

Jesús Roberto
Millán Almaraz

Desarrollo de Tecnología de
Fitomonitorio en Tiempo Real
Basado en FPGA

2011



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ingeniería
Doctorado en Ingeniería

Desarrollo de Tecnología de Fitomonitorio en Tiempo
Real Basado en FPGA

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de

Doctor en Ingeniería

Presenta:

M. en I. Jesús Roberto Millán Almaraz

Dirigido por:

Dr. Irineo Torres Pacheco

Santiago de Querétaro a 2 de Julio de 2011



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ingeniería
Doctorado en Ingeniería

DESARROLLO DE TECNOLOGÍA DE FITOMONITOREO EN TIEMPO REAL BASADO EN FPGA

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el diploma/grado de (o la)

Doctor en Ingeniería

Presenta:

M. en I. Jesús Roberto Millán Almaraz

Dirigido por:

Dr. Irineo Torres Pacheco

SINODALES

Dr. Irineo Torres Pacheco
Presidente

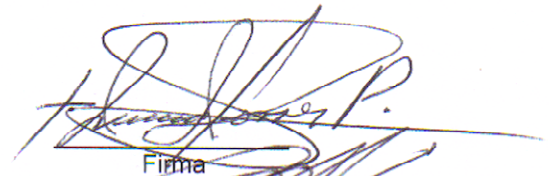
Dr. Ramón Gerardo Guevara González
Secretario

Dr. René de Jesús Romero Troncoso
Vocal

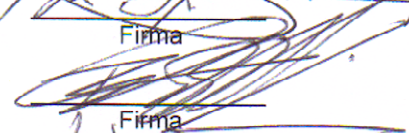
Dr. Roque Alfredo Osornio Ríos
Suplente

Dr. Mario Martín González Chavira
Suplente

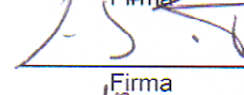
Dr. Gilberto Herrera Ruíz
Director de la Facultad



Firma



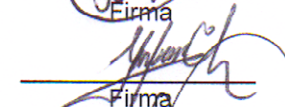
Firma



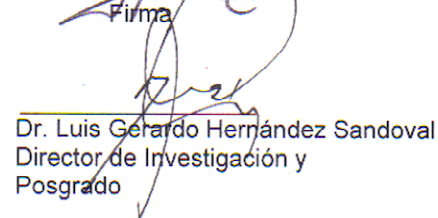
Firma



Firma



Firma



Dr. Luis Gerardo Hernández Sandoval
Director de Investigación y
Posgrado

Centro Universitario
Querétaro, Qro.
2 de Julio de 2011
México

RESUMEN

La transpiración vegetal y la fotosíntesis son consideradas como las funciones fisiológicas más importantes debido a que constituyen el mecanismo evolutivo con que las plantas se han adaptado a intercambiar humedad y dióxido de carbono con una atmósfera seca que eventualmente puede llegar a deshidratar o matar a la planta. Dada la importancia de estas funciones, es necesario el desarrollo de métodos de medición más baratos y precisos, por lo tanto se propone el desarrollo de un sistema de fitomonitorio de transpiración y fotosíntesis que fusione la medición de diversos sensores primarios para medir temperatura en aire, temperatura en hoja, humedad relativa, dióxido de carbono y radiación solar. Para lograrlo se propone el uso de una unidad de procesamiento basada en FPGA para desempeñar las tareas de procesamiento digital de señales como filtros de decimación por promedio, filtros de respuesta infinita al impulso y transformadas wavelet. Una vez que las señales de los sensores primarios han sido filtradas se procede a calcular en tiempo real variables de respuesta como fotosíntesis, transpiración, conductancia estomatal, diferencial de temperatura hoja-aire y déficit de presión de vapor. Esto permite al usuario observar diversas mediciones primarias y de respuesta al mismo tiempo así como la relación entre ellas. Lo anterior resulta de suma utilidad en agricultura de precisión para la detección de condiciones anormales que señalen estrés en las plantas. Finalmente, es posible detectar en tiempo real condiciones de estrés por transpiración como sequía y condiciones de fotoinhibición provocadas por un medio ambiente inadecuado que apaga el mecanismo de fotosíntesis y por lo tanto la producción de la planta debido a las capacidades de procesamiento en línea y comunicaciones inalámbricas embebidas en el sistema de fitomonitorio desarrollado.

Palabras clave: (sensor inteligente, fotosíntesis, transpiración, conductancia estomatal, agricultura de precisión, fitomonitorio, estrés hídrico, FPGA).

SUMMARY

Plant transpiration and photosynthesis are considered as the most important physiological functions because they constitute the plants evolving adaptation to exchange moisture and carbon dioxide with a dry atmosphere which can dehydrate or eventually kill the plant. Due to this importance, accurate and cheaper measurement methods are required; therefore, a real time phytomonitor that fuses many primary sensors is proposed in order to measure air temperature, leaf temperature, air relative humidity, and plant out relative humidity, carbon dioxide and ambient light. A field programmable gate array based unit is used to perform signal processing algorithms as average decimation, wavelet transforms and infinite impulse response filters to the primary sensor readings in order to reduce the signal noise and improve its quality. Once the primary sensor readings are filtered, transpiration dynamics such as: transpiration, stomatal conductance, leaf-air-temperature-difference, photosynthesis and vapor pressure deficit are calculated in real time by the phytomonitor. This permits the user to observe different primary and calculated measurements at the same time and the relationship between these which is very useful in precision agriculture in the detection of abnormal conditions. Finally, transpiration and photoinhibition related stress conditions can be detected in real time because of the use of online processing and embedded wireless communications capabilities.

Key words: (smart sensor, photosynthesis, transpiration, stomatal conductance, precision agriculture, phytomonitoring, water stress, field programmable gate array).

A Dios y a mis padres
Universidad Autónoma de Querétaro

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la Universidad Autónoma de Querétaro por la oportunidad de realizar mis estudios de Doctorado en Ingeniería en la Facultad de Ingeniería, así como el apoyo que se me brindó al permitirme el uso de las instalaciones de la universidad, las cuales fueron de gran apoyo en la realización de mis estudios y mi proyecto de tesis.

Agradezco a mis padres por siempre confiar en mí, por brindarme palabras de aliento en los momentos difíciles, por compartir mis alegrías en todo momento, por soportar años de distancia entre nosotros donde, aunque fue difícil, siempre conté con su apoyo. A mi hermana, por su apoyo incondicional en todo momento y hacerme ver que siempre se puede salir adelante. Agradezco a mi Alejandro por todo su apoyo brindado, sus consejos y por ayudarme a decidir continuar estudiando, lo cual culmina en esta tesis doctoral.

Agradezco a mi director de tesis, el Dr. Irineo Torres Pacheco, porque aunque de principio no fui su tesista, posteriormente me aceptó para trabajar con él al quedarme sin asesor. Por haber creído en mí como un estudiante que podía lograr sus objetivos doctorales. Pero sobre todo como investigador y amigo que me mostró la manera y el camino de ver a la ciencia y la tecnología como un estilo de vida en el cual siempre se está innovando y entender que conforme más se aprende uno se da cuenta que en realidad menos sabe del vasto universo del conocimiento que debe ser usado en beneficio de este país en el cual todos debemos creer.

A mis codirectores Dr. René de Jesús Romero Troncoso por haberme dado una formación sólida en electrónica, la cual me ha permitido crecer y competir profesionalmente a un muy alto nivel. Al Dr. Ramón Gerardo Guevara González por todos los conocimientos y apoyo obtenido en el área de ciencias de la vida que de principio un ingeniero en electrónica no podía entender.

Agradezco a mis compañeros del grupo de Ingeniería de Biosistemas, compañeros de doctorado y en general de esta universidad por los logros y tropiezos que fuimos teniendo juntos aprendiendo los unos de los otros así como las amistades cosechadas y los recuerdos de todas aquellas cosas vividas que durarán para siempre.

INDICE

	Página
Resumen	i
Summary	ii
Dedicatorias	iii
Agradecimientos	iv
Índice	v
Índice de figuras	vi
I. INTRODUCCIÓN	1
Objetivos	14
Hipótesis	15
II. REVISIÓN DE LITERATURA	16
II.1 Monitoreo de factores ambientales	16
II.2 Diagrama de Mollier	17
II.3 Fisiología vegetal y variables relevantes	18
II.4 Fotosíntesis	19
II.5 Respiración 2020	
II.6 Esquema de transpiración 2020	
II.7 Flujo de savia 2222	
II.8 Morfología vegetal 2222	

II.9 Diámetro de tallo	
2323	
II.10 Índice de área foliar	
2323	
II.11 Rugosidad	
2424	
II.12 Turgencia	
2424	
II.13 Coloración	
2424	
II.14 Técnicas de medición de fotosíntesis	
2525	
II.14.1 Método de acumulación de materia seca	
2525	
II.14.2 Método manométrico	
2626	
II.14.3 Métodos Electroquímicos	
2727	
II.14.4 Métodos de isotopos de carbono	
288	
II.14.5 Estimación por modelado matemático	
2929	
II.14.6 Método de ondas acústicas	
3030	
II.14.7 Métodos de fluorescencia	
3131	
II.14.8 Método de intercambio de CO ₂	
3333	
II.14.9 Método de intercambio de O ₂	
3636	
II.15 Herramientas de fitomonitorio	
3636	
II.16 Automatización	
3838	
II.17 Plataformas tecnológicas para automatización	
388	
II.17.1 Microcontroladores	39
II.17.2 Procesador digital de señales	39

II.17.3 Arreglo de compuertas programables en campo
(FPGA)
4040

II.18 Plataformas de software para el desarrollo de interfaces
gráficas de usuario
4141

III. METODOLOGÍA 4444

III.1 Estudio de características de las herramientas y equipos de
fitomonitorio existentes en búsqueda de deficiencias y
oportunidades de mejora.
4444

III.2 Ecuaciones de la dinámica de transpiración en plantas.
4545

III.3 Ecuación de la conductancia estomatal
4646

III.4 Ecuación del déficit de presión de vapor
4747

III.5 Desarrollo de un sensor inteligente de transpiración
4747

III.6 Ciclo de medición en un sensor inteligente de transpiración
4949

III.7 Metodología de cálculo de transpiración
5050

III.8 Metodología de estimación de conductancia estomatal
5151

III.9 Metodología de estimación del déficit de presión de vapor 53

III.10 Metodología de estimación de diferencia de temperatura
hoja-aire
5353

III.11 Metodología de estimación de radiación
5353

III.12 Monitoreo de transpiración en *Lycopersicon esculentum*
5454

III.12 Fitomonitorio como caracterización de resistencia a sequía
en *Arabidopsis thaliana* mejorada genéticamente
5757

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6060

IV.1 Medición de sensores primarios

6060

IV.2 Estimación de transpiración

6161

IV.3 Dinámica de transpiración en sensor inteligente

6262

IV.4 Caracterización de Arabidopsis thaliana

6666

V. CONCLUSIONES

¡Error! Marcador no definido.68

LITERATURA CITADA

7070

APENDICE

¡Error! Marcador no definido.77

INDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Diagrama de Mollier para una presión atmosférica de 1 atm.	18
2	Esquema básico de fotosíntesis.	19
3	Esquema de corte de una hoja, mostrando el flujo de CO ₂ y H ₂ O.	22
4	Arquitectura de la plataforma del sensor inteligente de transpiración.	48
5	Diagrama a bloques del ciclo de medición en el sensor inteligente de transpiración.	49
6	Metodología de procesamiento de señal para estimación de transpiración en tiempo real.	51
7	Metodología de estimación de conductancia estomatal.	52
8	Metodología de procesamiento de señal para estimación de VPD, LATD y Light.	54
9	Arreglo experimental del sensor inteligente de transpiración y del PTM-48M.	57
10	Arreglo experimental de monitoreo de transpiración en <i>Arabidopsis thaliana</i> .	59

11	Comparación de señal en sensores primarios. Señales del sensor inteligente propuesto en rojo y señales del Phyttech PTM-48M en azul.	61
12	Comparación entre la estimación de transpiración en el sensor inteligente desarrollado y el PTM-48M.	62
13	Señales de los sensores primarios del sensor inteligente propuesto.	63
14	Resultados de dinámica de transpiración.	65
15	Resultados de caracterización de resistencia a sequía en <i>Arabidopsis thaliana</i> .	67

I. INTRODUCCIÓN

La agricultura (del latín *agri*, 'campo o tierra de labranza' y *cultura*, 'cultivo, crianza') es el conjunto de técnicas y conocimientos para cultivar diversas especies vegetales en la tierra, como pueden ser cereales, frutas, hortalizas, pastos, forrajes o hierbas de uso medicinal (RAE, 2007). Esta actividad data desde el periodo neolítico, cuando las primeras especies cultivadas eran trigo y cebada. La agricultura ha ido evolucionando con el paso del tiempo, permitiendo a las sociedades volverse sedentarias. Al pasar los años, se ha ido perfeccionando y aportando diversas técnicas agrícolas. Debido al aumento exponencial en la población, cada vez se requieren mayores volúmenes de producción de alimentos en las sociedades. La agronomía es la ciencia que vino a estudiar la práctica de la agricultura (Bolens, 1997; Colinson, 2000).

La agricultura protegida es una actividad que es producto de la evolución en las prácticas agronómicas que llevó al hombre a diseñar estructuras y mecanismos mejorados que permitieran proteger sus cultivos ante diversos fenómenos (Woods, 1988). Esta actividad se basa en el establecimiento de cultivos bajo invernaderos, ya sean de plástico, ya sean de vidrio, que permiten mantener un clima diferente al exterior para proteger al cultivo de diversos fenómenos meteorológicos como lluvias, heladas o excesos de radiación y mantenerlo en niveles climáticos más adecuados que en cielo abierto (Bastida-Tapia, 2006). Esta práctica comenzó con viveros en los cuales se colocaban cubiertas protectoras en el techo de la superficie cultivada; posteriormente, evolucionó hasta convertirse en invernadero. En la parte de sanidad se tiene un aislamiento del cultivo ante parásitos exteriores, ya sean plagas o patógenos, lo cual reduce los riesgos de pérdidas en los cultivos (Cunningham, 2000). El uso de agricultura protegida permite incrementar la eficiencia en el manejo de recursos para reducir costos a largo plazo, aumentar ganancias y tener una mayor producción. Las estadísticas muestran que hay un notable crecimiento en la

superficie que se cultiva bajo invernaderos en México, como ejemplo puede mencionarse que en 2004 había en el país 2306 hectáreas sembradas en invernadero, mientras que en 2008 hay aproximadamente 4000 hectáreas (AMPHI, 2008). La agricultura es de vital importancia en la economía de las naciones; además, las plantas y los procesos que las rigen gobiernan la vida sobre este planeta (Millan-Almaraz et al., 2009).

La agricultura intensiva vino a requerir del uso de diversas tecnologías para realizar un manejo más eficiente del proceso agrícola en comparación con la agricultura tradicional que se había venido haciendo desde hacía mucho tiempo. Dado que la finalidad principal de un invernadero es mantener un clima interior adecuado para el cultivo sembrado, se tuvo la necesidad de desarrollar tecnología de control climático, la cual comprende el uso de sistemas como calefacción, pantallas de sombra, enriquecimiento de CO₂, atomizadores de agua y sistemas de riego eficientes (Bakker, 2001; Kamp, 1996). Inicialmente, dichos sistemas se accionaban manualmente por un operador; tiempo después, vino la tecnología de automatización que permitió al operador programar los tiempos, cantidades y diversas configuraciones para realizar los procesos de mantener el clima en niveles adecuados de forma automática. Para esto se desarrollaron diversos sistemas de control con base en modelos matemáticos implementados en computadoras (Ahuja et. al., 2002) y sistemas electrónicos que permitieron manejar los recursos de una forma más eficiente que la operación manual. Los sistemas de riego son otro aspecto importante que se ha automatizado, de tal forma que los riegos se volvieron programables en hora, tiempo de riego, etc. Esto permitió disminuir costos y consumo de agua. En general, toda la tecnología de automatización permitió a la agricultura protegida dar el salto al control climático computarizado para invernaderos.

La constante evolución y mejoramiento de las técnicas y herramientas de la agricultura intensiva bajo invernadero han llevado a la necesidad de desarrollar nueva tecnología que permita mejorar la automatización y precisión para el

manejo de cultivos a un nivel de tecnificación superior (Kamp, 1996). Anteriormente, las capacidades tecnológicas de monitoreo del cultivo se limitaban al uso de instrumentación para el monitoreo de factores ambientales climáticos. Sin embargo, para tener un mejor conocimiento del estado de una planta, invernadero o producción completa es necesario complementar el monitoreo con la medición de aspectos fisiológicos y morfológicos de las plantas. Lo anterior con la finalidad de tener una idea precisa del estado fisiológico de la entidad biológica vegetal de interés, en este caso el cultivo. A este concepto se le conoce como “*Speaking Plant Concept*” o concepto de planta parlante y comienza a volverse un estándar en agricultura de precisión. Esa situación promete cambiar la metodología usada por los agricultores en las próximas décadas (Hashimoto, 1989; Mazanti-Hansen et. al., 1998).

Se le llama fitomonitorio a la instrumentación dedicada al monitoreo del comportamiento de una o más variables fisiológicas de una planta. Dado que la fotosíntesis es la función fisiológica que produce el 90% de la materia seca como se ha mencionado anteriormente, ésta constituye la variable de mayor importancia en todo sistema de fitomonitorio (Biswas et. al., 2001; Tian et. al., 2005); sin embargo, existen variables fisiológicas de gran interés como son diámetro de tallos, tamaño de frutos, flujo de savia, temperatura de hoja, clorofila y área foliar, por mencionar algunas.

Objetivos

El objetivo general es desarrollar un sistema de fitomonitorio de alta resolución basado en tecnología “*Field Programmable Gate Array*” (FPGA) para monitoreo de fisiología de plantas capaz de detectar en línea desórdenes fisiológicos causados por diversas condiciones de estrés de forma más oportuna y precisa que las metodologías de fitomonitorio existentes.

Como objetivos particulares se tienen los siguientes:

- Determinar deficiencias en las herramientas de fitomonitorio existentes.
- Desarrollar un equipo de fitomonitorio de alta resolución.
- Aplicar fitomonitorio de alta resolución.
- Demostrar las ventajas del fitomonitorio de alta resolución.

Hipótesis

El fitomonitorio de alta resolución basado en FPGA permite detectar en tiempo real condiciones de estrés en plantas de forma más precisa y temprana que el fitomonitorio existente por su capacidad de procesamiento *in situ*.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

En la actualidad existe una creciente necesidad de alimentos; por lo tanto, es necesario tener una alta productividad y calidad en los mismos. Debido a las demandas se ha vuelto imprescindible el uso de tecnología de punta en la producción alimenticia. Por lo anterior, existe una alta demanda de optimización de espacio de cultivo y consumo de agua que es cada vez más escasa (Ton et al., 1997; Ton et al., 2003b); esto vuelve indispensable el mejoramiento constante de las prácticas agrícolas. También existe una gran necesidad de manipular los tiempos de producción y de poder cultivar en lugares con clima inadecuado; la existencia de estas necesidades ha llevado a la agricultura a requerir de un nivel de tecnificación muy alto. Por las necesidades anteriormente mencionadas, es que nace la agricultura de precisión, es decir, la aplicación de alta tecnología mecatrónica y biotecnológica al campo. Esto ha permitido reducir los riesgos de pérdidas si se logra detectar un problema de estrés en el cultivo de forma temprana. Es posible aumentar la producción por metro cuadrado del cultivo, como se ha realizado en otros países como Holanda e Israel, que con base en el uso de diversas prácticas de automatización e instrumentación, logran incrementar la producción hortícola por metro cuadrado a más del doble de lo que se logra en México (FAO, 2010).

II.1 Monitoreo de factores ambientales

Las principales variables ambientales que se monitorean en el clima de un invernadero son la temperatura del aire (T_a), la concentración de CO_2 ambiental (C_i), la humedad absoluta (AH), que se define como la cantidad de humedad presente en un kilogramo de aire, y el índice de contenido de saturación de humedad (SMC), que indica la cantidad máxima de humedad que puede contener el aire a una determinada temperatura sin que ocurra condensación (Kamp, 1996).

El vapor de agua es invisible y se encuentra en perfecto estado gaseoso; sin embargo, cuando se tiene mayor humedad en el aire de la que indica el *SMC* a una temperatura dada se produce niebla, la cual, a diferencia del vapor de agua, es visible y está conformada por pequeñas gotitas de agua (Bakker, 2001; Kamp, 1989). La humedad relativa (*RH*) es la relación entre *AH* y *SMC* expresada de manera porcentual; ésta nos indica el porcentaje de humedad que el aire contiene antes de llegar al punto de saturación.

II.2 Diagrama de Mollier

El diagrama de Mollier, también conocido como carta psicrométrica, es una relación entre temperatura y humedad del aire que permite apreciar de manera gráfica la relación entre estos dos factores mediante curvas que indican la humedad relativa del aire. Con este método pueden establecerse relaciones que permiten determinar variables como ventilación, calefacción y transpiración que son utilizadas en aplicaciones de control climático en invernaderos (Schmidt, 2005).

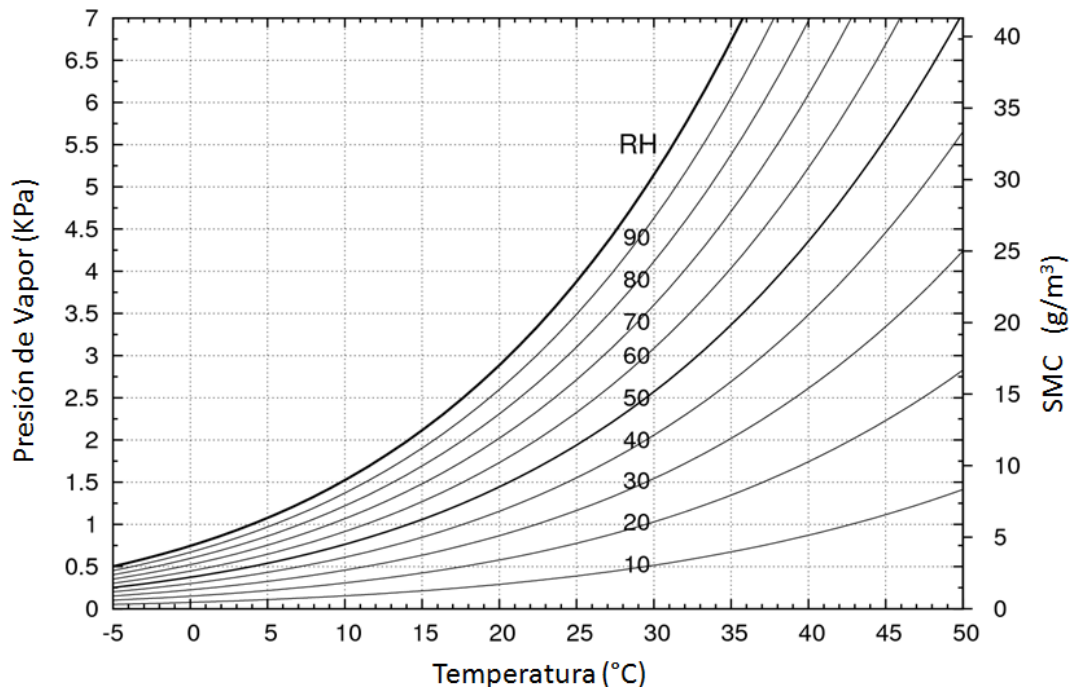


Figura 1. Diagrama de Mollier para una presión atmosférica de 1 atm.

II.3 Fisiología vegetal y variables relevantes

La fisiología es la ciencia que se encarga de estudiar las diversas funciones que ocurren en los organismos vivos. Para el caso de fisiología vegetal comprende el estudio de las funciones bioquímicas de las plantas (Salisbury et al., 1992; Taiz et al., 2006). En las plantas existen diversos procesos fisiológicos que determinan el ciclo vital de las mismas. En general, la composición de un organismo vivo es de materia húmeda integrada, principalmente, por agua y materia seca que conforma la estructura fibrosa, ésta da cuerpo a todo el organismo la cual está principalmente basada en carbohidratos grandes como celulosa y proteínas (Kamp, 1996; Taiz et al., 2006). En el caso de las plantas, la materia seca constituye el cuerpo de la planta. La materia seca se produce por diversos procesos fisiológicos; sin embargo, el 90% de la producción de materia seca se produce por la fotosíntesis, es por eso que se le considera el proceso fisiológico mas importante en toda planta (Biswas et al., 2001; Taiz et al., 2002; Tian et al., 2006).

II.4 Fotosíntesis

La fotosíntesis es una reacción de las plantas en la cual se toma el agua absorbida por las raíces, el CO_2 fijado en los cloroplastos y los fotones de la radiación solar para descomponer seis moléculas de CO_2 , seis moléculas de H_2O más energía solar para dar lugar a una molécula de glucosa $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ y seis moléculas de O_2 que se liberan en el aire (Salisbury et al., 1992; Taiz et al., 2006). De esta forma, las plantas producen su propio alimento con base en CO_2 del aire, agua y luz como se muestra en la Figura 1. Sin embargo, cabe mencionar que las plantas no aprovechan todo el espectro de colores de la luz visible, ya que su máximo aprovechamiento se limita al rango comprendido de la luz infrarroja a la luz amarilla, en contraste el ser humano es más sensible visualmente a la luz de color verde (Kamp, 1996; Palva et al., 1998). El rango de aprovechamiento de luz visible en la fotosíntesis se conoce como "*Photosynthetic Active Radiation*" (PAR).

La fotosíntesis se divide a su vez en dos partes principales: Reacciones de luz y reacciones oscuras. Las primeras son aquéllas en las que se realiza la ruptura de una molécula de agua mediante la energía lumínica recibida (Allen y Forsberg 2001). La segunda parte se compone de aquellas reacciones del ciclo de Calvin en donde se procesa el carbono y no requieren de luz para llevarse a cabo (Calvin y Bassham, 1962).

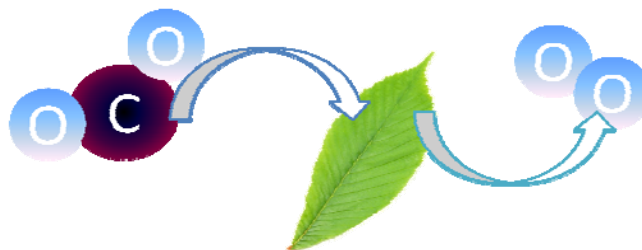


Figura 2. Esquema básico de fotosíntesis.

Existen diversos métodos para medir la fotosíntesis; dentro de éstos se tienen dos tipos de medida fotosintética. La primer medida de fotosíntesis se conoce como fotosíntesis potencial, en ésta se mide la cantidad de clorofila en un organismo vegetal como medida de la actividad fotosintética que potencialmente puede llevarse a cabo en ese tejido para una dada cantidad de clorofila (Millan-Almaraz et al., 2009). Sin embargo, eso no significa que se esté llevando a cabo fotosíntesis en ese momento, ya que quizá la planta tenga la capacidad de hacerlo bioquímicamente pero las condiciones ambientales no sean las adecuadas, como puede ocurrir con una planta muy verde durante la noche. La otra medida de la fotosíntesis es la fotosíntesis neta (P_n). En la fotosíntesis neta se mide la cantidad efectiva de carbono intercambiado o acumulado en forma de carbohidratos debido a fotosíntesis realizada en un intervalo de tiempo dado. Esto puede ser una medición puntual o una medición acumulativa durante toda la vida de la planta.

II.5 Respiración

La respiración es el proceso inverso a la fotosíntesis en las plantas, el cual ocurre cuando la planta se encuentra en oscuridad y consiste, al igual que en organismos animales, en la absorción de O_2 para las reacciones de oxidación biológicas y la exhalación de CO_2 . La respiración se lleva a cabo en las mitocondrias dentro de las células (Salisbury et. al. 1992; Taiz et. al. 2006).

II.6 Esquema de transpiración

La transpiración (E) es un proceso en el que los seres vivos intercambian vapor de agua con una atmósfera relativamente más seca. Esta función fisiológica comparte, además, la misma ruta física y metabólica que la fotosíntesis; por tanto, se encuentran estrechamente relacionadas. Mientras las plantas están absorbiendo CO_2 para la fotosíntesis, se encuentran liberando O_2 como producto

de la misma y a su vez perdiendo cierta cantidad de agua por transpiración (Bakker, 2002). El papel principal de la transpiración, además de ser un precio a pagar por la realización de fotosíntesis, es el de mantener un balance de temperatura entre las plantas y su ambiente. Esto se logra mediante la liberación de vapor cuando existe exceso de calor como forma de disipación. En el monitoreo de plantas, es común estimar de forma conjunta tanto transpiración como fotosíntesis debido a su estrecha relación. También es frecuente utilizar otras relaciones termodinámicas como la conductancia estomatal (C_{leaf}) y el déficit de presión de vapor (VPD) (Field et al., 1991). Estas variables de respuesta constituyen indicadores termodinámicos de estrés hídrico comúnmente utilizados en agricultura de precisión para optimizar el uso de recursos hídricos (Bitelli, 2010).

La C_{leaf} es una variable que representa una medición cuantitativa del inverso de la resistencia estomatal (r_s) de las células guardianas contenidas en las estomas de una hoja, sumada a la resistencia de frontera, o en inglés “*boundary resistance*” (r_b), que juntas se oponen al flujo de vapor de agua. Las células guardianas actúan como válvula de control para el movimiento de vapor de la planta hacia la atmósfera y a su vez CO_2 en sentido inverso (Hubbard, 2001).

En la figura 3 se presenta un esquema del corte transversal de una hoja, donde se puede apreciar los diferentes tejidos de la misma (parénquima, mesófila y células guardianas) que poseen bajas concentraciones de CO_2 y alta cantidad de agua. La atmósfera es presentada como una nube gris que constituye un ambiente relativamente seco que eventualmente puede deshidratar, o incluso matar, la planta completa si las condiciones ambientales no son las adecuadas (Taiz y Zeiger, 2006). Las células guarda de las estomas se representan en color naranja en la Figura 1 y sirven para abrir y cerrar los poros con el fin de balancear los flujos de CO_2 y vapor de agua entre la planta y su ambiente.

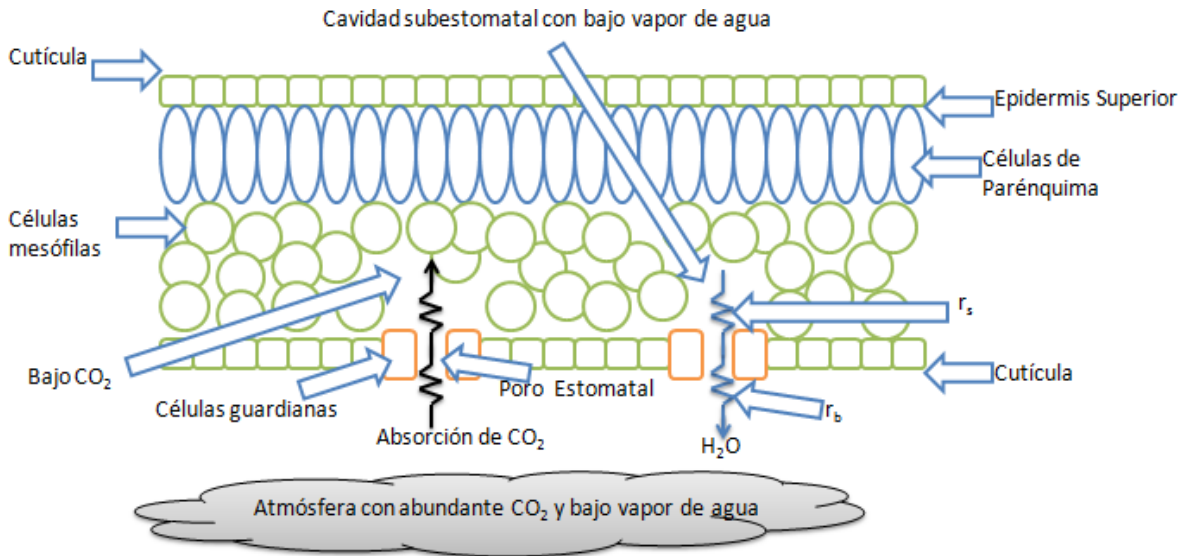


Figura 3. Esquema de corte de una hoja, mostrando el flujo de CO₂ y H₂O.

II.7 Flujo de savia

El flujo de savia es otra variable fisiológica que en los últimos años ha comenzado a utilizarse como indicador de condiciones de estrés hídrico y salino. Principalmente, se ha utilizado principios térmicos para su medición. Esto consiste en perforar el tallo de la planta en dos orificios y colocar dos sensores de temperatura y con base en la diferencia de temperaturas se mide la dirección y un flujo relativo de savia (Cohen et al., 1981).

II.8 Morfología vegetal

La morfología vegetal es una ciencia relacionada con la fisiología vegetal que se dedica al estudio de la forma de las plantas. Esto se refiere a variables como número de tallos, de hojas, de flores o de frutos, por mencionar algunos. Primordialmente, esta ciencia se ha utilizado en aplicaciones de modelado matemático del crecimiento de diversos cultivos como tomate y chile (Contreras-Medina et al., 2009).

II.9 Diámetro de tallo

El diámetro de tallo es otra variable morfológica que se ha venido utilizando como indicador de estrés hídrico en cultivos de uva, principalmente. Algunos le llaman dendrómetro al sensor que se encarga de medir el diámetro de tallo, mientras que otros simplemente lo llaman sensor de diámetro de tallo. Se utilizan diversos principios de censado como son galgas extensométricas, encoders lineales, transductores (*linear variable distance transducer*) LVDT, entre otros. Esta variable morfológica se ha aplicado, esencialmente, a la programación inteligente de riegos. Esto se basa en el análisis del comportamiento natural del diámetro del tallo de una planta, el cual es más grueso durante el día y más delgado durante la noche. Cuando se tiene una condición de estrés hídrico, ocurre una anomalía en la que decrece el diámetro de tallo y puede permitir tomar una acción de control de riego en tiempo real (Villeza et al., 2009).

II.10 Índice de área foliar

El índice de área foliar (*LAI*) es una variable morfológica constituida por la medición cuantitativa del área de una hoja y se utiliza como indicador de producción de biomasa de una planta (Taiz y Zeiger 2006). Para efectuar la medición se hace una cuantificación de la superficie de la hoja que puede realizarse con un simple papel cuadriculado, un escáner de computadora o algún instrumento especializado que en realidad es sólo un escáner portátil. Investigaciones recientes han realizado avances significativos en los que la cuantificación de área se lleva a cabo mediante procesamiento de imagen, logrando una mayor precisión en la cuantificación de los píxeles que corresponden al índice de área foliar.

II.11 Rugosidad

La rugosidad es una variable morfológica determinada por la textura de la superficie de una hoja, planta o elemento de la misma. Se ha utilizado desde hace un largo tiempo como indicador de diversas alteraciones. Como primer caso, se tiene que la rugosidad puede ser normal en algunas especies de plantas; sin embargo, puede también ser asociada con exceso de nitrógeno en la nutrición mineral de una planta (Taiz y Zeiger, 2006). Por otro lado, también ocurre un aumento anormal de rugosidad cuando una planta se encuentra afectada por enfermedades como hongos y virus principalmente, siendo estos últimos causantes de malformaciones o enanismo en plantas que son provocados por el daño viral en el tejido (Agrios, 2005). Todas estas alteraciones se ven reflejadas en la morfología de la hoja; por lo tanto, constituye una variable muy interesante como indicador de estrés físico, químico y biológico.

II.12 Turgencia

La turgencia es considerada como el vigor o firmeza que tiene una hoja. Se encuentra estrechamente relacionada con la rugosidad debido a que, en la mayoría de los casos, una planta no rugosa por naturaleza se encuentra turgente o estirada. A su vez, esta variable se toma en cuenta a menudo como indicador de que la planta tiene una adecuada nutrición de nitrógeno. En cambio, cuando la planta se encuentra deficiente de este nutriente, tiende a perder firmeza en sus hojas (Taiz y Zeiger, 2006). Esto último puede ser también provocado por diversos factores ambientales.

II.13 Coloración

La coloración de la hoja es un indicador de una amplia gama de fenómenos en las plantas. Puede indicar condiciones de estrés físico aunque, en la mayoría

de los casos, los cambios de coloración son provocados por condiciones de estrés químico originado por una deficiente o excesiva nutrición (Taiz y Zeiger, 2006). Por otro lado, los cambios de coloración también pueden deberse a causas naturales como ocurre en las hojas de Nochebuena que cambian de verde a rojo durante la temporada de otoño; sin embargo, en la mayoría de las especies vegetales son provocados por patógenos como hongos, virus y bacteria, principalmente.

II.14 Técnicas de medición de fotosíntesis

Como se ha mencionado con anterioridad dentro de esta tesis, la medición de fotosíntesis es de bastante utilidad para conocer el desarrollo de una planta e incrementar su productividad. Las técnicas de medición han evolucionado a lo largo de los años y actualmente existen diversos métodos o principios utilizados para medir dicho proceso. Los distintos métodos poseen diversas ventajas y desventajas; por lo tanto, es necesario hacer una revisión de los mismos para poder recomendar el más apropiado de acuerdo a las necesidades específicas de cada investigación (Millan-Almaraz et al., 2009).

II.14.1 Método de acumulación de materia seca

Históricamente, la primer técnica reportada para estimación de fotosíntesis consiste en la acumulación de materia seca en la planta, desde el punto de la germinación hasta el momento de su corte para hacer la medición (Hodson et al., 2005). Este proceso puede realizarse cortando la planta entera o sólo la porción que va a ser medida, donde medir el peso fresco es opcional. Subsecuentemente, la muestra es colocada en un horno de secado a temperatura controlada para evitar dañar el contenido de carbono en la muestra. Este proceso remueve, de forma efectiva, cualquier cantidad de agua del tejido del espécimen a ser

analizado. Una vez que la muestra ha sido secada, ésta es pesada para determinar la cantidad de materia seca acumulada durante la vida de la planta. Es posible mejorar la medición de materia seca realizando un procedimiento más elaborado. Primero es necesario cortar la muestra de la planta y mantenerla en una bolsa de plástico de 2 a 5°C para evitar pérdidas de materia por respiración. Posteriormente, es preciso remover los tejidos con necrosis de la muestra. El tejido vivo clasificado debe ser colocado en un horno de secado a una temperatura de 80°C con ventilación forzada. Después del secado, se debe pesar la muestra con una precisión de tres cifras fraccionarias. Una vez pesada, la muestra debe ser incinerada a una temperatura de 500°C para remover el carbono y, después, pesar los residuos inorgánicos de la muestra para restarlos del peso seco obtenido previamente. Es importante no subir de la temperatura de incineración descrita para evitar la destrucción de los compuestos inorgánicos. Este método es completamente destructivo, pero resulta efectivo para la estimación de fotosíntesis acumulada.

II.14.2 Método manométrico

La técnica manométrica para medición de fotosíntesis está basada en la medición indirecta de la presión de CO₂ u O₂ en una cámara aislada con organismos fotosintéticos. El procedimiento consiste en colocar el espécimen en un recipiente cerrado que tiene dos salidas acopladas con un medidor de presión y mantener una presión constante de uno de los gases, ya sea de CO₂ (pCO₂), ya sea de O₂ (pO₂), mediante el uso de algún buffer químico (Warburg, 1919; Hunt, 2003). Un ejemplo de aplicación de este método es el alga *Chlorella*, la cual debe mantenerse dentro del recipiente en solución acuosa para poder observar las reacciones bioquímicas fotosintéticas (Warburg, 1919; Geider y Osborne 1989). En el caso de medir fotosíntesis cuando pO₂ es constante, es necesario utilizar un buffer de CrCl₂ en un subcontenedor para absorber toda liberación de O₂ en el aire. De esta forma, es posible medir solamente los cambios en la presión de

pCO₂ en el manómetro como indicador de la actividad fotosintética en la solución de algas o cualquier entidad biológica (Hunt, 2003). En el caso de mantener constante pCO₂, se debe usar un buffer de carbonato o bicarbonato para medir la variación de pO₂ (Millan- Almaraz et al., 2009)

II.14.3 Métodos Electroquímicos

Esta técnica se basa en el uso de electrodos electroquímicos para la medición de O₂, CO₂ o pH en soluciones acuosas de la muestra analizada con el fin de detectar variaciones en función de la actividad fotosintética. Inicialmente, esos sensores fueron usados en aplicaciones de monitoreo de sangre, pero tiempo después comenzaron a usarse en el monitoreo de organelos celulares como cloroplastos aislados y mitocondrias (Deleiu y Walker 1972; Millan-Almaraz et al., 2009). Los sensores electroquímicos de CO₂ y pH se basan en cambios de corriente eléctrica que se genera en presencia de CO₂ y han sido utilizados ampliamente en la medición de fotosíntesis y respiración en ambientes acuosos (Talling, 1973; Axelsson, 1988).

Los electrodos electroquímicos de oxígeno son fabricados comúnmente usando un cátodo de platino y un ánodo de plata separados por un electrolito (Hunt, 2003). Los elementos del sensor son separados de la muestra bajo prueba por una membrana permeable a O₂, típicamente de teflón o polietileno (Takahashi et al., 2001). Las terminales del sensor son polarizadas con 0.7 V y cuando ocurre una reacción química, el O₂ es convertido en peróxido de hidrógeno (H₂O₂) y posteriormente reducido a iones OH, donde los cuatro electrones requeridos para llevar a cabo la reacción son donados por la oxidación de plata en el ánodo (Millan-Almaraz et al., 2009). La corriente eléctrica que fluye de ánodo a cátodo es directamente proporcional a la concentración de O₂ fuera de la membrana permeable. Esta señal puede ser convertida a voltaje por un circuito de acondicionamiento de señal y muestreada por un sistema de adquisición de datos.

La principal ventaja de este método es su bajo costo y simplicidad, volviéndolo adecuado para aplicaciones didácticas del proceso de fotosíntesis (Takahashi et al., 2001). Sin embargo, tiene algunas limitaciones debido a que estos sensores consumen oxígeno de la muestra y, por lo tanto, después de un periodo prolongado de medición, los datos pueden resultar erróneos. Además, debe agitarse la muestra cada cierto tiempo debido a que la concentración de O_2 en el cátodo es diferente al resto de la muestra y debe homogeneizarse lo más posible. Por otro lado, la membrana permeable debe ser cambiada cada cierto tiempo para tener una mayor precisión y, finalmente, es importante mantener una concentración de clorofila inferior a 100g/ml porque, en concentraciones altas, la fotosíntesis provoca la aparición de burbujas que interfieren con la señal de corriente de los sensores (Millan- Almaraz et al., 2009).

Una alternativa son los electrodos de medición de O_2 en condiciones gaseosas. Esta técnica tiene ventajas sobre la acuosa principalmente porque no sólo es posible medir fotosíntesis en soluciones acuosas sino también en tejidos, partes o incluso plantas completas. Los electrodos están compuestos por una cámara en forma de disco en donde se coloca la parte de planta a analizar y, posteriormente, se encierra en una cámara para medir los cambios en la concentración gaseosa del O_2 (Deleiu y Walker, 1972).

II.14.4 Métodos de isotopos de carbono

Esta metodología está basada en el uso de isotopos de carbono como ^{11}C , ^{12}C y ^{14}C para la producción del CO_2 , marcado con radioactividad, que será aplicado a algas o plantas en cámaras aisladas e iluminadas para producir la máxima fijación de CO_2 radioactivo durante la actividad fotosintética. Inicialmente, este método fue utilizado para seguir la ruta del carbono dentro de la planta (Calvin y Bassham 1962). De esta forma, se utilizó como método para estudiar la distribución de carbono en la forma de carbohidratos en plantas y ha sido

extendido a la medición de fotosíntesis (Irvine, 1967). Este procedimiento envuelve típicamente la aplicación de $^{14}\text{CO}_2$ a la muestra bajo estudio por un periodo de 15 a 60 segundos, entonces la muestra es colocada en un sistema que cuantifica el número de partículas beta en ésta y se mide la cantidad de fotosíntesis con base en la cantidad de partículas emitidas (Millan-Almaraz et al., 2009). Algunas alternativas sugieren utilizar un contador de centelleo (Lupton, 1967) o una cámara de ionización (Ludwig y Canvin, 1971) para la medición del $^{14}\text{CO}_2$ en la planta. Algunas aplicaciones de esta técnica son el estudio del almacenamiento de almidón en cloroplastos aislados (Williams y Cobb, 1985) y para la fijación en algas (Jespersen, 1994). Las desventajas de este método son que es destructivo al contaminar la muestra de estudio con radioactividad, no funciona bien en ambientes de poca iluminación y se pierde el $^{14}\text{CO}_2$ porque la respiración es muy lenta.

Otra variante de la técnica por isotopos de carbono es la medición del CO_2 marcado mediante imagen, la muestra marcada es colocada en un sistema rastreador de imagen por emisión de positrones (PETIS) usando condiciones de baja iluminación, donde es posible ver la distribución de la radiación emitida por el isótopo en la planta (Kawachi et al., 2006). Al usar esta técnica, también es posible ver la distribución de varios nutrientes cuando se utilizan diversos isótopos como ^{11}C , ^{13}N , ^{15}O , ^{52}Fe , ^{52}Mn , ^{62}Zn and ^{107}Cd .

II.14.5 Estimación por modelado matemático

Como se ha mencionado anteriormente, la fotosíntesis es una variable que no puede ser medida directamente; por lo tanto, es necesario medir otras variables independientes y utilizar ecuaciones específicas para estimar la tasa fotosintética. El caso específico de esta metodología se establece en el desarrollo de modelos matemáticos que permiten estimar la fotosíntesis basándose en patrones de comportamiento obtenidos del monitoreo de otras variables, que son usualmente factores ambientales. Un modelo propone dividir la estimación de fotosíntesis de

canopia en dos sub modelos. El primero es utilizado como base empírica para la auto calibración del segundo, éste es un modelo de tipo caja negra responsable de calcular la fotosíntesis haciendo regresiones diarias (Ehler, 1991).

Otro modelo desarrollado propuso invertir el modelo AliBio para la estimación de evapotranspiración de una canopia de plantas en dos cultivos de soya bajo estrés hídrico usando variables como la reflectancia espectral, temperatura por infrarrojos y microondas como entradas al modelo de transferencia tierra-vegetación-atmósfera (SVAT) (Oliosio et al., 1999). Algunos autores han propuesto el uso de información de un sistema "Landsat" como entrada a un modelo "Daisy" para estimar el índice de área foliar y la concentración de nitrógeno en las hojas de las plantas (Abrahamsen y Hansen 2002). Otra variante de esta técnica ha sido la simulación de fotosíntesis usando un modelo de ecosistema integrado (Coupmodel) en dos diferentes estaciones del año y con un variado rango de condiciones de estrés salino en plantas de tomate (Karlberg et al., 2006). Otros investigadores propusieron el uso de un modelo matemático usando mínimos cuadrados para predecir el crecimiento de algas mediante comparaciones de datos experimentales acompañados de simulaciones con el objetivo de optimizar la actividad fotosintética en la producción de algas. Aunque esta técnica es difícil por la complejidad de los modelos, resulta ser una herramienta poderosa en la generación de nuevos modelos para predecir de forma precisa la fotosíntesis, basándose en el monitoreo de diversos aspectos.

II.14.6 Método de ondas acústicas

Este método es una forma poco convencional de medir la fotosíntesis de algas en el mar. Está basado en el principio de distorsión de ondas acústicas por el medio en que se propagan. La técnica consiste en colocar un transmisor acústico en el fondo del mar donde se desea medir la actividad fotosintética. Un hidrófono es colocado cerca del transmisor de sonido para usarse como señal de referencia acústica. Del otro lado del área a ser monitoreada, se coloca un

segundo hidrófono que actúa como sensor acústico. Observando el fenómeno de producción de burbujas de O_2 por la actividad fotosintética de las algas en el fondo del mar, puede notarse una distinción entre la señal de referencia y la de medición. Entonces, puede observarse una mayor diferencia entre ambas señales durante el día que durante la noche; esto se debe a que la luz permite que se lleve a cabo la fotosíntesis de las algas y consecuentemente la liberación de burbujas de O_2 que interfieren con la propagación de sonido (Hermand, 2004).

II.14.7 Métodos de fluorescencia

La fluorescencia es el fenómeno en que una cierta cantidad de luz es retenida por la iluminación y liberada en forma de energía lumínica después de que termina el tiempo de exposición de una muestra a la fuente de luz (Taiz y Zeiger, 2006). Dentro de la investigación de fotosíntesis, la fluorescencia es utilizada de varias formas y en variadas aplicaciones.

Existen bacterias luminiscentes que en presencia de O_2 fotosintético pueden ser utilizadas como biosensor (Tchan et al.,1977). Este procedimiento consiste en colocar las bacterias en una solución de micro algas. Una vez combinadas se les aplican condiciones de luz para iniciar la fotosíntesis en las algas de la solución. Después el recipiente se cambia de posición mecánicamente para colocar la solución en modo de medición con el objetivo de poder cuantificar la fluorescencia de bacteria sin la interferencia de la fuente de luz que inició la actividad fotosintética de las algas. De esta forma, la cantidad de fluorescencia es directamente proporcional a la cantidad de O_2 disuelto en la solución bajo prueba generado por la actividad fotosintética de micro algas. Este procedimiento se ha aplicado para la prueba de herbicidas que inhiben la actividad fotosintética de micro algas.

La fluorescencia de clorofila es una de las técnicas de medición de fotosíntesis que más se utiliza hoy en día. Esta técnica se fundamenta en el principio de las plantas que ocurre cuando la clorofila es iluminada y posteriormente comienza a liberar la energía almacenada en forma de fluorescencia roja (Taiz y Zeiger, 2006; Long, 1990). Este fenómeno está basado en el principio de Kautsky, que mide la relación entre la mínima fluorescencia (F_0) y la máxima, el cual también es conocido como saturación (F_m) para estimar la eficiencia fotoquímica de la muestra. El procedimiento de medición requiere colocar la muestra bajo prueba en un contenedor oscuro para, después, iluminar por un periodo para obtener pulsos a través de F_0 , entonces se ilumina para obtener F_m . Posteriormente, es calculada como fluorescencia variable ($F_v = F_m - F_0$). Lo anterior lleva a calcular la fluorescencia de clorofila mediante F_v / F_m (Fedack et al., 2005).

Esta técnica tiene diversas ventajas en comparación con las anteriormente descritas, principalmente porque es virtualmente inmune al ruido ambiental causado por temperatura, presión o humedad relativa (RH). Por lo tanto, es considerado un método muy robusto para la medición de fotosíntesis, incluso en condiciones ambientales hostiles (Wang et al., 2004). Otra característica de esta técnica es que resulta muy sencillo hacer la medición en conjunto con un sistema de intercambio de gas, lo cual es interesante ya que permite correlacionar ambas mediciones para obtener una estimación más precisa de la fotosíntesis del espécimen bajo estudio (Peterson, 1990; Long y Bernacchi 2003).

Una variante de la técnica de fluorescencia es utilizada como fluorescencia de O_2 y requiere la aplicación de una tintura color azul celeste, la cual es reactiva a O_2 para medir la concentración de O_2 intracelular utilizando un fluorómetro aplicado a plantas inyectadas con la tintura fluorescente. Posteriormente, se aplica una técnica de modulación de fase multi frecuencia usando un amplificador Lock-In para discriminar la clorofila de la fluorescencia del O_2 (Schmalzlin et al., 2005).

Otra metodología basada en fluorescencia es la imagen de clorofila que se justifica en el mismo principio de la fluorescencia de clorofila, con la ventaja de que en este caso la medición no se realiza de forma puntual, en cambio se toma una imagen completa de un área de la hoja utilizando una cámara como fotodetector permitiendo así tener una fotografía completa de la muestra, lo cual ayuda a observar diversas áreas con distinta actividad fotosintética donde una medición puntual provee una información pobre acerca del fenómeno (Lichtenthaler et al., 2005). Como ya se ha mencionado anteriormente, esta técnica es útil para obtener mediciones completamente gráficas de la muestra y contiene mucha más información que una medición puntual. La desventaja aquí es que el costo en comparación con un fluorómetro tradicional es elevado.

II.14.8 Método de intercambio de CO₂

El método de intercambio de gas es actualmente el más común para la medición de fotosíntesis en los equipos comerciales y arreglos experimentales para medir hojas individuales, plantas completas, pabellones de plantas o incluso bosques (Schulze, 1972; Bassow y Bazzaz 1998). Este procedimiento consiste en aislar durante un periodo el espécimen a medir en una cámara cerrada para cuantificar la concentración de CO₂ en el momento en que se cierra la cámara. Después de unos minutos de que se cerró la cámara de intercambio de gas, se registran los cambios en la concentración de gases y RH en la cámara. Posteriormente, el intercambio de CO₂ u O₂ puede ser medido (Schulze, 1972; Takahashi et al., 2001). Hay dos tipos de intercambio de gas: los sistemas cerrados, en los cuales se cierra completamente la cámara de intercambio y se miden las concentraciones de la mezcla de gases antes y después del periodo de tiempo dejado para que se lleve a cabo la fotosíntesis; y los sistemas abiertos, en los cuales se aplica un flujo constante de aire a la cámara y se mide la concentración de entrada y la de salida de la cámara (Millan-Almaraz et al., 2009).

La medición de CO₂ se realiza con sensores infrarrojos para análisis de gas (IRGA) basados en el principio de emisor infrarrojo-fotodetector apareados, en los cuales el rayo de luz infrarroja es usado para medir la concentración de moléculas de gas en el aire. Esto está fundamentado en el fenómeno de absorción, en éste las moléculas de gases con número impar de átomos, mejor conocidos como heteroatómicos como CO₂, CH₄, NH₃ por nombrar algunos, absorben una porción de la luz infrarroja, mientras que las moléculas homoatómicas, como N₂ u O₂, no lo hacen. En particular, el CO₂ tiene una máxima detección a una longitud de onda de 4.25 μm con picos laterales de 2.66, 2.77 y 14.99 μm (Hill y Powell 1968). La calibración de esos sensores para ajuste cero requiere aire libre de CO₂ y otros gases heteroatómicos; por lo tanto, el N₂ es el más utilizado mientras que el ajuste “*span*” requiere hacer uso de una mezcla de aire con una cantidad conocida de CO₂ (Millan-Almaraz et al., 2009).

En términos de medición de fotosíntesis, el intercambio de CO₂ es el más utilizado comúnmente en la construcción de sistemas comerciales y experimentales. En esta técnica, los sistemas cerrados utilizan sensores IRGA para medir la concentración inicial y posteriormente, la concentración final después de un periodo de tiempo, con el fin de permitir que la fotosíntesis de la planta se efectúe (Phytech, 2005). Los sistemas de flujo abierto tienen grandes ventajas sobre los sistemas cerrados porque no requieren esperar un tiempo para leer la concentración final después de la fotosíntesis. En cambio, estos sistemas de flujo abierto permiten muestrear la fotosíntesis a frecuencias mucho más altas que los sistemas cerrados. Por lo tanto, estos resultan más útiles para monitoreo de fenómenos rápidos; lo que también permite que la cámara de intercambio de gas sea intercambiable dependiendo de la forma y tamaño de la muestra por analizar. El tipo de instrumentación varía con el fabricante ya que hay sistemas que utilizan solo un IRGA para medir tanto la concentración de entrada como la de salida y necesitan de un arreglo neumático que permita cambiar el canal de aire a medir como el LI-COR 6400XT, Lincoln, NE, USA. Otros, en cambio, utilizan doble IRGA y realizan la medición en paralelo a frecuencias mucho más altas; sin embargo,

tienen la desventaja de tener errores de desvío, ya que es imposible que dos sensores sean exactamente iguales. En algunos casos se hace análisis combinado de CO₂ y O₂ para correlacionar las variaciones (Chen, 2006).

Una variante del método de intercambio de CO₂ es la medición de intercambio de gas en canopia completa, es decir, un grupo completo de plantas para estudiar poblaciones completas de plantas. Algunos investigadores han diseñado arreglos experimentales que consisten en cajas de acrílico que sirven de casa para grupos de plantas con sistema de intercambio de CO₂ por flujo abierto. En otras aplicaciones se colocan los IRGA en torres en los bosques que contienen diferentes especies de árboles para determinar la fotosíntesis de canopia a escala de bosque (Bassow y Bazzaz 1998).

El diseño de sistemas de medición de fotosíntesis por intercambio de CO₂ debe tener algunas consideraciones, incluyendo el rango de operación del CO₂ del fenómeno que va a ser estudiado para asegurar la selección de un IRGA apropiado de acuerdo a la aplicación. Ha sido reportado que el rango de importancia fisiológica en plantas es de 50 a 800 ppm de CO₂ (Hanstein et al., 2001). Aunque los sensores electroquímicos de CO₂ son económicos, resultan inapropiados para esta aplicación, ya que comienzan a medir alrededor de 300 ppm como mínimo; por lo tanto, los sensores no dispersivos infrarrojos (NDIR) son los más apropiados.

Otro aspecto importante a considerar es el flujo de aire, porque ha sido reportado que el rango mas apropiado para tener la menor cantidad posible de variaciones de fotosíntesis es de 0.3 a 1.0 litros por minuto (lpm) (Kitaya et al., 2000). El sello neumático es otra consideración que debe tomarse en cuenta, ya que en cámaras de color transparente es común encontrar sellos de neopreno color negro, los cuales oscurecen parcialmente la hoja y produce una respiración parásita que filtra CO₂ al interior de la cámara, provocando error en la medición (Pons y Welschen 2002; Long y Bernacchi 2003). El diseño de la forma de la cámara debe ser

seleccionado de acuerdo a las necesidades morfológicas de la especie que se va a medir. Finalmente, es necesario elegir la plataforma tecnológica de control electrónico que coordinara todo el proceso de monitoreo, procesamiento y transmisión de datos para futuro análisis fuera de línea, para esto se puede elegir computadoras personales (PC) o micro controladores (μ C).

II.14.9 Método de intercambio de O₂

El método de intercambio de O₂ provee una alternativa al intercambio de CO₂ que puede ser usada como una herramienta adicional para enriquecer la información obtenida en un sistema de intercambio de CO₂. El procedimiento es básicamente el mismo; sin embargo, este método tiene algunas desventajas en comparación con su contraparte basada en CO₂. La primera es que la diferencia entre la concentración inicial y final de O₂ es mucho más pequeña en comparación con un intercambio de CO₂, por lo que se requiere una muy elevada precisión en los sensores de O₂ y costosos sistemas de adquisición de datos (Hunt, 2003). Otra importante desventaja es que el O₂ es un gas más inestable que el CO₂, el cual debe mantenerse a una temperatura de 700 °C para mantener una concentración molar estable.

II.15 Herramientas de fitomonitorio

Existen soluciones comerciales de fitomonitorio, de costo elevado, desarrolladas en el extranjero (LI-COR, 2007; Phyttech, 2005). Al no tener tecnología de fitomonitorio en el país se genera una dependencia tecnológica que requiere el desarrollo de un sistema de bajo costo y capacidades superiores a los sistemas comerciales; que cubra las nuevas necesidades de tecnificación del campo mexicano eficientemente. Otro aspecto de suma importancia es la apertura del libre comercio en agricultura, lo cual implica que se tiene una fuerte necesidad

de tecnificación para el campo mexicano que permita competir con los productos básicos producidos en otros países que cuentan desde hace más tiempo con tecnología avanzada en automatización agrícola y manejo eficiente de los recursos. La competitividad internacional en producción agrícola implica diversos aspectos, entre ellos: reducir drásticamente los costos de producción para vender a un precio competitivo, disminuir los riesgos en la inversión, el uso de pesticidas, fertilizantes químicos e incrementar la calidad de los productos como cereales, frutas y hortalizas para aumentar el mercado de exportaciones y reducir las importaciones. De esta forma se contribuye para ayudar a tener mejores expectativas de mercado a los productores.

Actualmente, los sistemas de fitomonitorio disponibles en el mercado son muy limitados. Los datos provenientes de las variables fisiológicas monitoreadas son registrados por el equipo y almacenados para su posterior análisis fuera de línea; por lo tanto, no permiten realizar un fitomonitorio en tiempo real para realizar diagnósticos y correcciones oportunas de problemas en el cultivo (LI-COR, 2007; Phyttech, 2005; PP Systems, 2008).

Hasta el momento las investigaciones que implican la aplicación de fitomonitorio a diversas plantas se han realizado de forma parcial, ya que sólo se observa la evolución de algunas pocas variables y no se hace un monitoreo integral de fisiología y ambiente que permita conocer una aproximación mas precisa del comportamiento del cultivo estudiado (Kopyt et al., 2001; Ton et al., 1997; Ton et al., 2001; Ton et al., 2003a). Esto se debe a las limitaciones de los equipos disponibles en el mercado que carecen de tecnología de automatización que pueda realizar un fitomonitorio integral. La carencia de tecnología de fitomonitorio integral ocasiona que sea difícil conocer el comportamiento de una planta de forma precisa. Para tener un fitomonitorio integral es necesaria la inclusión de un mayor número de variables fisiológicas y ambientales monitoreadas en la planta estudiada, con la finalidad de conocer la relación entre dichas variables y su repercusión en el estado de la planta.

Por otra parte, los sistemas de fitomonitorio actuales cuentan con una muy baja autonomía de operación; por consiguiente, se vuelve imposible realizar mediciones por periodos extensos de tiempo debido a su dependencia a cartuchos de gas CO₂ externos y sus capacidades de memoria bastante limitadas.

II.16 Automatización

La automatización consiste en incorporar a un proceso un conjunto de elementos y dispositivos tecnológicos que aseguren su control y buen comportamiento. Sus objetivos son la reducción de costes de fabricación, la calidad constante en los medios de producción y liberar al ser humano de las tareas tediosas, peligrosas e insalubres (García-Moreno, 1999).

Un proceso automatizado asegura los parámetros apropiados para hacer mediciones, análisis de operaciones, mayor rentabilidad, cálculos en acciones de control; por otro lado, el personal de la planta se mantiene informado sobre el proceso y sus capacidades y conocimientos son explotados; además, la detección de fallas se realiza con mayor facilidad.

II.17 Plataformas tecnológicas para automatización

A continuación, se presentan las plataformas tecnológicas más utilizadas dentro de la automatización, como lo son los microcontroladores y microprocesadores, FPGA y DSP; también se describe su funcionamiento así como algunas de las aplicaciones en la industria y la vida cotidiana.

II.17.1 Microcontroladores

Los microcontroladores son circuitos embebidos en una amplia gama de equipos y dispositivos que se encuentran en el hogar, la industria, las comunicaciones y otras áreas que afectan nuestra vida cotidiana. Un sistema con microcontrolador debe disponer de una memoria donde se almacene el programa que gobierna el funcionamiento del mismo que, una vez programado y configurado, sólo sirve para realizar la tarea asignada. En resumen, es un dispositivo de bajo consumo de energía, con moderado poder de procesamiento, encapsulado pequeño y diversos periféricos integrados (Balch, 2003).

II.17.2 Procesador digital de señales

En 1972, aparece el primer microprocesador de propósito general y en 1980, el primer microprocesador especializado en el tratamiento de señal (DSP), diseñado para realizar eficientemente el cálculo reiterado de la combinación producto-acumulación (operación básica de la convolución). Al convertir la manipulación de las señales en una cuestión de cálculo numérico realizada en un computador, el DSP pudo incorporar a su patrimonio todos los conocimientos matemáticos, o de cualquier otra índole, susceptibles de ser programados en una computadora personal.

Un Procesador Digital de Señales (DSP), que cuente con un simple ciclo de multiplicación, es muy adecuado en las aplicaciones donde se requiere de velocidad para ejecutar cálculos y para la optimización de algoritmos en procesamiento digital de señales.

El DSP ha facilitado, por ejemplo, que hoy pueda disponerse de servicios tales como la telefonía celular, las comunicaciones de datos vía red telefónica o la televisión digital, de sistemas de conversión de texto a voz, o efectos musicales

especiales que pueden convertir un salón en una catedral gótica o en el *Palau de la música*

II.17.3 Arreglo de compuertas programables en campo (FPGA)

Un FPGA (Field Programmable Gate Array) es un arreglo bidimensional de bloques lógicos y flip-flops con interconexión electrónicamente programable entre ellos (Sulaiman et. al., 2009).

Los FPGA's se basan en una cantidad muy grande de celdas lógicas, muy elementales, y una interconectividad significativamente mayor que la de sus contrapartes. Además, permiten un consumo de potencia evidentemente menor y un mayor nivel de integración. Este tipo de dispositivo puede contar con unidades que van desde las 50,000 hasta los 10'000,000 de compuertas lógicas equivalentes (Romero-Troncoso, 2007).

Recientemente, los FPGA se han vuelto una solución alternativa para el diseño de sistemas digitales, donde previamente se encontraban dominados por sistemas de microprocesadores de propósito general. Los controladores basados en FPGA ofrecen ventajas como alta velocidad en procesamiento, funcionalidad compleja y bajo consumo de energía. Estas características son atractivas desde el punto de vista para el diseño de sistemas embebidos. Actualmente, el uso de FPGA se ha reportado en sistemas con retroalimentación en control digital, como rodamientos magnéticos, inversores por modulación por ancho de pulso (PWM), motores de inducción, convertidores de AC/DC y controladores para variadores de velocidad. La implementación de controladores basados en FPGA no se ha enfocado en un uso óptimo de recursos en hardware. Estos diseños requieren un gran número de multiplicadores y sumadores, y no utilizan eficientemente las características de la memoria del FPGA.

Las ventajas de un FPGA son: la inmunidad a la obsolescencia, por lo que si la tarjeta se deja de fabricar, el código puede ser traspasado a otra tarjeta o familia haciendo cambios mínimos, por ejemplo, en la asignación de pines y flanco de interruptores; además, se pueden programar inalámbicamente, son reconfigurables, porque todo está integrado en un solo circuito (System On a Chip), su tamaño es reducido, en el orden de milímetros y son de bajo costo, entre otros.

Las principales “desventajas” de un FPGA son su alto conocimiento y el tiempo de desarrollo. Alto conocimiento porque, si el usuario comienza a familiarizarse con esta tecnología, debe contar con conocimientos de lógica combinacional y secuencial, el cual no representa complejidad. El tiempo de desarrollo de un núcleo en específico se lleva un tiempo que después se repone, ya que el código puede ser llamado posteriormente para diferentes aplicaciones.

II.18 Plataformas de software para el desarrollo de interfaces gráficas de usuario

Algunas de las plataformas que se han utilizado para el desarrollo de interfaces gráficas de usuario son la API de Windows, Guide de MatLab, Java, Visual Basic entre otras. Éstas son similares, sin embargo, debido al nivel de abstracción y lenguaje, el procesamiento para ejecutar las instrucciones es afectado dependiendo de la aplicación.

Los programadores escriben instrucciones en diversos lenguajes de programación; algunos comprenden directamente la computadora, mientras que otros requieren pasos intermedios de traducción. En la actualidad, se utilizan cientos de lenguajes de computación. Deitel (2008) los divide en tres tipos generales:

- Lenguaje Máquina

- Lenguajes Ensambladores
- Lenguajes de alto nivel

Cualquier computadora puede entender de manera directa sólo su propio lenguaje máquina; que es su lenguaje natural, y como tal, está definido por el diseño del hardware de dicha computadora. Por lo general, los lenguajes máquina consisten en cadenas de números que finalmente se reducen a 1s y 0s que instruyen a las computadoras para realizar sus operaciones más elementales, una a la vez.

Los programadores empezaron a utilizar abreviaturas del inglés para representar las operaciones elementales, lo que formó la base de los lenguajes ensambladores. Estos se desarrollaron para convertir los primeros lenguajes ensamblador a lenguaje máquina, a velocidad del microprocesador de la computadora.

Para agilizar el proceso de programación se desarrollaron los lenguajes de alto nivel, en donde podían escribirse instrucciones individuales para realizar tareas de mayor complejidad. Los programas traductores, denominados compiladores, convierten a lenguaje máquina, los programas que están en lenguaje de alto nivel (Deitel, 2008).

Las presiones de salida al mercado y la proliferación de dispositivos incompatibles hacen que el diseño de software sea una tarea difícil para los desarrolladores de dispositivos de bajo consumo. Los desarrolladores de sistemas embebidos han adoptado a Java en los últimos años porque el lenguaje se abstrae del hardware subyacente, mejorando la portabilidad. Java es una buena opción para el desarrollo de sistemas embebidos por su capacidad para superar problemas en C y C++ como lo son protocolos de comunicación y portabilidad.

III. METODOLOGÍA

III.1 Estudio de características de las herramientas y equipos de fitomonitorio existentes en búsqueda de deficiencias y oportunidades de mejora.

Inicialmente, se realizó una revisión profunda acerca de los principios y metodologías científicas que históricamente se han utilizado hasta la actualidad para estimar la tasa fotosintética de una planta; se encontró que el método de intercambio de CO₂ es el que proporciona mayor cantidad de información (Hunt, 2003). Una vez obtenido dicho conocimiento sobre los principios usados en medición de fotosíntesis se procedió a revisar la literatura existente sobre las herramientas de fitomonitorio y sistemas de medición de fotosíntesis basados en intercambio de CO₂ comerciales. Se incluyeron el LI-6400XT (LI-COR, 2007) y el PTM-48M (Phytech, 2005) adquirido por la Universidad Autónoma de Querétaro y el CIRAS-2 (PP Systems, 2008) para conocer las características de estos sistemas revisando la literatura proporcionada por los fabricantes y en trabajos científicos donde han sido aplicados (Pons y Welschen 2002; Wang et al., 2004; Wang et al., 2007; Ton et al., 2003c). Además, se llevaron a cabo experimentos de monitoreo de fotosíntesis y transpiración en un cultivo de jitomate *Lycopersicon Esculentum* bajo condiciones de invernadero en el campo experimental de Amazcala de la UAQ con fines de entrenamiento en el uso del PTM-48M para estudiar de cerca sus características y capacidades (Phytech, 2005). Con base en la información obtenida se realizó un análisis de las deficiencias y posibles oportunidades de mejora en los sistemas de fitomonitorio y medición de fotosíntesis existentes.

III.2 Ecuaciones de la dinámica de transpiración en plantas.

Como fue mencionado, la transpiración (E) es una función fisiológica que depende principalmente de la diferencia entre la presión de vapor de entrada e_i a un sistema de intercambio de gas y la presión de vapor de salida e_o del gas que sale de la cámara foliar utilizada. Sin embargo, los sensores comerciales proporcionan valores de humedad relativa (Kamp, 1996) y es necesario convertir los valores en e_i y e_o . Para comenzar, es necesario calcular e_s con el fin de poder conocer la máxima cantidad de vapor de agua que el aire puede contener a una temperatura t_a usando las curvas del diagrama de Mollier que se revisó anteriormente (Bakker, 2001) o utilizando la ecuación simplificada (1) como ha sido previamente reportado (PP Systems, 2008). De esta forma, e_i y e_o pueden ser fácilmente obtenidas con (2) y (3), donde RH_i es la RH del aire de entrada al sistema y RH_o es la de salida de la cámara de intercambio de gas.

$$e_s = 6.13753 \times 10^{-3} \exp \left(T_a \frac{18.564 - \frac{T_a}{254.4}}{T_a + 255.57} \right) \quad (1)$$

$$e_i = \frac{(RH_i)(e_s)}{100} \quad (2)$$

$$e_o = \frac{(RH_o)(e_s)}{100} \quad (3)$$

Para estimar E es necesario calcular otro factor importante que es W , el cual constituye el flujo de masa metro por unidad de superficie y por tiempo que, comúnmente, se expresa en mol/m²/s para sistemas de flujo abierto. La ecuación para calcular W está establecida en (4), donde P es la presión manométrica en la

línea neumática expresada en Bar, V es el flujo volumétrico expresado en litros por minuto (lpm), $T_a K$ corresponde a la temperatura del aire en grados Kelvin (K) y A es el área efectiva de la cámara foliar en cm^2 (PP Systems, 2008). La constante 2005.39 corresponde a un coeficiente para cambiar las unidades de masa a mol, superficie a m^2 y tiempo de minutos a segundos.

$$W = (2005.39) \frac{(V)(P)}{(T_a K)(A)} \quad (4)$$

Una vez obtenidas e_i , e_o y W , E puede calcularse como se establece en (5) siendo expresada en $\text{mg}/\text{m}^2/\text{s}$.

$$E = (W) (1000)(18.02) \frac{(e_o - e_i)}{(P - e_o)} \quad (5)$$

III.3 Ecuación de la conductancia estomatal

La conductancia estomatal es otra variable de la dinámica de transpiración que representa la conductividad de vapor de las células guardianas (Hubbard et al., 2001). Ésta puede ser estimada a partir de sensores primarios de temperatura y RH. Como primer paso se debe calcular la presión de saturación de vapor e_{leaf} a la temperatura de la hoja T_{leaf} . Para este propósito, se puede utilizar la misma ecuación de e_s (1) con el objetivo de calcular esto pero sustituyendo T_a por T_{leaf} para obtener (6). La constante r_b es considerada con un valor de $0.3 \text{ m}^2\text{s}/\text{mol}$. Una vez obtenida e_{leaf} , la conductancia estomatal puede ser calculada usando (7), la cual se expresa en $\text{mmol}/\text{m}^2/\text{s}$ (PP Systems, 2008).

$$e_{leaf} = 6.13753 \times 10^{-3} \exp \left(T_{leaf} \frac{18.564 - \frac{T_{leaf}}{254.4}}{T_{leaf} + 255.57} \right) \quad (6)$$

$$C_{leaf} = \frac{W}{\left(\frac{e_{leaf} - e_o}{e_o - e_i} \right) \left(\frac{P - e_o}{P} - R_b W \right)} (1000) \quad (7)$$

III.4 Ecuación del déficit de presión de vapor

Para calcular el VPD es necesario realizar la resta de e_i menos e_o como se expresa en (8), representándolo en unidades KPa (Bakker, 2001).

$$VPD = e_s - e_i \quad (8)$$

III.5 Desarrollo de un sensor inteligente de transpiración

La metodología propuesta para el desarrollo de un sensor inteligente de transpiración en plantas puede observarse en la Figura 4 y ésta consiste en las siguientes etapas: sensores primarios, sistema de adquisición de datos (DAS), unidad de procesamiento digital de señales basada en FPGA (DSP), memoria RAM para almacenamiento de datos, módulo de comunicación serial RS232 y control del mecanismo de la cámara foliar de intercambio de gas (Millán-Almaraz et al., 2010). En la primera etapa se tienen las señales de seis sensores primarios

entre los cuales se tienen sensores de temperatura, RH, iluminación y CO₂. La segunda etapa consiste en un DAS de ocho canales capaz de adquirir las señales de los sensores primarios previamente mencionados. El procesamiento de señal es llevado a cabo en una unidad de procesamiento específico embebida en un FPGA como se ha utilizado previamente en maquinaria CNC (Trejo-Hernandez et al., 2010) y monitoreo de vibraciones en robótica industrial (Rodriguez-Donate et al., 2010). La comunicación de datos es llevada a cabo por medio de una interfaz RS232 embebida en el FPGA y utilizada para enviar las mediciones realizadas a un servidor de datos o algún otro sistema. Finalmente, el mecanismo de cierre y apertura de la cámara de intercambio de gas para la planta es controlado por la unidad de procesamiento en FPGA.

Figura 4. Arquitectura de la plataforma del sensor inteligente de transpiración.

III.6 Ciclo de medición en un sensor inteligente de transpiración

La metodología del ciclo de medición del sensor inteligente de transpiración se muestra en la Figura 5. Aquí los bloques color verde representan etapas en que la cámara foliar se encuentra en posición abierta, mientras que los bloques rojos representan que la cámara foliar está cerrada para aislar la hoja bajo análisis. Cada medición comienza con la activación de una bomba de aire que induce un flujo a través de la cámara y cerrando la cámara foliar mediante un servomotor para aislar la cámara. El sensor inteligente lleva a cabo un retardo de un minuto para esperar que la línea neumática llegue al estado estable. Después, comienza la adquisición de datos de los sensores primarios a una frecuencia de muestreo de 1 Hz. Este proceso es repetido para adquirir 64 muestras de cada sensor, una vez adquiridos estos datos se calculan las variables de dinámica de transpiración, los datos son transferidos, la cámara foliar se abre y la bomba de aire se apaga para ahorrar energía. Finalmente, se aplica otro retardo de tiempo hasta completar los 15 minutos de un ciclo completo de medición y comenzar un nuevo ciclo. Se seleccionó este periodo debido a que en equipos comerciales, la adquisición más rápida es cada 15 minutos y es imprescindible tener la misma frecuencia de muestreo para comparar ambas técnicas.

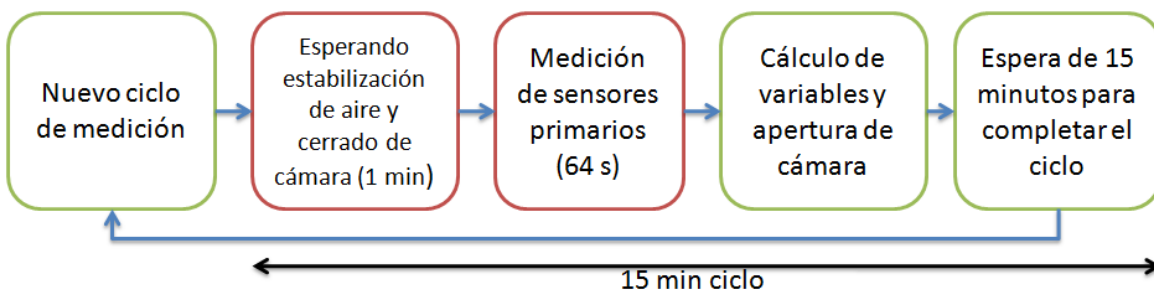


Figura 5. Diagrama a bloques del ciclo de medición en el sensor inteligente de transpiración.

III.7 Metodología de cálculo de transpiración

Para poder calcular E, se propone una metodología de procesamiento de señal en FPGA que se puede observar en la Figura 6. Se aplicaron filtros de decimación por promedio de orden 64 a todas las variables de los sensores primarios como T_a , RH_i , y RH_o para reducir el ruido de cuantización como está establecido en (9) (10) y (11) y presentado por (Rangel-Magdaleno et al., 2009). De esta manera se obtienen las versiones sobre muestreadas de las variables de los sensores primarios distinguidas de las anteriores por el subíndice os obteniendo $T_{a\ os}$, $RH_{i\ os}$, y $RH_{o\ os}$.

$$T_{a\ os} \left(\frac{k}{64} \right) = \frac{1}{64} \sum_{i=0}^{64-1} T_a(k-i) \quad (9)$$

$$RH_{i\ os} \left(\frac{k}{64} \right) = \frac{1}{64} \sum_{i=0}^{64-1} RH_i(k-i) \quad (10)$$

$$RH_{o\ os} \left(\frac{k}{64} \right) = \frac{1}{64} \sum_{i=0}^{64-1} RH_o(k-i) \quad (11)$$

Una vez obtenidas $T_{a\ os}$, $RH_{i\ os}$, y $RH_{o\ os}$, se aplica un filtro pasa-bajas (LPF) de tipo de respuesta infinita al impulso (IIR) con una frecuencia de corte f_c de 1/3600 Hz para obtener las versiones filtradas de las señales previamente decimadas obteniendo las versiones filtradas con el subíndice osf como son $T_{a\ osf}$, $RH_{i\ osf}$, y $RH_{o\ osf}$. Para obtener E, se calculan (1) y (5) utilizando las variables filtradas como entrada como se presenta en la Figura 6.

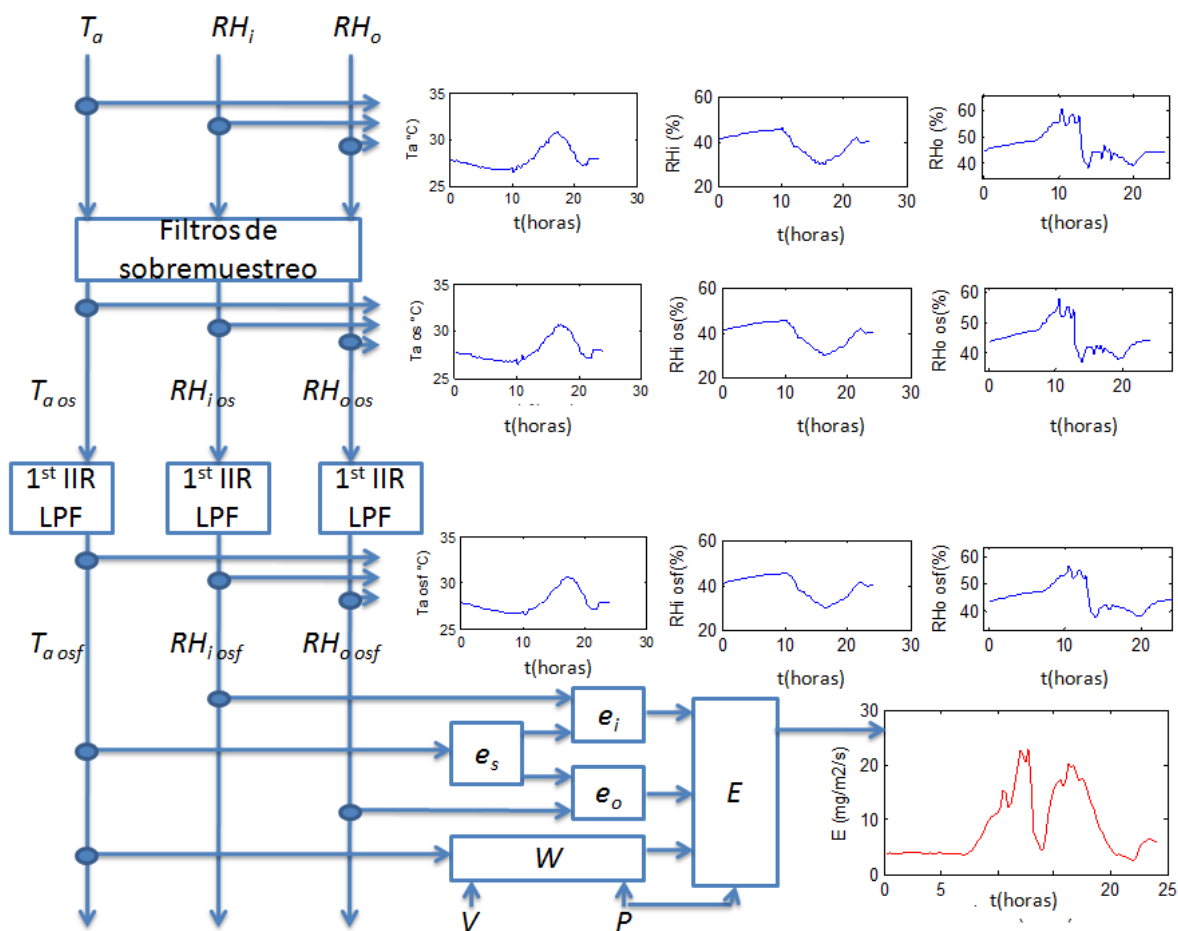


Figura 6. Metodología de procesamiento de señal para estimación de transpiración en tiempo real.

III.8 Metodología de estimación de conductancia estomatal

La conductancia estomatal aprovecha algunos factores previamente calculados en la etapa de procesamiento de transpiración, en la Figura 7 se

propone y describe una metodología de procesamiento de señal basado en FPGA. De la misma manera que se realizó con los sensores primarios durante el cálculo de E, se aplicó filtrado de decimación por promedio de orden 64 a la señal del sensor de T_{leaf} para reducir el ruido de cuantización no deseado de acuerdo a (12). Una vez obtenida la versión sobremuestreada $T_{leaf\ os}$ se aplicó una etapa de filtrado pasa bajas IIR de primer orden con la misma $f_c=1/3600$ Hz para obtener la versión filtrada $T_{leaf\ osf}$. Consecuentemente, e_{leaf} es calculado como se establece en (6) e introducido en (7) para obtener C_{leaf} .

$$T_{leaf\ os}\left(\frac{k}{64}\right) = \frac{1}{64} \sum_{i=0}^{64-1} T_{leaf}(k-i) \quad (12)$$

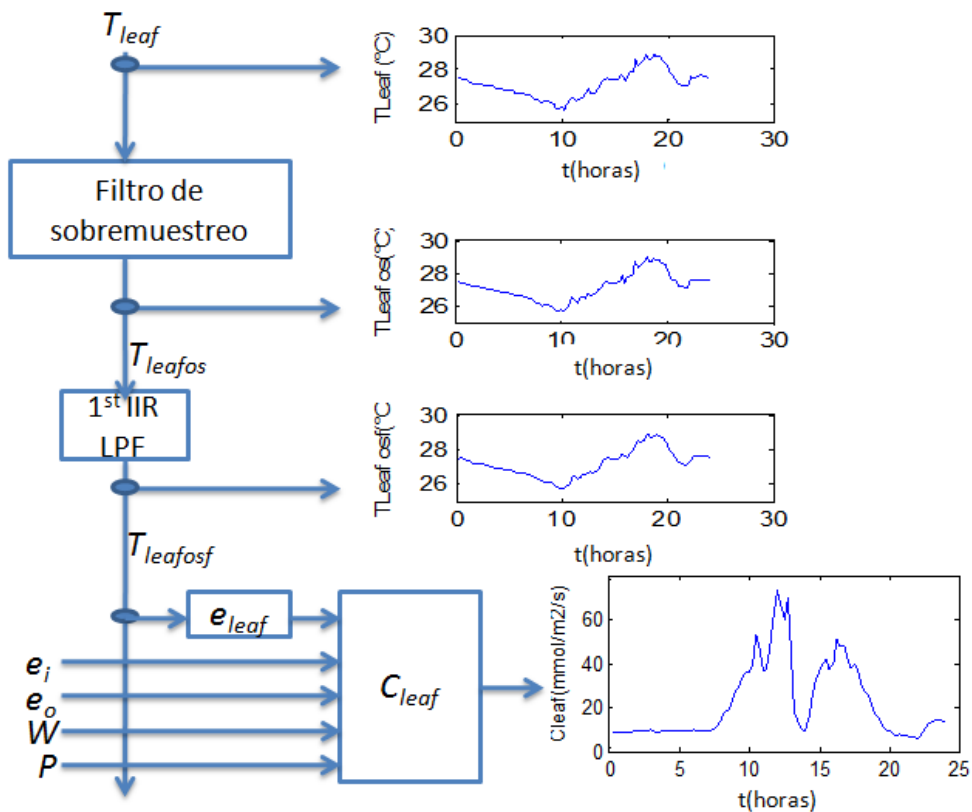


Figura 7. Metodología de estimación de conductancia estomatal.

III.9 Metodología de estimación del déficit de presión de vapor

La estimación del VPD se realiza toda vez que se tienen calculados e_s and e_i durante la etapa de transpiración. El VPD se obtiene de la substracción establecida en (13) y la implementación puede observarse en Figura 8.

$$VPD = (100)(e_s - e_i) \quad (13)$$

III.10 Metodología de estimación de diferencia de temperatura hoja-aire

El cálculo de $LATD$ requiere realizar la substracción de la temperatura del aire filtrada $T_{a\ osf}$ y la temperatura de la hoja filtrada $T_{leaf\ osf}$ usando (14) como se muestra en Figura 8

$$LATD = T_{a\ osf} - T_{leaf\ osf} \quad (14)$$

III.11 Metodología de estimación de radiación

Para medir la luz ambiental o radiación de forma suave se utilizaron los mismo filtros de sobremuestreo más el filtro IIR LPF de primer orden con $f_c=1/3600$ Hz para obtener la versión sobremuestreada y filtrada de la señal primaria de luz $Light_{osf}$. Acorde con (15).

$$light_{os} \left(\frac{k}{64} \right) = \frac{1}{64} \sum_{i=0}^{64-1} light(k-i) \quad (15)$$

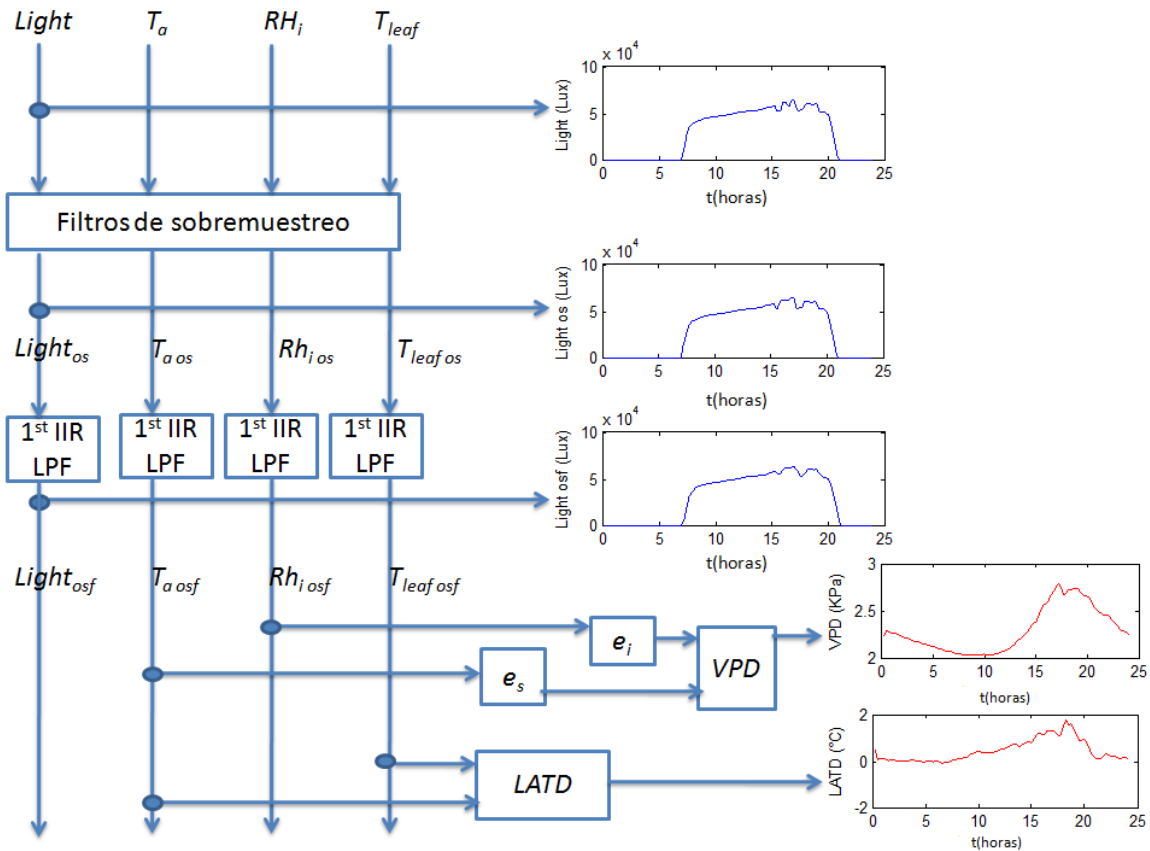


Figura 8. Metodología de procesamiento de señal para estimación de VPD, LATD y Light.

III.12 Monitoreo de transpiración en *Lycopersicon esculentum*

En la Figura 9 se observan el sensor inteligente y el PTM48-M utilizado para la comparación entre ambos equipos. Para este experimento se utilizaron plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum*) como material biológico utilizado para medir las respuestas de transpiración en la prueba del sensor inteligente propuesto. Este sistema de monitoreo de transpiración consiste en una plataforma de instrumentación capaz de medir T_a , T_{leaf} , RH_i , RH_o y $Light$. Para tomar lecturas de temperatura se hizo uso de sensores RTD Honeywell Pt1000 que tienen un rango de medición de $-200\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $540\text{ }^{\circ}\text{C}$, pero configurados para un rango de 0 a $65\text{ }^{\circ}\text{C}$ con una precisión de $\pm 0.3\text{ }^{\circ}\text{C}$ que resulta adecuada para los rangos de

temperatura de las plantas (Honeywell, 2010a). Se desarrolló un sistema de acondicionamiento de señal para convertir la variación de resistencia eléctrica del RTD en un formato estándar de 0 a 5 voltios. Ver Figura A.1.

Para las mediciones de RH se utilizaron sensores capacitivos Honeywell HIH-4000 con rango de medición de 0 a 95% de RH y precisión de +/- 2.5 % siendo conectados al sistema de adquisición de datos a través de un sistema de acondicionamiento de señal encargado de ajustar el valor medido al estándar de 0 a 5 voltios (Honeywell, 2010b). Ver Figura A.2.

La medición de luz ambiental es obtenida usando un sensor cuántico OSRAM SFH-5711 con un rango de 0 a 100,000 lux y una precisión de +/- 0.04% de su valor medido (OSRAM, 2007), el cual provee una salida logarítmica de 0 a 50 μ A, ésta es convertida al estándar de 0 a 5 voltios por una etapa de acondicionamiento de señal. Estos rangos de medición resultan adecuados para medir iluminación desde cuartos completamente oscuros hasta la luz del sol.

El diseño de la plataforma de adquisición de datos está basado en una arquitectura con ocho entradas analógicas en formato de 0 a 5 voltios, donde cada una cuenta con un LPF analógico de segundo orden con una $f_c=20$ Hz. La adquisición y muestreo se basa en un convertidor analógico digital Burr Brown ADS7844 con ocho canales de entrada a una resolución de 12 bits y una frecuencia de muestreo máxima de 200 KSPS para la lectura de las ocho entradas analógicas (Burr Brown, 2003). Ver Figura A.3.

Se utilizó una unidad de control electrónico y procesamiento de señal con base en FPGA para calcular las variables de respuesta de transpiración partiendo de las mediciones de los sensores primarios basados en una tarjeta Altera Cyclone III EP3C16F484C6N con 16,000 LE (Altera Corporation, 2010).

Para el mecanismo de cierre/apertura de la cámara foliar se utilizó un servomotor miniatura modelo E-Sky 000155 debido a su bajo consumo de energía. Mientras que el flujo de aire fue inducido usando una bomba de vacío de tipo pistón.

Se realizó la implementación del núcleo de propiedad intelectual para FPGA en lenguaje VHDL integrando el controlador del DAS, servomecanismo de la cámara foliar, unidad de procesamiento de señales y bloques de comunicación. Ver Cuadro A.4.

Se configuraron ambos sistemas para monitorear variables de transpiración cada 15 minutos para comparar el sensor inteligente propuesto con el Phyttech PTM-48M configurado a su máximo periodo de muestreo de 15 minutos (Phyttech, 2005). Ambos equipos fueron conectados a la misma planta de tomate para probar la efectividad del sensor desarrollado. El experimento comenzó a las 12:00 a.m. y terminó a la misma hora del día siguiente, permitiendo la adquisición de 4 ciclos de medición por hora para un total de 96 mediciones cada 24 horas. Como fue anteriormente mencionado, cada ciclo de medición adquiere 64 muestras de cada sensor primario a una frecuencia de muestreo de 1 Hz para aplicar los filtros de decimación por promedio de orden 64 y los filtros LPF IIR de primer orden con $f_c = 1/3600$ Hz. Los datos pueden ser enviados a un servidor de datos para almacenamiento masivo vía la interface RS232 usando el transceptor Analog Devices ADM3232 (Analog Devices, 2008).

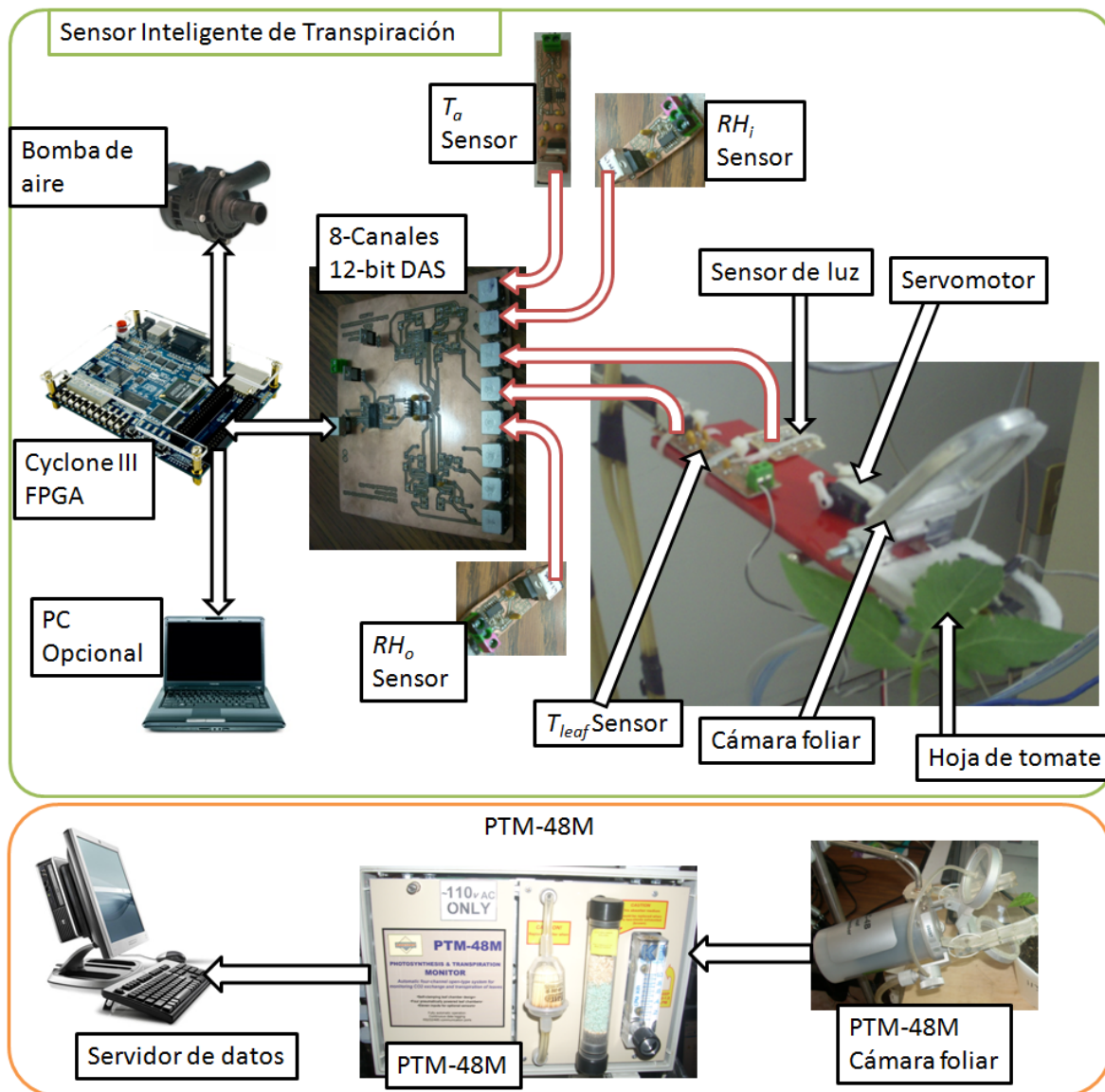


Figura 9. (a) Arreglo experimental del sensor inteligente de transpiración. (b) Arreglo experimental del PTM-48M.

III.12 Fitomonitorio como caracterización de resistencia a sequía en *Arabidopsis thaliana* mejorada genéticamente

Dado que la transpiración y la conductancia estomatal son consideradas como los principales indicadores de estrés hídrico en las plantas, es que se desarrolló el siguiente experimento, en el cual se realiza la caracterización de

respuesta al estrés hídrico de plantas de *Arabidopsis thaliana* modificadas genéticamente con genes de resistencia a sequía extraídos de semillas de *Capsicum annuum* L.

Posteriormente, se instaló un arreglo experimental para medir la dinámica de transpiración de las plantas *Arabidopsis thaliana* tanto silvestres (WT) como las modificadas genéticamente por la proteína LEA de *Capsicum annuum* L. (CALEA). En la Figura 10 se puede observar el arreglo experimental mencionado, donde las plantas están divididas en 4 clústeres. El primer ac corresponde a las plantas WT con irrigación adecuada y, por consiguiente, no estresadas; el segundo clúster bc son las plantas modificadas con CALEA bajo irrigación adecuada; mientras que los clústeres cc y dc fueron mantenidos sin irrigación por una semana para poder inducir estrés hídrico y diferentes respuestas de transpiración relacionadas con diversos fenómenos fisiológicos.

Para obtener la transpiración de las plantas bajo estudio se desarrolló un sistema de monitoreo de transpiración personalizado basado en el método de intercambio de gas. El sistema propuesto introduce un flujo volumétrico de aire de 1.0 lpm en una cámara de intercambio de gas de forma cilíndrica y de las dimensiones adecuadas para encerrar a la planta por completo dado el diminuto tamaño de la *Arabidopsis thaliana* como se muestra en Figura 10.

En cada cámara se colocaron dos sensores de temperatura y RH de tecnología de sistemas micro electro mecánicos (MEMS) modelo Sensirion SHT75 (Sensirion, 2009), con la finalidad de medir las propiedades del aire tanto a la entrada como a la salida de la cámara de intercambio de gas. Se conectaron dos de estos sensores en cada una de las cuatro cámaras de intercambio de gas más aparte un sensor en el exterior para medir el medio ambiente circundante al experimento, dando un total de nueve sensores cuyo tiempo de respuesta es de 320 ms manejados por un FPGA usando arquitectura paralela para hacer posible que se mantengan trabajando a una frecuencia de muestreo de 1 Hz, lo cual

hubiera sido imposible usando la arquitectura secuencial de un microcontrolador o una PC. La presión manométrica en la línea neumática de análisis se mantuvo constante a 0.1 MPa.

Debido a las capacidades de procesamiento en tiempo real del FPGA, cada sensor primario es sobremuestreado 64 veces para quedarse con una medición efectiva cada 15 minutos.

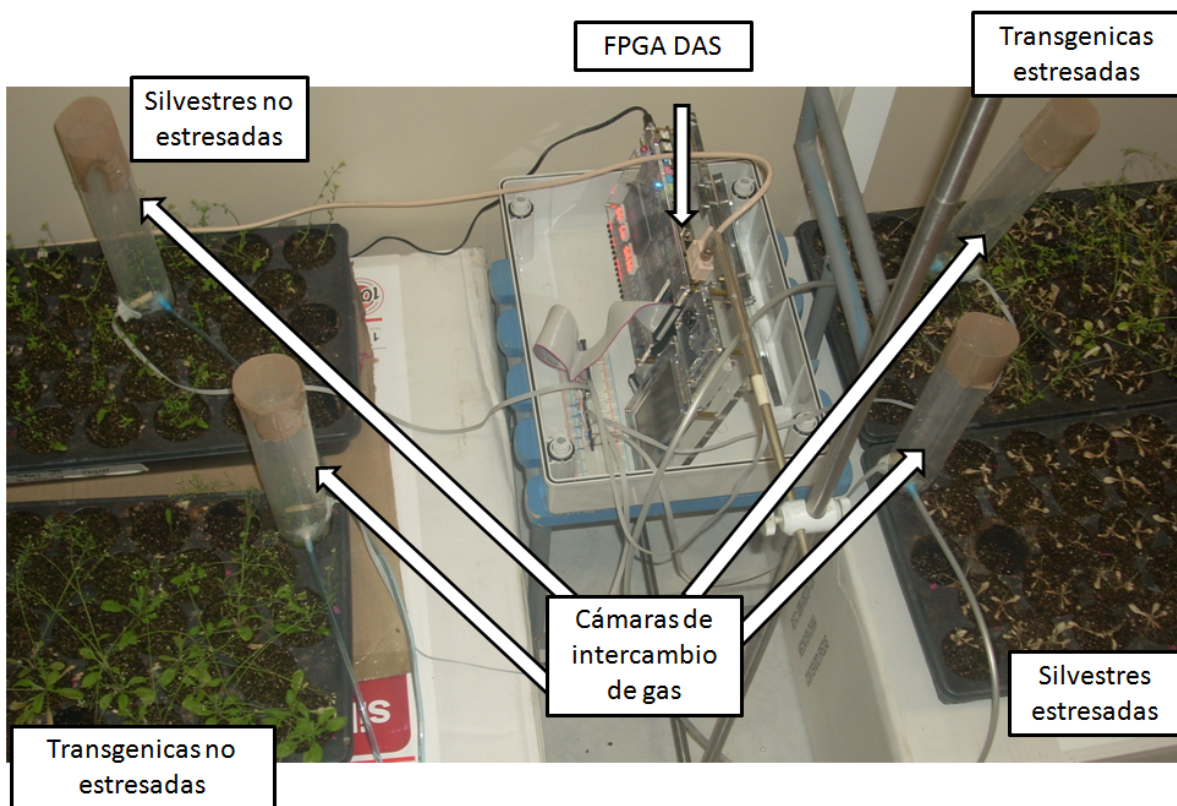


Figura 10. Arreglo experimental de monitoreo de transpiración en *Arabidopsis thaliana*.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

IV.1 Medición de sensores primarios

En esta sub-sección se presenta una comparación entre las mediciones de T_a y RH_i del sensor inteligente propuesto y el PTM-48M; la Figura 11 ilustra esta comparación, donde las señales azules corresponden a las mediciones del PTM-48M y las rojas a las mediciones primarias del sensor inteligente propuesto. Aquí se puede observar una tendencia de comportamiento similar en ambas señales pero una cantidad de ruido más baja en las señales rojas debido al filtrado de decimación por promedio de orden 64 y filtrado IIR aplicado a cada sensor primario, reduciendo así variaciones indeseables. De esta forma se pueden observar las ventajas del filtrado en el sensor inteligente. RH_o , T_{leaf} , y $Light$ no se comparan porque el PTM-48M no provee medición de la RH_o en la tabla de datos de salida y no tiene sensores de T_{leaf} , y $Light$.

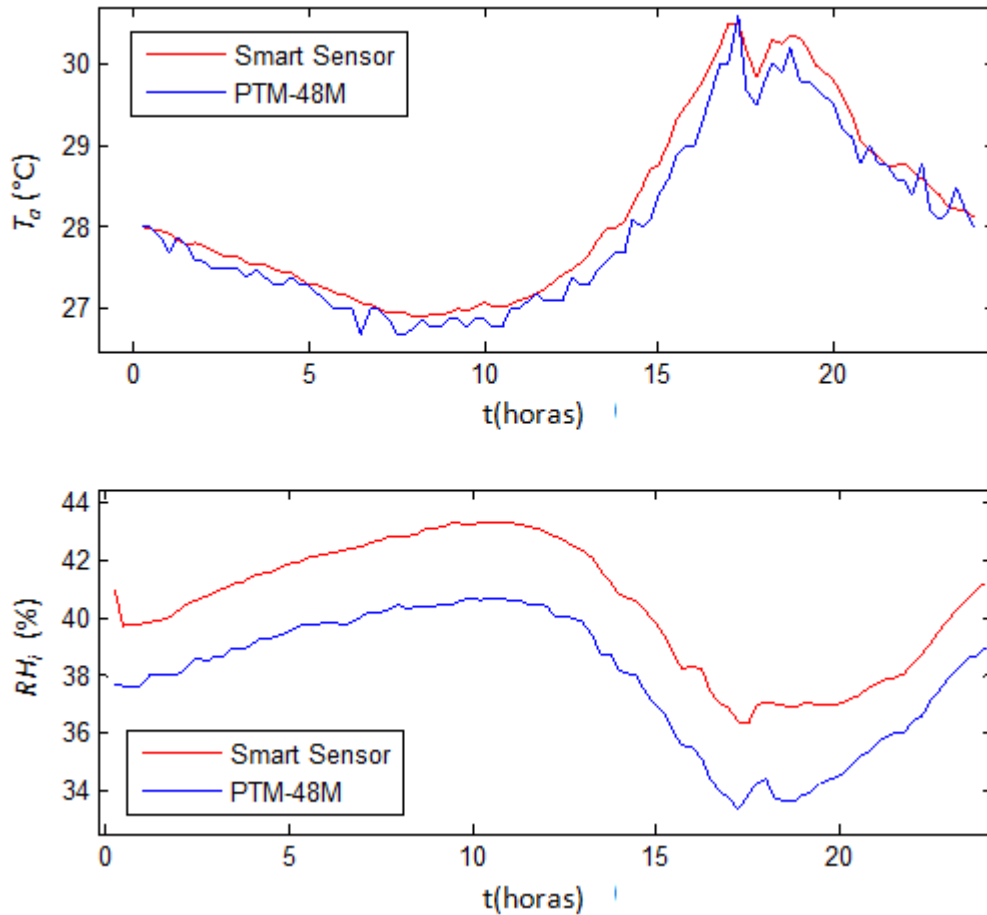


Figura 11. Comparación de señal en sensores primarios. Señales del sensor inteligente propuesto en rojo y señales del Phytech PTM-48M en azul.

IV.2 Estimación de transpiración

Esta sub-sección muestra una comparación entre la estimación de transpiración de este sensor inteligente y la referencia del PTM-48M. En la Figura 12 se puede observar esta comparación representando en color azul la señal de transpiración del PTM-48M y en rojo la del sensor inteligente. Aquí se puede observar que existe una tendencia de comportamiento similar en las señales de ambos equipos probando, de esta forma, una estimación de transpiración satisfactoria en el sensor inteligente desarrollado.

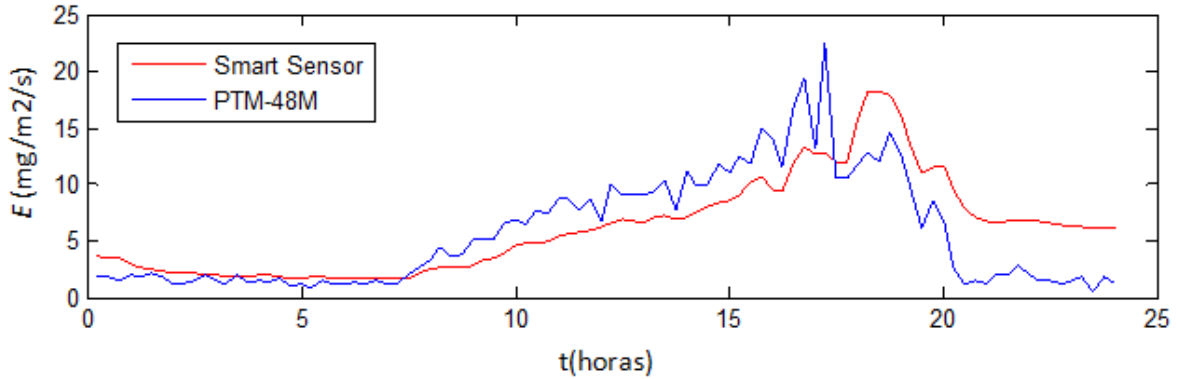


Figura 12. Comparación entre la estimación de transpiración en el sensor inteligente desarrollado y el PTM-48M.

IV.3 Dinámica de transpiración en sensor inteligente

El sensor inteligente propuesto fusiona las mediciones de T_a , T_{leaf} , RH_i , Rh_o y $Light$ en un solo dispositivo, lo cual resulta altamente deseable en aplicaciones de agricultura de precisión para monitorear diferentes factores ambientales que pueden afectar los cultivos. En la Figura 13 se presentan los resultados de monitoreo de los sensores primarios de este experimento. Todos los sensores están previamente sobremuestreados 64 veces y filtrados por los filtros IIR de primer orden, donde puede observarse que la cantidad de ruido en esas señales primarias es muy baja.

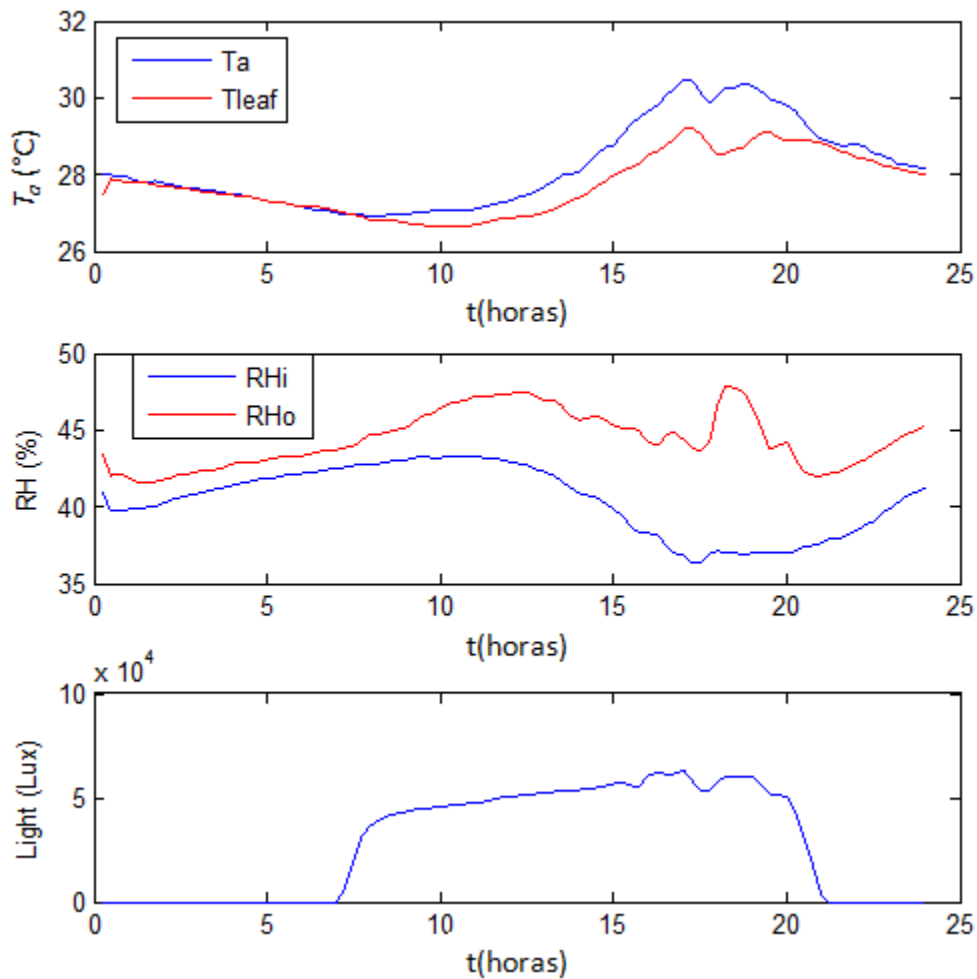


Figura 13. Señales de los sensores primarias_[EEO1] del sensor inteligente propuesto.

En la Figura 14 se pueden observar las variables de respuesta correspondientes a la dinámica de transpiración como son E , C_{leaf} , $LATD$, y VPD . Esos parámetros comparten un comportamiento similar porque están relacionados con el proceso global de fotosíntesis y transpiración, lo cual involucra diferentes fenómenos. El cálculo de las ecuaciones de estas variables de respuesta es realizado como un sistema embebido gracias al uso de la arquitectura abierta y reconfigurabilidad del FPGA que permite implementar cualquier sistema digital como control de adquisición de datos, manejo de memoria, procesamiento digital de señales y comunicación de datos. El sensor desarrollado que fusiona la

medición de 6 sensores primarios puede medir las variables ambientales necesarias para calcular la dinámica de transpiración y permitir al usuario observar diversas mediciones primarias y de respuesta al mismo tiempo, así como la relación entre ellas. Lo anterior resulta muy útil en agricultura de precisión para detectar condiciones anormales. En contraste, los equipos comerciales (Phytech, 2005; PP Systems, 2008) pueden medir series de tiempo de transpiración; sin embargo, no pueden proveer las lecturas de todos los sensores primarios o en algunos casos no están equipados con los sensores necesarios. La unidad basada en FPGA permite mejorar las señales de los sensores primarios sobremuestreando y filtrando digitalmente que, consecuentemente, se refleja en una precisión superior y una reducción significativa de ruido en las señales de transpiración. La integración de dichos elementos permite, a su vez, que se puedan observar diferentes variables al mismo tiempo y utilizadas para tomar algunas acciones de control comunicando la información de transpiración con algún otro sistema por medio de la interface RS232 como, por ejemplo, con servidores de datos, controladores de irrigación o controladores climáticos gracias a las capacidades de procesamiento en línea y comunicación remota. Esto constituye una solución efectiva como sensor inteligente para monitoreo de variables de transpiración en agricultura de precisión usando un sólo dispositivo basado en FPGA.

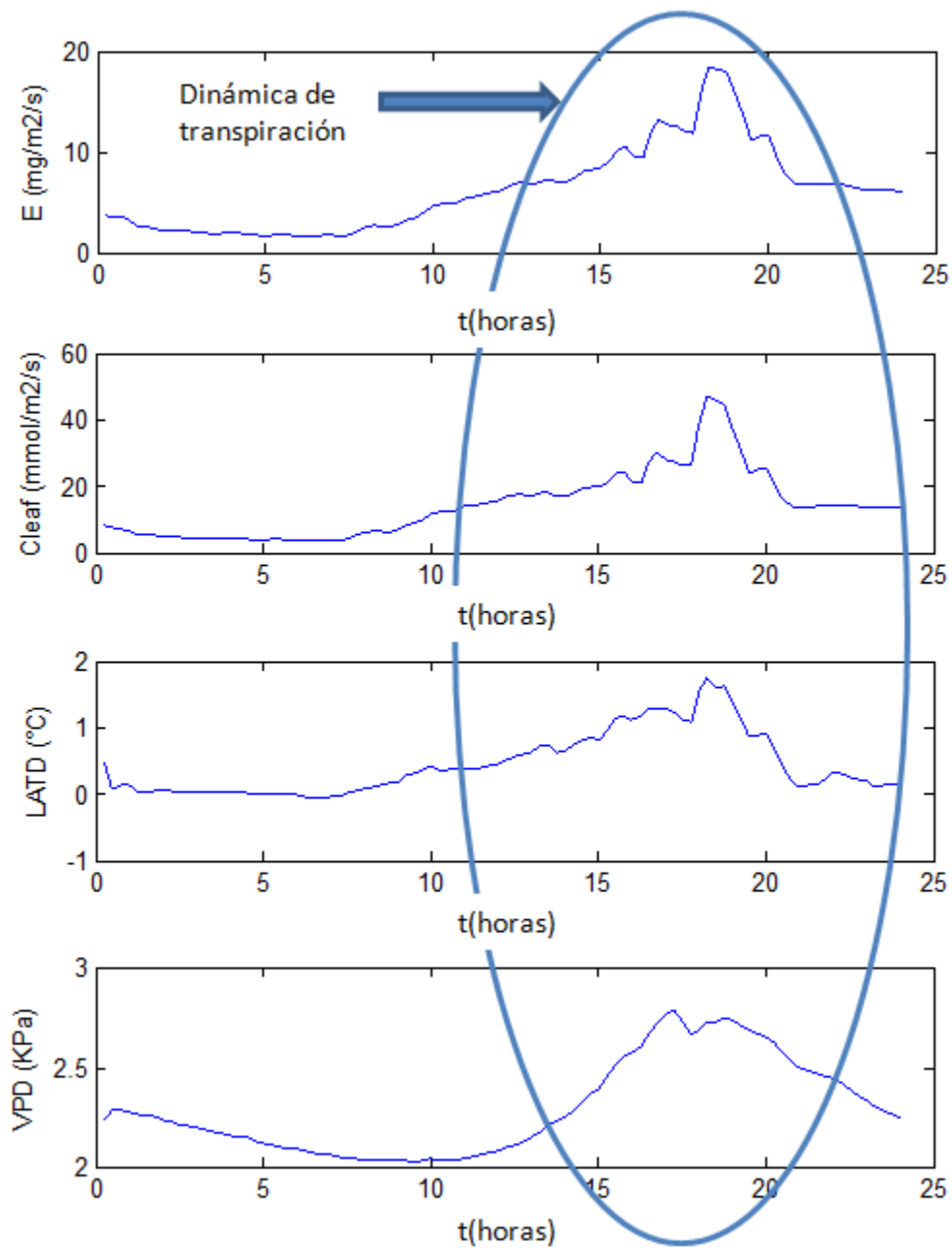
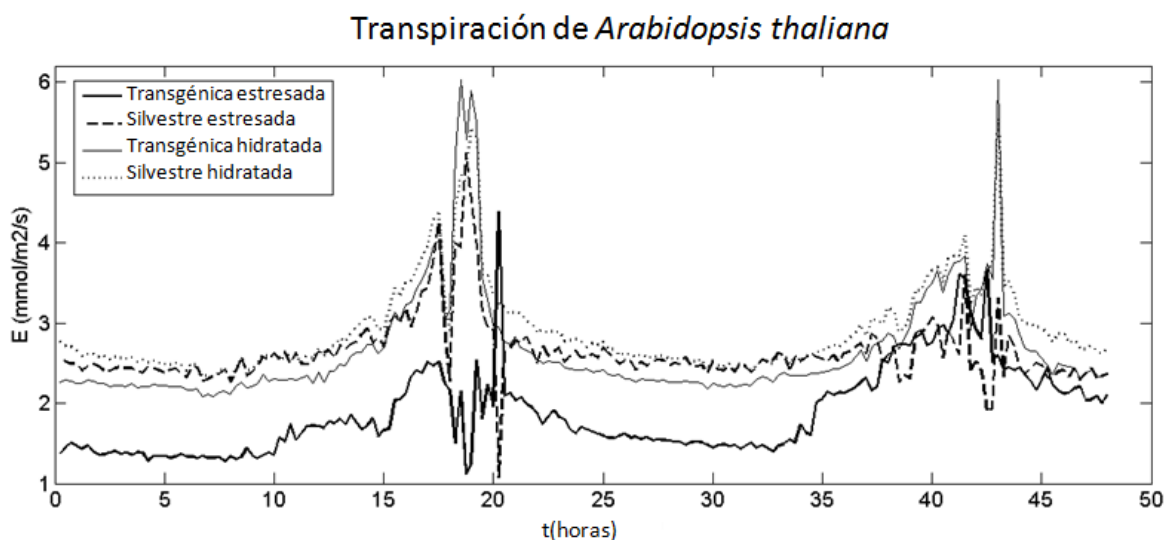


Figura 14. Resultados de dinámica de transpiración.

IV.4 Caracterización de *Arabidopsis thaliana*

El experimento anteriormente descrito se llevó a cabo con *Arabidopsis thaliana* y se obtuvieron los resultados que se pueden observar en la Figura 15, donde se puede notar que las plantas que no se encuentran bajo condiciones de estrés hídrico transpiran de manera normal, mientras que en el grupo de plantas bajo estrés se logra apreciar una diferencia efectiva en la cantidad de transpiración llevada a cabo, lo cual nos muestra que las plantas modificadas genéticamente pueden reducir considerablemente su transpiración para sobrevivir a la sequía. Es importante mencionar que inicialmente se realizó una prueba bioquímica de determinación de prolina, ésta es un aminoácido que se hace presente en mayor cantidad cuando las plantas se encuentran en sequía; sin embargo, no se apreciaron diferencias entre las plantas irrigadas y las estresadas. En cambio, la herramienta de fitomonitorio desarrollada demostró ser efectiva para explicar el fenómeno de resistencia a sequía, presentado en las plantas mejoradas genéticamente.



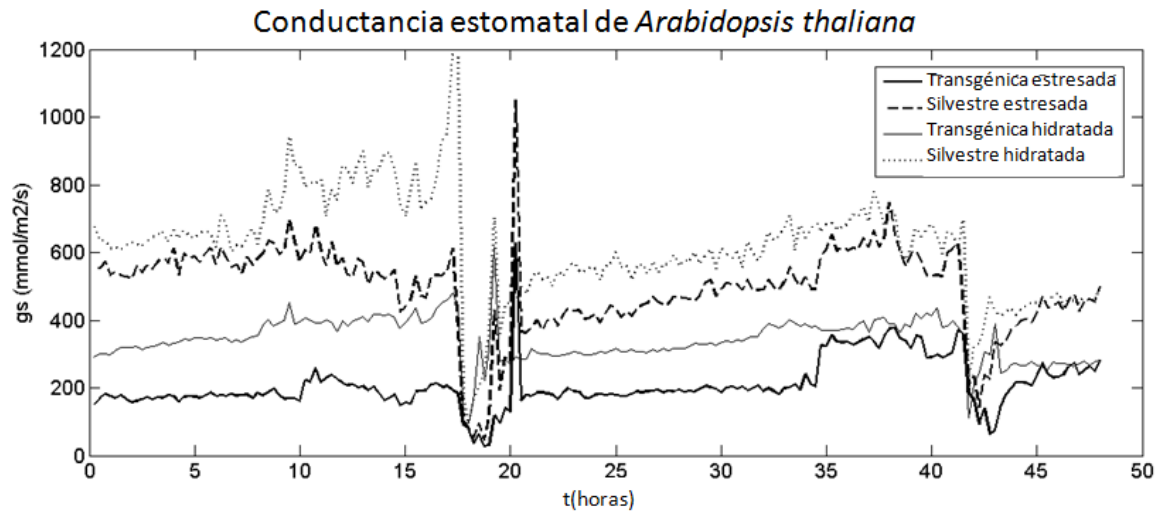


Figura 15. Resultados de caracterización de resistencia a sequía en *Arabidopsis thaliana*.

V. CONCLUSIONES

En este trabajo, es presentado el desarrollo de un nuevo sistema de fitomonitorio capaz de estimar variables de dinámica de transpiración en plantas como transpiración, conductancia estomatal y diferencia de temperatura hoja-aire, así como la actividad fotosintética basada en el método de intercambio de gas en tiempo real.

Este sensor inteligente fusiona la medición de diversos sensores primarios de variables como temperatura, RH, luz y CO₂ para la obtención de dichas variables de respuesta. Para probar la efectividad de la metodología y tecnología desarrollada se establece una comparación con un sistema de fitomonitorio comercial Phytech PTM-48M. Los resultados muestran que el sistema desarrollado es capaz de obtener un comportamiento muy similar al sistema comercial, inclusive con menos ruido causado por el filtrado digital y aplicado a la medición de los sensores primarios. Las variables de dinámica de transpiración son calculadas en tiempo real basándose en las lecturas de los sensores primarios, esto muestra información muy útil para la agricultura de precisión relacionada con diversos procesos fisiológicos dentro de la planta como la transpiración, que es de suma importancia en la programación del riego, prevención de enfermedades y detección de condiciones de sequía o la fotosíntesis que permite estimar la cantidad de biomasa que está siendo producida por la planta.

Los cálculos necesarios para la estimación de estas variables de respuesta son realizados en una plataforma basada en un FPGA de bajo costo en el cual se utiliza arquitectura paralela para la implementación de las unidades de procesamiento específico. Esto permite integrar la comunicación inalámbrica de datos, manejo de memoria, adquisición y procesamiento de señal en un solo sensor embebido que puede ser usado para monitoreo fisiológico de todo tipo de plantas para la determinación o caracterización de diversos fenómenos relacionados con transpiración y fotosíntesis, así como las relaciones entre ellas.

De esta manera, se establece una nueva plataforma de monitoreo de plantas capaz de determinar en tiempo real condiciones de estrés y el estado fisiológico en general del cultivo que permita reducir pérdidas y entender de una mejor manera los fenómenos físicos, químicos y biológicos que ocurran dentro de las plantas.

LITERATURA CITADA

- Abrahamsen, P., and S. Hansen 2002. Daisy: an open soil-crop-atmosphere system model. *Environ. Software Modelling*. 15: 313-330.
- Agrios, G. N. 2005. *Plant Pathology*. Fifth Edition, Elsevier Academic Press, London, UK.
- Ahuja, L. R., L. Ma and T. A. Howell. 2002. *Agricultural System Models in Field Research and Technology Transfer*. CRC Press LLC.
- Allen, J. F., and J. Forsberg. 2001 Molecular recognition in thylakoid structure and function. *Trends Plant Sci*. 6: 317–326.
- Altera Corporation. 2010. Cyclone II FPGA Family Datasheet.
- Analog Devices Inc. 2008. ADM3232 Data Sheet. Analog Devices Inc: Norwood, MA, USA.
- Asociación Mexicana de Productores Hortícolas bajo Invernadero (AMPHI). 2008.
- Axelsson, L. 1988. Changes in pH as a measure of photosynthesis by marine macroalgae. *Marine Biol*. 97: 287-294.
- Bakker, J. C., 2001. *Greenhouse Climate Control: An Integrated Approach*. Purdue University Press.
- Balch, M. 2003. *Complete Digital Design, a comprehensive guide to digital electronics and computer system architecture*. s.l. : McGraw-Hill.
- Bassow, S. L., and F. A. Bazzaz. 1998. How environmental conditions affect canopy leaf-level photosynthesis in four deciduous tree species. *Ecology*. 79(8): 2660-2675.
- Bastida-Tapia, A. 2006. *Manejo y Operación de Invernaderos Agrícolas*. Universidad Autónoma de Chapingo.
- Biswas, D. K., M. M. Haque, A. Hamid, and M. A. Rahman. 2001. Photosynthetic Gas Exchange Characteristics, Leaf Area and Dry Matter Accumulation of two Blackgram Cultivars. *On-line journal of Biological Sciences*. 1(10): 951-954.
- Bittelli, M. 2010. Measuring soil water potential for water management in agriculture: A review. *Sustainability*. 2: 1226-1251.

- Bolens, L. 1997. Agriculture in Encyclopedia of the history of Science, technology, and Medicine in Non Western Cultures. Editor: Helaine Selin. Kluwer Academic Publishers: 20-2.
- Burr Brown Corporation. 2003. ADS7844 Data Sheet
- Calvin, M., and J. A. Bassham. 1962. The photosynthesis of carbon compounds. W. A. Benjamin.
- Chen, C. 2006. In Situ measurement of microclimate for the plantlets cultured In Vitro. Biosyst. Eng. 95(3): 413-423.
- Cohen, Y., M. Fuchs, and G. C. Green. 1981. Improvement of the heat pulse method for determining sap flow in trees. Plant, Cell and Environment 4:391-397
- Collinson, M. A. 2000. History of Farming Systems Research. CABI Publishing, . ISBN 0-85199-405-9.
- Contreras-Medina, L. M., I. Torres-Pacheco¹, R. G. Guevara-González, R. J. Romero-Troncoso, I. R. Terol-Villalobos, and R. A. Osornio-Rios. 2009. Mathematical modeling tendencies in plant pathology. African Journal of Biotechnology.
- Cunningham, A. S. 2000. Crystal palaces : garden conservatories of the United States Princeton Architectural Press, New York, ISBN 1-56898-242-9.
- Deitel, P. J., and M. H. Deitel. 2008. Como programar en Java. México: Pearson Educación.
- Deleiu, T., and D. A. Walker 1972. An improved cathode for the measurements of photosynthetic oxygen evolution by isolated chloroplasts. New Phytol. 89: 165-175.
- Ehler, N. 1991. An autocalibrating model for simulating and measuring net canopy photosynthesis using a standard greenhouse climate.
- FAO. 2010. Food and Agriculture Organization. [En línea] <http://www.fao.org/docrep/008/a0015s/a0015s04.htm>
- Fedack, V., O. Kytaev, P. Klochan, V. Romanov, and I. Voytovych. 2005. Portable chlorofluorometer for express-diagnostics of photosynthesis. IEEE Workshop on Intelligent Data Acquisition and Advanced Computing Systems: Technology and Applications 5-7 September 2005, Sofia, Bulgaria. 1: 287-288.

- Field, C. B., J. T. Ball, and J. A. Berry. 1991. *Photosynthesis: Principles and Field Techniques*. *Plant Physiological Ecology: Field Methods and Instrumentation*; Chapman and Hall: London, UK. 209-253.
- García-Moreno, E. 1999. *Automatización de Procesos Industriales*. Valencia : Universidad Politecnica de Valencia.
- Geider, R. J., and B. A. Osborne. 1989. Respiration and microalgal growth: a review of the quantitative relationship between dark respiration and growth. *New Phytol.* 112(3): 327-341.
- Hanstein, S., D., De Beer, and H. H. Felle. 2001. Miniaturised carbon dioxide sensor for measurements within plant leaves. *Sensors and Actuators B.* 81: 107-114.
- Hashimoto, Y. 1989. Recent Strategies for Optimal Growth Regulation by the Speaking Plant Concept. *Acta Horticulturae* 260: 115-121.
- Hermund, J. P. 2004. Photosynthesis of seagrasses observed In Situ from acoustic measurements. *OCEANS '04. Mts./IEEE Technol. Ocean.* 1: 433-437.
- Hill, D. W., and T. Powell. 1968. *Non-dispersive Infrared Gas Analysis in Science, Medicine and Industry.*, Adam Hilger Ltd, London.
- Hodson, M. J., P. J. White, A. Mead, and M. R. Broadley 2005. Phylogenetic variation in the silicon composition of plants. *Ann. Bot.* 96(6): 1027.
- Honeywell. 2010a. HEL-700 Pt1000 RTD Sensor Data Sheet.
- Honeywell. 2010b. HIH-4000 RH Sensor Data Sheet.
- Hubbard, R. M., M. G. Ryan, V. Stiller, J. S. Sperry. 2001. Stomatal conductance and photosynthesis vary linearly with plant hydraulic conductance in ponderosa pine. *Plant Cell Environ.* 24: 113-121.
- Hunt, S. 2003. Measurements of photosynthesis and respiration in plants. *Physiol. Plant.* 117: 314-325.
- Irvine J. E. 1967. Photosynthesis in sugarcane varieties under field conditions. *Crop Sci* 7: 297–300.
- Jespersen, A. M. 1994. Comparison of 14 CO₂ and 12 CO₂ uptake and release rates in laboratory cultures of phytoplankton. *Oikos*, 69(3): 460-468.
- Kamp, P. G. H. 1996. *Computerized Enviromental Control in Greenhouses*. IPC Plant Ede.

- Karlberg, L., A. Ben-Gal, P. E. Jansson, and U. Shani. 2006. Modelling transpiration and growth in salinity-stressed tomato under different climatic conditions. *Ecological Modelling*, 190: 15-40.
- Kawachi, N., K. Sakamoto, S. Ishii, S. Fujimaki, N. Suzui, N. S. Ishioka, and S. Matsuhashi. 2006. Kinetic analysis of carbon-11-labeled carbon dioxide for studying photosynthesis in a leaf using positron emitting tracer imaging system. *IEEE Trans. Nuclear Sci.* 53(5): 2991-2997.
- Kitaya, Y., J. Tsuruyama, M. Kawai, T. Shibuya, and M. Kiyota. 2000. Effects of air current on transpiration and net photosynthetic rates of plants in a closed plant production system. *Transplant Production in the 21st Century*, Kluwer Academic Publishers.
- Kopyt, M., Y. Ton, and Z. Ben-Ner. 2001. A Trial of the Phytomonitoring Technique for Roses. *Acta Horticulturae* 547: 205-212.
- Lichtenthaler, H. K., G. Langsdorf, S. Lenk, and C. Buschmann. 2005. Chlorophyll fluorescence imaging of photosynthetic activity with the flash-lamp fluorescence imaging system. *Photosynthetica*. 43(3): 355-369.
- LI-COR Inc. 2007. LI-6400XT Portable Photosynthesis System Brochure.
- Long, S. P. 1990. Applications of chlorophyll II fluorescence in photosynthesis research, stress physiology, hydrobiology and remote sensing. by HK Lichtenthaler. *J. Appl. Ecol.* 27(2): 764-765.
- Long, S. P., and C. J. Bernacchi. 2003. Gas exchange measurements, what can they tell us about the underlying limitations to photosynthesis? Procedures and sources of error. *J. Exp. Bot.* 54(392): 2393-2401.
- Ludwig, L. J., and D. Canvin. 1971. An open gas exchange system for the simultaneous measurement of the CO₂ and ¹⁴CO₂ fluxes from leaves. *Can. J. Bot.* 49: 1299-1313.
- Lupton, F. G. H. 1967. The supply of carbohydrate to the grain in wheat. *Isotopes in plant nutrition and physiology*. International Atomic Energy Agency, Vienna. 1: 575-578.
- Mazanti-Hansen, J., and N. Ehler. 1998. The Plants-On-Line-Box: A Tool for Future Crop Management: System Concepts, Design and User Interface. *Acta Horticulturae* 421: 137-144.
- Millan-Almaraz, J. R., R. G. Guevara-González, R. J. Romero-Troncoso, R. A. Osornio-Rios, and I. Torres-Pacheco. 2009. Advantages and

Disadvantages on Photosynthesis Measurement Techniques: A Review. African Journal of Biotechnology.

Millan-Almaraz, J. R., R. J. Romero-Troncoso, R. G. Guevara-Gonzalez, L. M. Contreras-Medina, R. V. Carrillo-Serrano, R. A. Osornio-Rios, C. Duarte-Galvan, M. A. Rios-Alcaraz, and I. Torres-Pacheco. 2010. FPGA-based Fused Smart Sensor for Real-Time Plant-Transpiration Dynamic Estimation. *Sensors*. 10, 8316-8331.

Olioso, A, H. Chauki, J. P. Wigneron, K. Bergaoui, P. Bertuzzi, A. Chanzy, P. Bessemoulin, and J. C. Clavet. 1999. Estimation of energy fluxes from thermal infrared, spectral reflectances, microwave data and SVAT modeling. *Phys. and Chem. of the Earth, Part B*. 24(7): 829-836.

OSRAM Opto Semiconductors Inc. 2007. SFH-5711 Data Sheet.

Palva, L., E. Garam, E. Siivola, R. Sepponen and P. Hari. 1998. Quantifying spatial variability of photosynthetically active radiation within canopies using a multipoint measuring system. *Agricultural and Forest Meteorology* 92: 163-171.

Peterson, R. B. 1990. Effects of irradiance on the In Vivo CO₂:O₂ specificity factor in tobacco using simultaneous gas exchange and fluorescence techniques. *Plant Physiol*. 94(3): 892-898.

Phytech Inc. 2005. PTM-48M Photosynthesis Monitor Operating Instructions.

Pons, T. L., R. A. M. Welschen. 2002. Overestimation of respiration rates in commercially available lamp-on leaf chambers. Complications with measurement of net photosynthesis. *Plant Cell Environ*. 25: 1367- 1372.

PP Systems Inc. 2008. CIRAS-2 Portable Photosynthesis System Brochure.

RAE. 2007. Diccionario de la Real Academia Española. www.rae.es/rae.html.

Rangel-Magdaleno, J. J., R. J. Romero-Troncoso, R. A. Osornio-Rios, and E. Cabal-Yeppez. 2009. Novel oversampling technique for improving signal-to-quantization noise ratio on accelerometer-based smart jerk sensors in CNC applications. *Sensors*. 9: 3767-3789.

Rodriguez-Donate, C., L. Morales-Velazquez, R. A. Osornio-Rios, G. Herrera-Ruiz, and R. J. Romero-Troncoso. 2010. FPGA-Based fused smart sensor for dynamic and vibration parameter extraction in industrial robot links. *Sensors*. 10: 4114-4129.

- Romero-Troncoso, R. de J. 2007. *Electrónica Digital y Lógica Programable*. 1ra. edición. Ed. Universidad de Guanajuato. ISBN: 968-864-449-8.
- Salisbury, F. B., and C. W. Ross. 1992. *Plant Physiology*. 4th ed. Wadsworth Inc. ISBN 0-534-15162-0: 207-288.
- Schmalzlin, E., J. T. Van Dongen, I. Klimant, B. Marmodeé, M. Steuo, J. Fisahn, P. Geigenberger, and H. G. Lohmannsroben. 2005. An optical multifrequency phase-modulation method using microbeads for measuring intracellular oxygen concentrations in plants. *Biophys. J.* 89: 1339-1345.
- Schmidt, U. 2005. Microclimate Control in Greenhouses Based on Phytomonitoring Data and Mollier Phase Diagram. *Acta Horticulturae* 691: 125-132.
- Schulze, E. D. 1972. A new type of climatized gas exchange chamber for net photosynthesis and transpiration measurements in the field.
- Sensirion Inc. 2009. Datasheet SHT7X (SHT71, SHT75) Humidity and Temperature Sensor.
- Sulaiman, N., Z. A. Obaid, M. H. Marhaban, and M. N. Hamidon. 2009. Design and Implementation of FPGA-Based Systems - A Review. *Malasia. Journal: Australian Journal of Basic and Applied Sciences*.
- Taiz, L., and E. Zeiger. 2006. *Plant Physiology* 3rd. ed. Sinauer Associates. ISBN 0-87893-823-0: 111-192.
- Takahashi, M., T. Ishiji, and N. Kawashima. 2001. Hand made oxygen and carbon dioxide sensors for monitoring the photosynthesis process as instruction material for science education. *Sensors Actuators B.* 77: 237-243.
- Talling, J. F. 1973. The application of some electrochemical methods to the measurement of photosynthesis and respiration in fresh waters. *Freshwater. Biol.* 3: 335-362.
- Tchan, Y.T., A. C. M. Chiou, P. B. New, and G. R. Funnell. 1977. The Photobioluminometer, an instrument for the study of ecological factors affecting photosynthesis. *Microb. Ecol.* 3(4): 327-332.
- Tian, Y., Y. Zhu, and W. Cao. 2005. Monitoring leaf photosynthesis with canopy spectral reflectance in rice. *Photosynthetica*, 43 (4): 481-489.
- Ton, Y. 1997. Phytomonitoring System. 4th Internacional Congress on New Agricultural Technologies, April 16-19 Puerto Vallarta, Jalisco, México.

- Ton, Y., and M. Kopyt. 2003a. Phytomonitoring: A Bridge from Sensors to Information Technology for Greenhouse Control. *Acta Horticulturae* 614: 639-644.
- Ton, Y., and M. Kopyt. 2003b. Phytomonitoring in Irrigation Scheduling of Horticulture Crops. 4-th International Symposium on Irrigation of Horticultural Crops. September 1-6, 2003. Davis, California, USA.
- Ton, Y., and M. Kopyt. 2003c. Phytomonitoring Information and Decisión-Support System for Crop Growing. Proc. 2-nd ISIITA Ed. Zhao Chunjiang. Beijing.
- Ton, Y., N. Nilov, and M. Kopyt. 2001. Phytomonitoring: the New Information Technology for Improving Crop Production. *Acta Horticulturae* 562: 257-262.
- Trejo-Hernandez, M., R. A. Osornio-Rios, R. J. Romero-Troncoso, C. Rodriguez-Donate, A. Dominguez-Gonzalez, and G. Herrera-Ruiz. 2010. FPGA-based fused Smart-sensor for Tool-wear area quantitative estimation in CNC machine inserts. *Sensors*. 10: 3373-3388.
- Villeza, K., K. Steppec, and J. W. Dirk. 2009. Use of Unfold PCA for on-line plant stress monitoring and sensor failure detection. *Biosystems Engineering*. 23–34.
- Wang, C., D. Xing, and Q. Chen. 2004. A novel method for measuring photosynthesis using delayed fluorescence of chloroplast, *Biosensors and Bioelectronics* 20: 454–459.
- Wang, J., D. Xing, L. Zhang, and L. Jia. 2007. A new principle photosynthesis capacity biosensor based on quantitative measurement of delayed fluorescence *in vivo*. *Biosensors and Bioelectronics*. 22: 2861–2868.
- Warburg, O. 1919a. About the speed of the photochemical decomposition of carbon acid in living cells *Biochem. Z.* 100: 230-270.
- Williams, M. L., and A. H. Cobb. 1985. Effect of irradiance and light quality on starch synthesis by isolated chloroplasts of *codium fragile*. *New Phytol.* 101(1): 79-88.
- Woods, M. 1988. *Glass houses: history of greenhouses, orangeries and conservatories*. Aurum Press, London, ISBN 0-906053-85-4.

APÉNDICE

Figura A.1. Sistema de acondicionamiento de señal para un sensor RTD Pt1000.

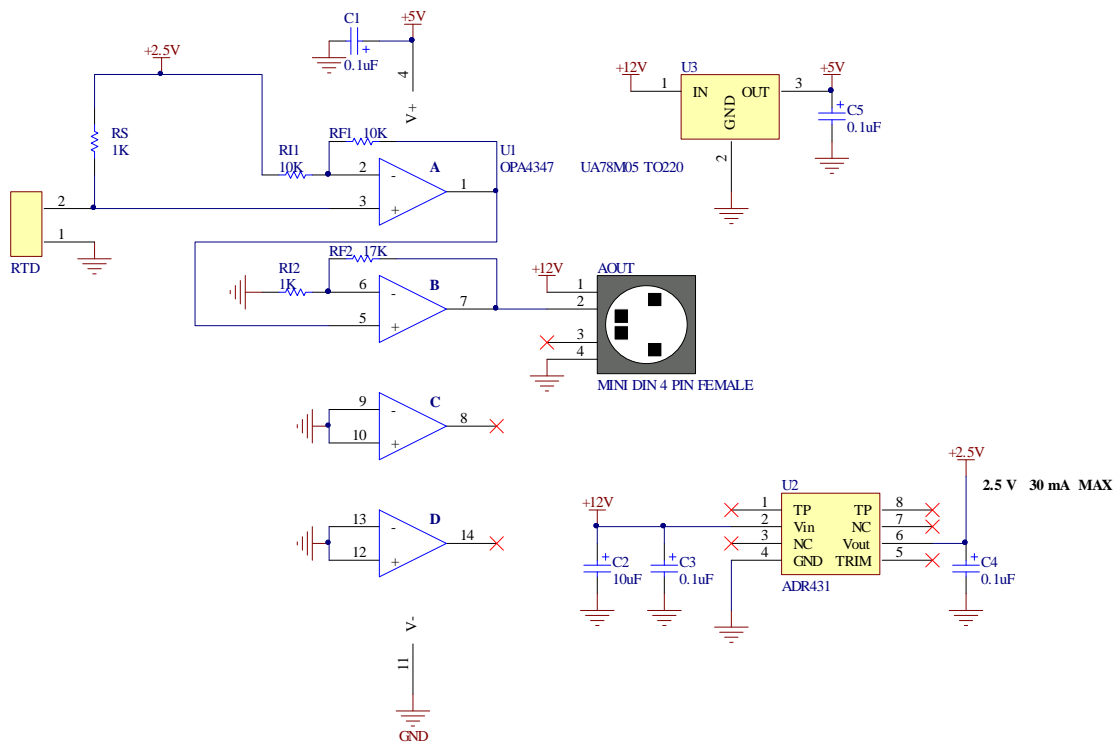


Figura A.2. Sistema de acondicionamiento de señal para un sensor HIH-4000.

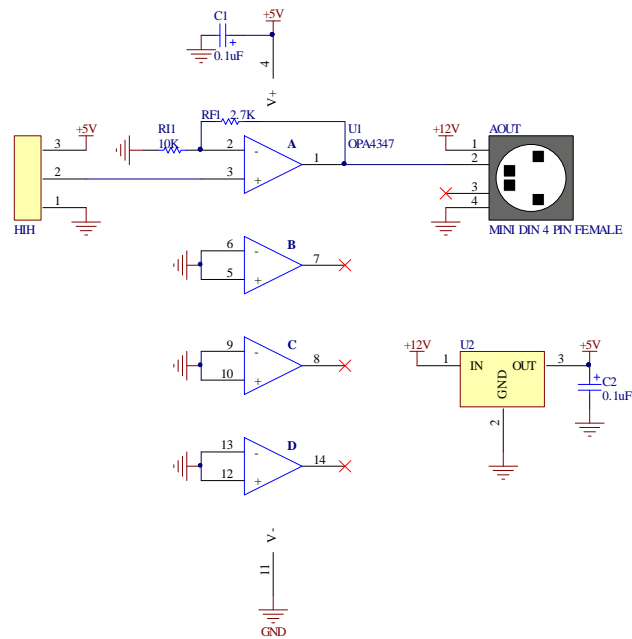
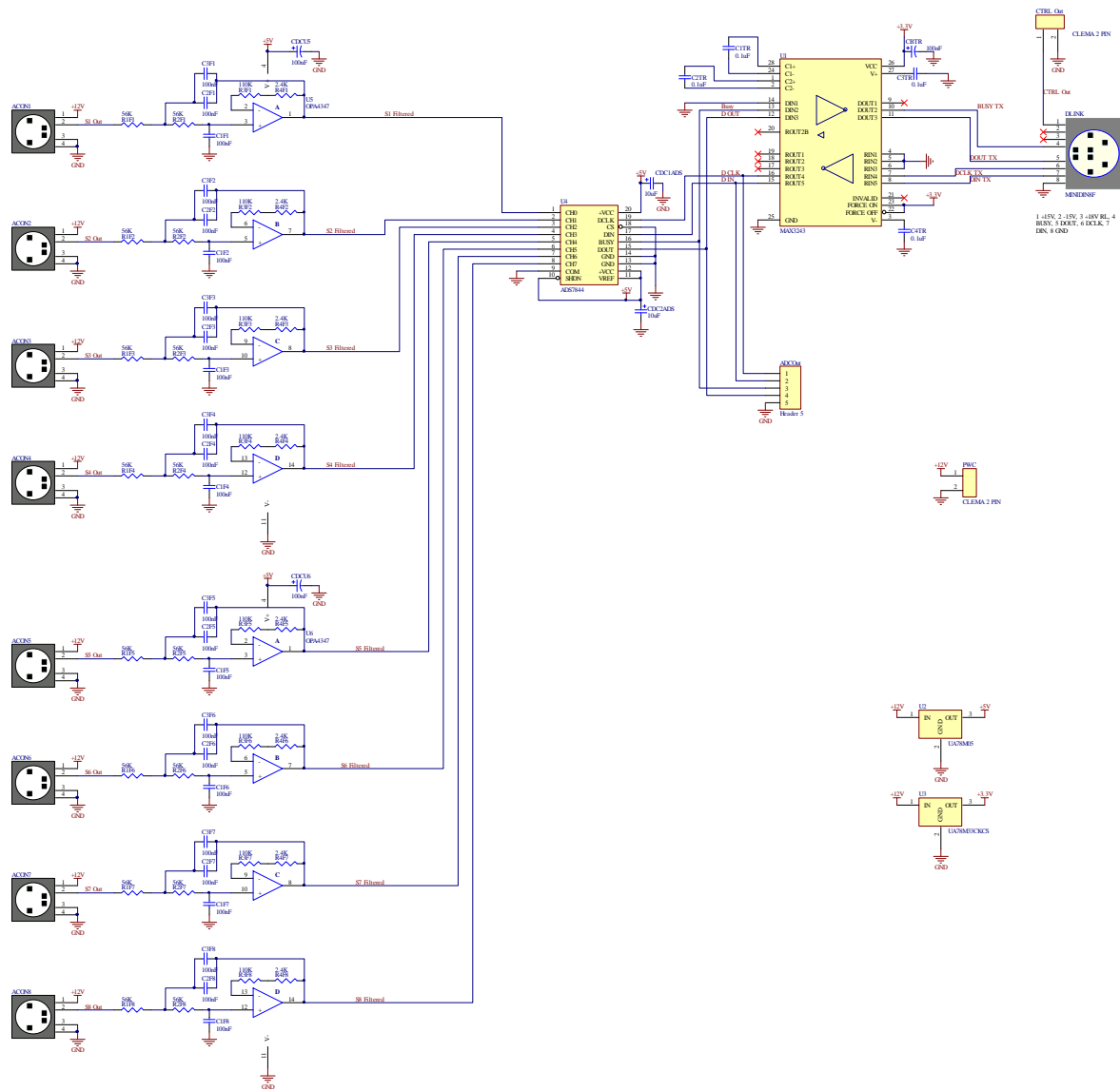


Figura A.3. Sistema de adquisición de datos de 12-bits, 8 canales y filtro anti-alias de $f_c=20\text{Hz}$.



Cuadro A. 1. Código fuente de la implementación en VHDL del núcleo de propiedad intelectual del fitomonitor.

Top Entity

-
- Photosynthesis Smart Sensor CORE
 - M. I. Jesus Roberto Millan Almaraz


```

-- Ph D. Thesis (SHT75 Driver)
-- i Sinsor Technology
-----

library IEEE;
use IEEE.std_logic_1164.all;

entity PN_SS_V1 is
    port(
        RST,CLK: in std_logic;           -- Master reset and
    clock

        STPNSS: in std_logic;           -- Start DAS Unit

-- Instrumentation
--
        SHT_SCK: out std_logic; --Sensirion SHT7X I2C SCK
        SHT_SDA: inout std_logic; --Sensirion SHT7X I2C SDA
--
        ADS_SCLK: out std_logic; --ADS784X Serial clock
        ADS_DIN: out std_logic; --ADS784X Data in
        ADS_BUSY: in std_logic; --ADS784X Busy
        ADS_DOUT: in std_logic; --ADS784X Data out
--
        PUMP: out std_logic; --Air pump
        EVREF: out std_logic; --Reference Valve
        EVLEAF: out std_logic; --Leaf Valve
        LCSERVO: out std_logic; --Leaf chamber servomotor
--
--Communication
        TXD: out std_logic; --UART TXD pin

--LCD

        RS: out std_logic; --Terminal de control LCD_RS dato o instruccion
        EN: out std_logic; --Terminal de control LCD Enable
        RW: out std_logic; --Terminal de lectura escritura de LCD
        BKLO: out std_logic; --Terminal de control de lampara de LCD salida

```

```

DION: out std_logic;
DAT: out std_logic_vector(7 downto 0); --Bus de datos e instrucciones para LCD

--Debug
DAS_STATUS: out std_logic_vector(4 downto 0);
TX_STATUS: out std_logic_vector(2 downto 0);
-- Optional for training only
KPUMP: in std_logic; --Pump manual activation
POSITION: in std_logic; --Servo manual activation
KEVREF: in std_logic; --EV Reference manual activation
KEVLEAF: in std_logic; --EV LC manual activation
--End
EOPNSS: out std_logic --End of DAS unit
);
end PN_SS_V1;

```

architecture modular of PN_SS_V1 is

```

--Pn SS FSM
component PNSS_FSM
port(
RST: in std_logic; --Master Reset
CLK: in std_logic; --Master Clock

STPNSS: in std_logic; -- Start Sensor
EODAS: in std_logic; -- End of DAS Unit
EOPKTX: in std_logic; -- End of Packet transmitter
TIM: in std_logic; -- Timer flag

STDAS: out std_logic; -- Start DAS
STPKTX: out std_logic; -- Start Packet transmitter
CLRTIM: out std_logic; -- Clear timer
KTIM: out std_logic_vector(1 downto 0); -- Timer delay selector
MSG: out std_logic_vector(1 downto 0); -- LCD 16x2 Text message

STATUS: out std_logic_vector(2 downto 0); -- Present state report

TOPPUMP: out std_logic; --Pump FSM control

```

```

        TOPLCSERVO: out std_logic; --Servo FSM control
        EOPNSS: out std_logic -- End of DAS Unit
    );
end component;

-- Pn DAS Unit
component PN_DASUNIT
    port(
        RST,CLK: in std_logic;           -- Master reset and
clock
        STDAS: in std_logic;             -- Start DAS Unit
        STATUS: out std_logic_vector(4 downto 0); -- FSM Status report
        --
        RAMDIN: out std_logic_vector(15 downto 0); -- RAM Data in
        RAMWADD: out std_logic_vector(2 downto 0); -- RAM Write address
        RAMWE: out std_logic;           -- RAM
Write enable
        --
        SHT_SCK: out std_logic; --Sensirion SHT7X I2C SCK
        SHT_SDA: inout std_logic; --Sensirion SHT7X I2C SDA
        --
        ADS_SCLK: out std_logic; --ADS784X Serial clock
        ADS_DIN: out std_logic; --ADS784X Data in
        ADS_BUSY: in std_logic; --ADS784X Busy
        ADS_DOUT: in std_logic; --ADS784X Data out
        --
        PUMP: out std_logic; --Air pump
        EVREF: out std_logic; --Reference Valve
        EVLEAF: out std_logic; --Leaf Valve
        LCSERVO: out std_logic; --Leaf chamber servomotor
        --
        POSITION: in std_logic; --Servo position
        EODAS: out std_logic --End of DAS unit
    );
end component;

-- Pn SS Block RAM
component ram_infer

```

```

        generic(
            n: integer := 8;  -- No de datos
            m: integer := 16; -- ancho de la palabra
            p: integer := 3   -- ancho del bus de direcciones
        );
    PORT
    (
        RAM_CKA:  in std_logic;
        RAM_CKB:  in std_logic;

        RAM_DWR: in std_logic_vector (m-1 downto 0);
        RAM_ADA: in  std_logic_vector (p-1 downto 0);
        RAM_ADB: in std_logic_vector (p-1 downto 0);
        RAM_WRE: in std_logic;
        RAM_RDA: out std_logic_vector (m-1 downto 0)
    );
END component;

-- RAM to UART unit
component PKTX_CORE
port(
    RST: in std_logic;           --Master reset
    CLK: in std_logic;          --Master clock
    STPKTX: in std_logic;       --Start packet transmission
    RAMDATA: in std_logic_vector(15 downto 0); --RAM data to be transmitted
    RAMRADD: out std_logic_vector(2 downto 0);  --RAM read address
    TXD: out std_logic;         --UART TXD pin
    STATUS: out std_logic_vector(2 downto 0);  --FSM status for debugging
    EOPKTX: out std_logic       --End of packet transmission
);
end component;

-- 36-bit timer
component TIMER_36Bit
    generic(
        n: integer :=36
    );
    port(
        RST,CLK: in std_logic;           --Master Reset and Clock

```

```

        CLR: in std_logic;                                --Zero Set
        KS: in std_logic_vector(1 downto 0);            --Counter time constant selector
        TB: out std_logic                                --Time Base Out
    );
end component;

-- MSG LCD
component MSG_LCD
    port(
        --Senales generales
        RST: in std_logic;                                --Reset maestro
        CLK: in std_logic;                                --Reloj maestro
        MSG: in std_logic_vector(1 downto 0);

        --Senales LCD
        BKLI: in std_logic;    --Terminal de control de lampara LCD entrada
        RS:  out std_logic;     --Terminal de control LCD_RS dato o instruccion
        EN:  out std_logic;     --Terminal de control LCD Enable
        RW:  out std_logic;     --Terminal de lectura escritura de LCD
        BKLO: out std_logic;    --Terminal de control de lampara de LCD salida
        DION: out std_logic;
        DAT: out std_logic_vector(7 downto 0) --Bus de datos e instrucciones para LCD
    );
end component;

-- One shot system
component ONE_SHOT
    port(
        RST: in std_logic;                                --Master Reset
        CLK: in std_logic;                                --Master Clock
        BUTTON: in std_logic; --Input button
        SHOT: out std_logic                                --One Shot Out
    );
end component;

component PWM_12B
    port(
        RST,CLK: in std_logic;                            --Master Reset and Clock

```

```

        PS: in std_logic_vector(11 downto 0);    --Position selector input
        PWM: out std_logic                      --Servomotor PWM output
    );
end component;

-- Signals
signal
STDAS,EODAS,RAMWE,STPKTX,EOPKTX,TIM,SHOT,S_SHT_SCK,S_ADS_SCLK,S_ADS_D
IN,S_LCSERVO,S_PUMP,S_EVREF,S_EVLEAF,
    S_TXD,S_EOPNSS,CLRTIM,LCD_RS,LCD_EN,LCD_RW,LCD_BKLO,LCD_DION:
std_logic;
signal S_DASSTATUS: std_logic_vector(4 downto 0);
signal RAMDIN,RAMDOUT: std_logic_vector(15 downto 0);
signal RAMWADD,RAMRADD,S_TXSTATUS,FSMSTATUS: std_logic_vector(2 downto 0);
signal KTIM,MSG: std_logic_vector(1 downto 0);
signal LCD_DAT:std_logic_vector(7 downto 0);
-- Testing only
signal SKPUMP,SKSERVO,SKEVREF,SKEVLEAF,SPUMPPWM: std_logic;
signal STOPPUMP,STOPLCSERVO: std_logic;

begin

-- Mapping
BLK1FSM:          PNSS_FSM          port          map
(RST,CLK,SHOT,EODAS,EOPKTX,TIM,STDAS,STPKTX,CLRTIM,KTIM,MSG,FSMSTATUS,
STOPPUMP,STOPLCSERVO,S_EOPNSS);

-- Testing
BLK2DAS:          PN_DASUNIT        port          map
(RST,CLK,STDAS,S_DASSTATUS,RAMDIN,RAMWADD,RAMWE,S_SHT_SCK,SHT_SDA,
S_ADS_SCLK,S_ADS_DIN,ADS_BUSY,ADS_DOUT,S_PUMP,S_EVREF,S_EVLEAF,S_LCSE
RVO,STOPLCSERVO,EODAS);
BLK3RAM:          ram_infer          generic        map(8,16,3)        port          map
(CLK,CLK,RAMDIN,RAMWADD,RAMRADD,RAMWE,RAMDOUT);
BLK4TXX:          PKTX_CORE          port          map
(RST,CLK,STPKTX,RAMDOUT,RAMRADD,S_TXD,S_TXSTATUS,EOPKTX);
BLK5TIM: TIMER_36Bit port map (RST,CLK,CLRTIM,KTIM,TIM);

```

```

BLK6LCD:          MSG_LCD          port          map
(RST,CLK,MSG,'1',LCD_RS,LCD_EN,LCD_RW,LCD_BKLO,LCD_DION,LCD_DAT);
BLK7SHOT: ONE_SHOT port map (RST,CLK,STPNSS,SHOT);
BLK8PWM12B: PWM_12B port map (RST,CLK,"010111111111",SPUMPPWM);

--Testing outputs
SKPUMP<=KPUMP;

SKEVREF<=KEVREF;
SKEVLEAF<=KEVLEAF;

--pumpctrl:process(KPUMP)
--begin
--if(KPUMP='0') then
--PUMP<='0';
--else
--PUMP<=SPUMPPWM;
--end if;
--end process;
--PUMP<=SKPUMP;

PUMP<=STOPPUMP;
--LCSERVO<=STOPLCSERVO;

EVREF<=SKEVREF;
EVLEAF<=SKEVLEAF;

--Outputs

SHT_SCK<=S_SHT_SCK;
ADS_SCLK<=S_ADS_SCLK;
ADS_DIN<=S_ADS_DIN;
--PUMP<=S_PUMP;
--EVREF<=S_EVREF;
--EVLEAF<=S_EVLEAF;
LCSERVO<=S_LCSERVO;-----
TXD<=S_TXD;
RS<=LCD_RS;

```

```

EN<=LCD_EN;
RW<=LCD_RW;
BKLO<=LCD_BKLO;
DION<=LCD_DION;
DAT<=LCD_DAT;
DAS_STATUS<=S_DASSTATUS;
TX_STATUS<=S_TXSTATUS;
EOPNSS<=S_EOPNSS;

```

end modular;

FSM de control maestro

```

-----
-- Photosynthesis Smart Sensor FSM
-- M. I. Jesus Roberto Millan Almaraz
-- Ph D. Thesis
-----

```

```

library IEEE;
use IEEE.std_logic_1164.all;
use IEEE.std_logic_arith.all;
use IEEE.std_logic_unsigned.all;

```

entity PNSS_FSM is

```

    port(
        RST: in std_logic; --Master Reset
        CLK: in std_logic; --Master Clock

        STPNSS: in std_logic; -- Start Sensor
        EODAS:      in std_logic; -- End of DAS Unit
        EOPKTX: in std_logic; -- End of Packet transmitter
        TIM:   in std_logic; -- Timer flag

        STDAS: out std_logic; -- Start DAS
        STPKTX: out std_logic; -- Start Packet transmitter
        CLRTIM: out std_logic; -- Clear timer
    );

```



```

KTIM: out std_logic_vector(1 downto 0); -- Timer delay selector
MSG:  out std_logic_vector(1 downto 0); -- LCD 16x2 Text message

STATUS: out std_logic_vector(2 downto 0); -- Present state report

TOPPUMP: out std_logic;  --Pump FSM control
TOPLCSERVO: out std_logic; --Servo FSM control
EOPNSS: out std_logic -- End of DAS Unit
    );
end PNSS_FSM;

architecture FSM of PNSS_FSM is

type FSM_States IS (S0,S1,S2,S3,S4,S5,S6,S7,S8,S9,S10,S11,S12,S13);
signal QP,QN: FSM_States;

begin

combinacional:process(Qp,STPNSS,EODAS,EOPKTX,TIM)
begin

    case Qp is

-- S0 Initial state
        when S0 =>

            if (STPNSS='0') then
                Qn<=S0;
            else
                Qn<=S1;
            end if;

--Instrumentation
            STDAS<='0';          --No Start for DAS
            STPKTX<='0';      --No Start for transmitter

```

```
CLRTIM<='1'; --Clear timer
KTIM<="10"; --2 min mode
MSG<="00"; --LCD message READY
STATUS<="000";
EOPNSS<='1'; --End of Sensing
```

```
TOPPUMP<='0';
TOPLCSERVO<='0';
```

-- S1 Start DAS Unit

```
when S1 =>
```

```
Qn<=S2;
```

--Instrumentation

```
STDAS<='1'; --Start for DAS
STPKTX<='0'; --No Start for transmitter
CLRTIM<='0'; --RUN timer
KTIM<="10"; --2 min mode
MSG<="01"; --LCD message ACQUIRING
STATUS<="001";
EOPNSS<='0'; --Sensing
```

```
TOPPUMP<='1';
TOPLCSERVO<='0';
```

-- S2 Wait DAS unit

```
when S2 =>
```

```
if (EODAS='0') then
```

```
    Qn<=S2;
```

```
else
```

```
    Qn<=S3;
```

```
end if;
```

--Instrumentation

```
STDAS<='0'; --No Start for DAS
STPKTX<='0'; --No Start for transmitter
```

```

CLRTIM<='0'; --Clear timer
KTIM<="10"; --2 min mode
MSG<="01"; --LCD message ACQUIRING
STATUS<="010";
EOPNSS<='0'; --Sensing

TOPPUMP<='1';
TOPLCSERVO<='0';

-- S3 Start Packet transmitter
when S3 =>

    Qn<=S4;

    --Instrumentation
    STDAS<='0'; --No Start for DAS
    STPKTX<='1'; --Start for transmitter
    CLRTIM<='0'; --Clear timer
    KTIM<="10"; --2 min mode
    MSG<="10"; --LCD message TRANSMITTING
    STATUS<="011";
    EOPNSS<='0'; --Sensing

    TOPPUMP<='1';
    TOPLCSERVO<='0';

-- S4 Wait Packet transmission
when S4 =>

    if (EOPKTX='0') then
        Qn<=S4;
    else
        Qn<=S5;
    end if;

    --Instrumentation
    STDAS<='0'; --No Start for DAS
    STPKTX<='0'; --No Start for transmitter

```

```

CLRTIM<='0'; --Clear timer
KTIM<="10"; --2 min mode
MSG<="10"; --LCD message TRANSMITTING
STATUS<="100";
EOPNSS<='0'; --Sensing

TOPPUMP<='1';
TOPLCSERVO<='0';

```

-- S5 Waiting timer for next OPEN chamber DAS cycle

when S5 =>

```

if (TIM='0') then
    Qn<=S1;
else
    Qn<=S6;
end if;

```

--Instrumentation

```

STDAS<='0'; --No Start for DAS
STPKTX<='0'; --No Start for transmitter
CLRTIM<='0'; --Run timer
KTIM<="10"; --2 min mode-----<<<<<
MSG<="11"; --LCD message WAITING
STATUS<="101";
EOPNSS<='0'; --Sensing

TOPPUMP<='1';
TOPLCSERVO<='0';

```

```

-----
-----
-----

```

-- S6 REStart TIMER

when S6 =>

```

Qn<=S7;

```

```

--Instrumentation
STDAS<='0';          --No Start for DAS
STPKTX<='1';  --Start for transmitter
CLRTIM<='1';  --Clear timer
KTIM<="10";  --2 min mode
MSG<="10";  --LCD message TRANSMITTING
STATUS<="011";
EOPNSS<='0';  --Sensing

TOPPUMP<='1';
TOPLCSERVO<='1';

```

```

-----
-----
-----

```

```

-- S7 Start DAS Unit second round

```

```

when S7 =>

```

```

Qn<=S8;

```

```

--Instrumentation
STDAS<='1';          --Start for DAS
STPKTX<='0';  --No Start for transmitter
CLRTIM<='0';  --RUN timer
KTIM<="10";  --2 min mode
MSG<="01";  --LCD message ACQUIRING
STATUS<="001";
EOPNSS<='0';  --Sensing

```

```

TOPPUMP<='1';
TOPLCSERVO<='1';

```

```

-- S8 Wait DAS unit

```

```

when S8 =>

```

```

if (EODAS='0') then
    Qn<=S8;

```

```

else
    Qn<=S9;
end if;

--Instrumentation
STDAS<='0';          --No Start for DAS
STPKTX<='0'; --No Start for transmitter
CLRTIM<='0'; --Clear timer
KTIM<="10"; --2 min mode
MSG<="01"; --LCD message ACQUIRING
STATUS<="010";
EOPNSS<='0'; --Sensing

TOPPUMP<='1';
TOPLCSERVO<='1';

-- S9 Start Packet transmitter
when S9 =>

    Qn<=S10;

    --Instrumentation
    STDAS<='0';          --No Start for DAS
    STPKTX<='1'; --Start for transmitter
    CLRTIM<='0'; --Clear timer
    KTIM<="10"; --2 min mode
    MSG<="10"; --LCD message TRANSMITTING
    STATUS<="011";
    EOPNSS<='0'; --Sensing

    TOPPUMP<='1';
    TOPLCSERVO<='1';

-- S10 Wait Packet transmission
when S10 =>

    if (EOPKTX='0') then
        Qn<=S10;
    end if;

```

```

else
    Qn<=S11;
end if;

--Instrumentation
STDAS<='0';          --No Start for DAS
STPKTX<='0';  --No Start for transmitter
CLRTIM<='0';  --Clear timer
KTIM<="10";  --2 min mode
MSG<="10";  --LCD message TRANSMITTING
STATUS<="100";
EOPNSS<='0';  --Sensing

TOPPUMP<='1';
TOPLCSERVO<='1';

-- S11 Waiting timer for next OPEN chamber DAS cycle
when S11 =>

if (TIM='0') then
    Qn<=S7;
else
    Qn<=S12;
end if;

--Instrumentation
STDAS<='0';          --No Start for DAS
STPKTX<='0';  --No Start for transmitter
CLRTIM<='0';  --Run timer
KTIM<="10";  --2 min mode-----<<<<<<
MSG<="11";  --LCD message WAITING
STATUS<="101";
EOPNSS<='0';  --Sensing

TOPPUMP<='1';
TOPLCSERVO<='1';

```

```

-----
-----
-----
-----
-- S12 REStart TIMER
    when S12 =>

        Qn<=S13;

        --Instrumentation
        STDAS<='0';          --No Start for DAS
        STPKTX<='0';        --Start for transmitter
        CLRTIM<='1';        --Clear timer
        KTIM<="10";         --2 min mode
        MSG<="11";          --LCD message TRANSMITTING
        STATUS<="011";
        EOPNSS<='0';        --Sensing

        TOPPUMP<='0';
        TOPLCSERVO<='0';

-----
-----
-----

```

```

-- S13 Waiting timer for next OPEN chamber DAS cycle
    when S13 =>

        if (TIM='0') then
            Qn<=S13;
        else
            Qn<=S0;
        end if;

        --Instrumentation

```



```

STDAS<='0';          --No Start for DAS
STPKTX<='0'; --No Start for transmitter
CLRTIM<='0'; --Run timer
KTIM<="11"; --11 min mode-----<<<<<
MSG<="11"; --LCD message WAITING
STATUS<="111";
EOPNSS<='0'; --Sensing

TOPPUMP<='0';
TOPLCSERVO<='0';

```

```

-----
-----
-----
-----

```

-- S6 Non valid states

when others =>

Qn<=S0;

--Instrumentation

```

STDAS<='0';          --No Start for DAS
STPKTX<='0'; --No Start for transmitter

```

```
CLRTIM<='1'; --Clear timer
KTIM<="10"; --13 min mode
MSG<="00"; --LCD message ERROR
STATUS<="111";
EOPNSS<='0'; --Sensing
```

```
TOPPUMP<='0';
TOPLCSERVO<='0';
```

```
end case;
end process;
```

```
-----
-----
```

```
secuencial:process(RST,CLK)
begin
    if(RST='0') then --Altera edition
        QP<=S0;
    elsif(CLK'event and CLK='1') then
        QP<=QN;
    end if;
end process;
```

```
end FSM;
```