led-rojo-azul-e27-110vac-para-plantas-detail.html?gclid=CjwKCAjwlID8BRAFEiwAnUoK1TxCQrdAnT25Hr-vXfi9_lrwKY-t55EJv-HrRSMzdBn7vykY4Xq5QhoC_6kQAvD_BwE. Accedido en 2020, 9, 23.
- [55] S.R.L., Semiconductores y componentes: *Catalogo de leds*. <http://www.sycelectronica.com.ar/catalogo/SYC%20-%20Catalogo%20de%20leds.pdf>. Accedido en 2020, 10, 30.
- [56] conversor, Calculadora: *Candelas a lux*. https://www.calculadoraconversor.com/candelas-a-lux/?utm_source=button. Accedido en 2020, 10, 20.
- [57] lighting, Waveform: *Convert PPFd to Lux - Online Calculator*. <https://www.waveformlighting.com/horticulture/convert-ppfd-to-lux-online-calculator>. Accedido en 2020, 10, 20.
- [58] Alibaba: *Smd 5730 Patch Light Emitting Tube Diode Light Bulb Red China High Quality High Brightness Led Lamp Beads*. https://www.alibaba.com/product-detail/Smd-5730-Patch-Light-Emitting-Tube_1600086790568.html?spm=a2700.7724857.normalList.10.6c376137XsQFf7&s=p&fullFirstScreen=true. Accedido en 2020, 11, 2.
- [59] Alibaba: *blue smd 5630/5730 led datasheet 0.5w 5730 chip blue led*. https://jstronics.en.alibaba.com/product/62289787621-803504600/blue_smd_5630_5730_led_datasheet_0_5w_5730_chip_blue_led.html. Accedido en 2020, 11, 2.
- [60] Growtent: *Lumen light / PAR calculator | Grow-box calculator*. <https://www.growtent.eu/Lumen-light-PAR-calculator-Growbox-calculator-cabout-eng-62.html>. Accedido en 2020, 10, 20.
- [61] Vishay: *4N25 Datasheet(PDF) 3 Page - Vishay Siliconix*. <https://html.alldatasheet.com/html-pdf/158124/VISHAY/4N25/651/3/4N25.html>. Accedido en 2021, 4, 2.
- [62] Waveshare: *RPI Camera V2*. <https://www.waveshare.com/rpi-camera-v2.htm>. Accedido en 2020, 10, 14.

- [63] community, *OpenCV: Camera Calibration*. https://docs.opencv.org/master/dc/dbb/tutorial_py_calibration.html. Accedido en 2021, 02, 28.
- [64] Wikipedia: *Espacio de color Lab*. https://es.wikipedia.org/wiki/Espacio_de_color_Lab. Accedido en 2021, 6, 17.
- [65] Weiwei Huang, et al.: *Leaf Fresh Weight Versus Dry Weight: Which is Better for Describing the Scaling Relationship between Leaf Biomass and Leaf Area for Broad-Leaved Plants?* *Forests*, 10:256, Marzo 2019.