



Educación
Secretaría de Educación Pública



TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO



TESIS

CON EL TEMA:

**“DISEÑO DE UN SISTEMA DE INMERSIÓN TEMPORAL PARA LA
PROPAGACIÓN DE PLANTAS IN VITRO”**

QUE PRESENTAN:

**JOSE ALONSO FIGUEROA MARTINEZ
IVAN URIEL GONZALEZ SEGUNDO**

ASESOR

DR. HECTOR MIGUEL GASTELUM GONZALEZ

REVISORES

**MIS. CHRISTIAN GUILLERMO MURGUIA VADILLO
DRA. MAYRA ITZCALOTZIN MONTERO CORTES**

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
INGENIEROS EN SISTEMAS COMPUTACIONALES

TLAJOMULCO DE ZÚÑIGA, JALISCO. MARZO, 2025.



Educación
Secretaría de Educación Pública



TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO



Instituto Tecnológico de Tlajomulco
Dirección
Subdirección Académica

Tlajomulco de Zúñiga, Jalisco, 03/Marzo/2025

No. DE OFICIO: D.SA/DEP/345/2025

ASUNTO: Autorización de impresión
definitiva y digitalización.

C. JOSE ALONSO FIGUEROA MARTINEZ
C. IVAN URIEL GONZALEZ SEGUNDO
PASANTES DE LA CARRERA DE INGENIERÍA EN SISTEMAS COMPUTACIONALES
P R E S E N T E

Dado que el Comité dictaminó como **APROBADA** su TITULACIÓN INTEGRAL: OPCIÓN I (TESIS), con el tema
“**DISEÑO DE UN SISTEMA DE INMERSIÓN TEMPORAL PARA LA PROPAGACIÓN DE PLANTAS IN VITRO**”
y determinó que dan cumplimiento con los requisitos establecidos, se les notifica que tienen la
autorización para su impresión definitiva y digitalización.

Sin otro particular quedo de usted.

ATENTAMENTE

Excelencia en Educación Tecnológica®

Educando para la sociedad Actual y los Retos del futuro®

C. MARÍA ISABEL BECERRA RODRÍGUEZ
DIRECTORA DEL PLANTEL



C.c.p.- Coordinación Titulación. - Edificio

C.c.p.- Minutario. -

MIBR/RNP/VHPS/mjhc*



KM. 10 carretera a San Miguel Cuyutlán, Cto. Vicente Fernández
Gómez C.P.45640 Tlajomulco de Zúñiga, Jal. Tel. 33 29 02 11 30 ext.1015
e-mail: plan_tlajomulco@tecnm.mx www.tlajomulco.tecnm.mx





Instituto Tecnológico de Tlajomulco

Dirección

Subdirección Académica

Departamento de Ingenierías

Tlajomulco de Zúñiga, Jalisco, 01/Marzo/2025

No. DE OFICIO: D.SA/DING/058/2025

ASUNTO: Liberación de proyecto para
la titulación integral.

MTI. VIOLETA HAIDE PLAZOLA SOLTERO
JEFA DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS PROFESIONALES
P R E S E N T E

Por este medio informo que ha sido liberado el siguiente proyecto para la titulación integral:

NOMBRE DEL ESTUDIANTE Y/O EGRESADO:	JOSE ALONSO FIGUEROA MARTINEZ
NO. DE CONTROL:	20940364
PRODUCTO:	OPCIÓN I (TESIS)
CARRERA:	INGENIERÍA EN SISTEMAS COMPUTACIONALES
NOMBRE DEL PROYECTO:	"DISEÑO DE UN SISTEMA DE INMERSIÓN TEMPORAL PARA LA PROPAGACIÓN DE PLANTAS IN VITRO"

Agradezco de antemano su valioso apoyo en esta importante actividad para la formación profesional de nuestros egresados.

ATENTAMENTE

Excelencia en Educación Tecnológica®

Educando para la sociedad Actual y los Retos del futuro®

MC. FABIOLA BEJARANO REBOLLEDO
JEFA DEL DEPARTAMENTO DE INGENIERÍAS

DR. HECTOR MIGUEL GASTELUM GONZALEZ Nombre y firma del asesor	MIS. CHRISTIAN GUILLERMO MURGUIA VADILLO Nombre y firma del revisor	DRA. MAYRA ITZCALOTZIN MONTERO CORTES Nombre y firma del revisor
--	---	--

C.c.p.- Coordinación Titulación. - Edificio

C.c.p.- Minutario. -

FBR/mjhc*



2025
Año de
La Mujer
Indígena

KM. 10 carretera a San Miguel Cuyutlán, Cto. Vicente Fernández
Gómez C.P.45640 Tlajomulco de Zúñiga, Jal. Tel. 33 29 02 11 30 ext.1015
e-mail: plan_tlajomulco@tecnm.mx www.tlajomulco.tecnm.mx





Instituto Tecnológico de Tlajomulco

Dirección

Subdirección Académica

Departamento de Ingenierías

Tlajomulco de Zúñiga, Jalisco, 01/Marzo/2025

No. DE OFICIO: D.SA/DING/057/2025

ASUNTO: Liberación de proyecto para
la titulación integral.

MTI. VIOLETA HAIDE PLAZOLA SOLTERO
JEFA DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS PROFESIONALES
P R E S E N T E

Por este medio informo que ha sido liberado el siguiente proyecto para la titulación integral:

NOMBRE DEL ESTUDIANTE Y/O EGRESADO:	IVAN URIEL GONZALEZ SEGUNDO
NO. DE CONTROL:	20940375
PRODUCTO:	OPCIÓN I (TESIS)
CARRERA:	INGENIERÍA EN SISTEMAS COMPUTACIONALES
NOMBRE DEL PROYECTO:	"DISEÑO DE UN SISTEMA DE INMERSIÓN TEMPORAL PARA LA PROPAGACIÓN DE PLANTAS IN VITRO"

Agradezco de antemano su valioso apoyo en esta importante actividad para la formación profesional de nuestros egresados.

ATENTAMENTE

Excelencia en Educación Tecnológica®

Educando para la sociedad Actual y los Retos del futuro®

MC. FABIOLA BEJARANO REBOLLEDO
JEFA DEL DEPARTAMENTO DE INGENIERÍAS

DR. HECTOR MIGUEL GASTELUM GONZALEZ
Nombre y firma del asesor

MIS. CHRISTIAN GUILLERMO MURGUIA
VADILLO
Nombre y firma del revisor

DRA. MAYRA ITZCALOTZIN MONTERO
CORTES
Nombre y firma del revisor

C.c.p.- Coordinación Titulación. - Edificio

C.c.p.- Minutario. -

FBR/mjhc*



2025
Año de
La Mujer
Indígena

KM. 10 carretera a San Miguel Cuyutlán, Cto. Vicente Fernández
Gómez C.P.45640 Tlajomulco de Zúñiga, Jal. Tel. 33 29 02 11 30 ext.1015
e-mail: plan_tlajomulco@tecnm.mx www.tlajomulco.tecnm.mx



Iván Uriel González Segundo:

✦ *Dedico este trabajo a mi familia, quienes, con su amor incondicional, su apoyo y sus palabras de aliento en los momentos difíciles han sido mi guía. Este logro no es solo mío, sino también de ustedes, porque sin sus enseñanzas, no habría llegado hasta aquí.*

✦ *Dedico este trabajo a mi amigo y compañero José Alonso Figueroa Martínez, cuya inspiración fue fundamental para que pudiera seguir adelante. Agradezco cada consejo que me brindó y su ejemplo de perseverancia, demostrando que, con esfuerzo y determinación, cualquier meta es alcanzable sin importar los obstáculos en el camino.*

✦ *Este logro es reflejo de las enseñanzas que he recibido a lo largo de mi vida, de aquellas personas que en algún momento compartieron su luz y fueron un refugio para mi alma. A lo largo de mi trayectoria, dejaron huellas que me han ayudado a seguir adelante con más fuerza y claridad.*

ÍNDICE

PORTADA	I
HOJA DE FIRMAS	II
AGRADECIMIENTOS.....	VI
DEDICATORIAS.....	VII
ÍNDICE	IX
ÍNDICE DE FIGURAS.....	XII
ÍNDICE DE TABLAS	XII
RESUMEN	XIII
ABSTRACT	XIV
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	2
2.1 Biorreactor	2
2.2 Sistemas de Inmersión	2
2.3 Categorías de Sistemas de Inmersión	2
2.4 Sistemas de inmersión parcial y un mecanismo de renovación del medio líquido.....	2
2.5 Esterilización	3
2.6 Autoclave.....	3
2.7 Fotosíntesis	3
2.8 Fotoperíodo	3
2.9 <i>In Vitro</i>	3
2.10 Micropropagación	4
2.11 Establecimiento del cultivo.....	4
2.12 Medio de cultivo líquido	5
2.13 Tarjeta de desarrollo.....	5
2.14 Orange PI	5
2.15 ESP32	6
2.16 Relé.....	6
2.17 Electroválvula (Mando indirecto).....	6
2.18 Bloque Manifold.....	6
2.19 Redes informáticas.....	7
2.20 Protocolo HTTP	7

2.21 TCP/IP	7
2.22 Red de área local	8
III. ANTECEDENTES	9
3.1 La micropropagación de plantas	9
3.2 Uso de biorreactores automatizados durante la micropropagación	10
3.3 Diseño sistema neumático	13
3.4 Controlador lógico programable (PLC)	15
3.5 Contaminantes durante micropropagación de plantas	16
3.6 Formas de combatir la contaminación <i>in vitro</i>	17
IV. PROBLEMÁTICA	20
V. JUSTIFICACIÓN	21
VI. OBJETIVOS	23
6.1 Objetivo general	23
6.2 Objetivos específicos	23
VII. HIPÓTESIS	24
VIII. MÉTODOS	25
8.1 Ubicación del proyecto	25
8.2 Desarrollo e implementación del sistema informático para la gestión y control de cada módulo del biorreactor (SIT)	25
8.2.1 Hardware	25
8.2.2 Tecnologías	25
8.2.3 Programación de los módulos	26
8.2.3.1 Preparación del entorno	26
8.2.3.2 Librerías usadas	26
8.2.3.3 Flujo del código	28
8.2.3.4 Compilación y flasheo	29
8.2.4 Diagrama del módulo controlador	29
8.2.5 Diagrama del sistema general	30
8.3 Implementación del sistema de aireación, con la incorporación de mecanismos que regulan la presión y aseguran el flujo de aire estable y eficiente.	30
8.3.1 Sistema de aireación	30
8.3.2 Diagrama de sistema de aireación	31
8.4 Implementación del sistema modular de control de fotoperíodo que permite programar de manera independiente distintos entornos lumínicos y periodos de iluminación	31

8.4.1 Sistema de fotoperiodo	31
8.4.2 Diagrama de conexión del sistema de fotoperiodo con el módulo controlador	31
8.5 Evaluación de funcionalidad del sistema de biorreactores en la propagación de plantas in vitro	32
8.5.1 Selección del material vegetal.....	32
8.5.2 Condiciones experimentales	32
8.5.3 Variables evaluadas	33
IX. RESULTADOS	35
9.1 Desarrollo e implementación del sistema informático para la gestión y control de cada módulo del biorreactor (SIT)	35
9.1.1 Integración de la red local	35
9.1.2 Hardware	35
9.1.3 Sistema eléctrico.....	36
9.1.4 Sistema de control	36
9.2 Implementación del sistema de aireación, con la incorporación de mecanismos que regulan la presión y aseguran el flujo de aire estable y eficiente.	37
9.2.1 Desarrollo del sistema de aireación.....	37
9.3 Implementación del sistema modular de control de fotoperíodo que permite programar de manera independiente distintos entornos lumínicos y periodos de iluminación.....	38
9.4 Evaluación de funcionalidad del sistema de biorreactores en la propagación de plantas in vitro	38
9.4.1 Prueba 1	38
9.4.2 Prueba 2	39
9.4.3 Prueba 3	40
X. CONCLUSIONES	42
XI. REFERENCIAS	44
XII. ANEXOS	51

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 3.1. Esquema de la micropropagación y sus fases de cultivo.....	9
Figura 3.2. Los biorreactores en la micropropagación.....	11
Figura 3.3. Esquema de un sistema neumático básico.	14
Figura 3.4. Contaminación microbiana en micropropagación in vitro (FIA, 2009).	17
Figura 8.1. Diagrama de módulo.....	29
Figura 8.2. Diagrama del sistema.....	30
Figura 8.3. Diagrama de sistema de aireación	31
Figura 8.4. Diagrama de sistema de fotoperiodo.....	31
Figura 8.5. Diagrama de conexión del sistema de fotoperíodo con el módulo controlador.	32
Figura 9.1. Router	35
Figura 9.2. Diagrama de petición HTTP de centro de control a módulo controlador.....	36
Figura 9.3. Sistema eléctrico y de control.....	37
Figura 9.4. Sistema de aireación.....	37
Figura 9.5. Sistema de luces.....	38
Figura 9.6. Primera prueba de funcionalidad del sistema biorreactor.	39
Figura 9.7. Segunda prueba de funcionalidad del sistema biorreactor.	40
Figura 9.8. Tercera prueba de funcionalidad del sistema biorreactor.	41

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Tabla de materiales con costos para el prototipo considerando un módulo.....	51
---	----

RESUMEN

A lo largo del tiempo se han desarrollado una amplia variedad de sistemas semiautomatizados que garantizan una inmersión constante, una transferencia óptima de oxígeno, cambios frecuentes del medio de cultivo, reducción del riesgo de contaminación y minimización de los costos de producción. Estos sistemas, conocidos como sistemas de inmersión temporal (SIT), surgieron como una solución a los problemas de los métodos convencionales de cultivo *in vitro*. Sin embargo, aunque los SIT desarrollados hasta la fecha han resuelto varios de estos problemas, cada uno presenta desventajas que hacen necesario el desarrollo de un SIT mejorado para obtener plantas de mayor calidad.

El presente trabajo muestra el diseño y construcción de un sistema de biorreactores de inmersión temporal (SIT) para la propagación de plantas *in vitro*. Esta propuesta implementa la separación de las líneas de biorreactores mediante módulos independientes, cada uno se integra por un microcontrolador que manipulara tanto el fotoperiodo como el tiempo de inmersión de las plantas en el medio de cultivo. El control se realiza mediante un sistema alojado en la Orange Pi, esta permite, mediante comunicación inalámbrica ejecutar acciones manuales y programadas en cada uno de los módulos mediante peticiones HTTP, dentro de una red local.

Entre los resultados obtenidos está el aumento de la fiabilidad junto con la posibilidad de escalar este sistema a tantos módulos como la capacidad instalada y conexión hidráulica soporte. Lo cual permitirá controlar más líneas de biorreactores con diferentes e independientes configuraciones, para mejorar la producción de plantas *in vitro*.

Palabras clave: Biorreactor, automatización, sistemas de inmersión temporal (SIT), peticiones HTTP, escalabilidad, *in vitro*

ABSTRACT

Over time, a wide variety of semi-automated systems have been developed that guarantee constant immersion, optimal oxygen transfer, frequent changes of the culture medium, reduced risk of contamination and minimized production costs. These systems, known as temporary immersion systems (TIS), emerged as a solution to the problems of conventional *in vitro* culture methods. However, although the TIS developed to date have solved several of these problems, each presents disadvantages that make it necessary to develop an improved TIS to obtain higher quality plants.

This work shows the design and construction of a temporary immersion bioreactor system (TIS) for *in vitro* plant propagation. This proposal implements the separation of the bioreactor lines by means of independent modules, each integrated by a microcontroller that will manipulate both the photoperiod and the immersion time of the plants in the culture medium. Control is carried out by a system hosted on the Orange Pi, which allows, through wireless communication, the execution of manual and programmed actions in each of the modules using HTTP requests, within a local network.

Among the results obtained is the increase in reliability together with the possibility of scaling this system to as many modules as the installed capacity and hydraulic support connection. This will allow controlling more bioreactor lines with different and independent configurations, to improve the production of *in vitro* plants.

Keywords: Bioreactor, automation, temporary immersion systems (TIS), HTTP requests, scalability, *in vitro*.

I. INTRODUCCIÓN

Actualmente las industrias, tanto manufactureras como de procesos, realizan grandes esfuerzos en la optimización de los procesos productivos. Algunas se centran en el aspecto de la calidad, mientras que otras en el aspecto de los costos. Ambos factores son condicionantes fundamentales en estas industrias y, en este sentido, la automatización industrial contribuye decisivamente (Ponsa *et al.*, 2008).

La biotecnología y el cultivo de plantas *in vitro* son áreas fundamentales para la investigación científica y la agricultura moderna. En este contexto, los biorreactores de inmersión temporal juegan un papel crucial, ya que permiten controlar de manera eficiente el crecimiento de las plantas bajo condiciones controladas. Sin embargo, a pesar de su importancia, los sistemas de control de biorreactores actuales presentan importantes limitaciones, como la falta de precisión en la regulación de los tiempos de inmersión y sistemas de aireación ineficientes, lo que puede generar variaciones en la calidad y la eficiencia del proceso de producción.

El objetivo de este proyecto es desarrollar un sistema automatizado para el control preciso de los biorreactores de inmersión temporal, lo que permitirá mejorar la calidad y eficiencia de la producción de plantas *in vitro*. Este sistema se basará en una aplicación que se ejecutará en un equipo de cómputo Orange Pi como plataforma central, junto con módulos relés y microcontroladores ESP32-S3, conectados mediante una red local, para el control del sistema de válvulas que gestionan la inmersión del medio de cultivo y dispositivos lumínicos para el control del fotoperiodo. De esta forma, se buscará optimizar los recursos, reducir los costos operativos y aumentar la confiabilidad del proceso.

II. MARCO TEÓRICO

2.1 Biorreactor

Un biorreactor, puede considerarse como un espacio delimitado en el que, en presencia y con la intervención de un biocatalizador, ocurre una transformación de materia. Normalmente ocurre un intercambio activo de materia y calor con el entorno. (Chmiel *et al.*, 2018)

2.2 Sistemas de Inmersión

Son sistemas que permiten el contacto entre un ente biológico y un medio líquido, así como también, la renovación completa de la atmósfera del cultivo mediante el uso de presión, la cual impulsa el líquido hacia el material vegetal. (Herve & M, 2002)

2.3 Categorías de Sistemas de Inmersión

Los sistemas de inmersión temporal para propagación de plantas se dividen en 4 categorías según su funcionamiento:

- Máquinas de inclinación y oscilación
- Inmersión completa del material vegetal y renovación del medio de cultivo
- Inmersión parcial y un mecanismo de renovación del medio nutritivo líquido
- Inmersión completa mediante transferencia neumática del medio líquido y sin renovación del medio nutritivo (Herve & M, 2002)

2.4 Sistemas de inmersión parcial y un mecanismo de renovación del medio líquido

En este sistema el explante vegetal primeramente se coloca sobre un soporte de cultivo (tal como un sustrato o agar agar), para después aplicar el medio de cultivo con la frecuencia establecida hasta ser retirado mediante una acción de drenado, considerando que la vida útil del medio de cultivo puede verse afectado por los componentes del sistema de transferencia de este, aunque la base vegetal sea sumergida parcialmente (Herve & M, 2002)

2.5 Esterilización

Se define esterilización como el proceso que elimina de manera efectiva agentes tales como hongos, bacterias y virus de elementos tales como superficies, equipos o alimentos. Esta se mide mediante el nivel de garantía de esterilidad SAL (Sterility Assurance Level) (Vishal Gupta & Shukshith, 2016)

2.6 Autoclave

El autoclave es una cámara de presión utilizada para realizar esterilización mediante la aplicación de temperaturas y presiones altas, este se aplica en diferentes industrias, tales como la química y la médica (Vishal Gupta & Shukshith, 2016)

2.7 Fotosíntesis

Proceso fisicoquímico mediante el cual las plantas y otros organismos fotosintéticos utilizan la energía solar para sintetizar compuestos orgánicos. El proceso a grandes rasgos conlleva la liberación de oxígeno como resultado del consumo de dióxido de carbono para lograr así la síntesis de sus compuestos orgánicos (Pérez-Urria Carril, 2009)

2.8 Fotoperíodo

Periodo temporal durante el cual se expone a las plantas a una fuente luz como parte fundamental para el proceso de fotosíntesis, este se puede manipular controlando la irradiación y la duración comúnmente medido en ciclos y relacionado al periodo de luz solar durante el día (Jiménez-Ruiz *et al.*, 2023).

2.9 *In Vitro*

Dentro del contexto de las plantas, es un método de cultivo dentro de un frasco de vidrio dentro de un ambiente artificial. Dicho método se caracteriza de dos conceptos fundamentales:

- Asepsia (ausencia de gérmenes)
- Control de factores que afectan al crecimiento.

Este método ha permitido un estudio acelerado de plantas a diferentes niveles, así como también permitir la reproducibilidad de experimentos (Castillo, 2004)

2.10 Micropropagación

Es un método de propagación realizado en condiciones de laboratorio y que puede servir para la etapa de plantación, el cual tiene un impacto de mejora en las plantas, entre otras áreas. Se puede aplicar utilizando medios sexuales y asexuales, comúnmente utilizado para mejorar el material biológico, en cuestiones de homogeneidad y salubridad (Kumar *et al.*, 2019)

2.11 Establecimiento del cultivo

Para poder establecer el cultivo en condiciones de asepsia, se deben obtener explantes con un nivel nutricional y un grado de desarrollo adecuado. Para obtener estos explantes es recomendable mantener a las plantas madre, es decir la planta donadora de yemas, durante un período de tiempo que puede oscilar entre unas semanas o varios meses en un invernadero bajo condiciones controladas. En ese ambiente se cultiva la planta en condiciones sanitarias óptimas y con un control de la nutrición y riego adecuados para permitir un crecimiento vigoroso y libre de enfermedades. El explante se siembra en un medio de cultivo semisólido para que ocurra la desdiferenciación y diferenciación de brotes (Castillo, 2004)

El explante más usado para estos procesos son las yemas vegetativas de las plantas que son el extremo joven de un vástago y, por lo tanto, llevan hojas inmaduras. Los frascos que contienen las plantas se ubican en estanterías con luz artificial dentro de una cámara de crecimiento y se fija una temperatura entre los 21°C y 23°C. (Castillo, 2004)

El corte del explante se realiza en una cámara de flujo laminar para evitar contaminación, ya que todos los materiales están perfectamente esterilizados y una mínima partícula de aire contaminado puede infectar todo el material vegetal. Por otra parte, para la selección del explante se debe antes seleccionar la planta madre que es

aquella a partir de la cual se va a obtener la materia vegetal para producir clones que serán idénticos a la original (Castillo, 2004)

2.12 Medio de cultivo líquido

La utilización de este sistema da como resultado mayores tasas de crecimiento que en medios semisólidos, debido a la mayor superficie de contacto del explante con el medio y menores gradientes de difusión entre el medio y el explante, facilita la absorción de nutrientes (George, 1993). Sin embargo, la inmersión continua de los tejidos provoca síntomas de estrés por oxidación y vitrificación (Damiano, Gentile, La Starza, Fratalleri & Monticelli, 2003).

2.13 Tarjeta de desarrollo

Circuito electrónico que contiene un microcontrolador o dispositivo lógico y elementos como puertos, conectores y reguladores que permiten acceder a las interfaces de alto nivel sin necesidad de tanta configuración, pero a la vez también brindan acceso a los componentes de bajo nivel (Palma & Osorio, 2018)

2.14 Orange Pi

Placa de desarrollo equipada con el procesador de 8 núcleos Rockchip RK3588S (4 núcleos A76 + 4 núcleos A55), con una frecuencia de hasta 2.4 GHz y un diseño de proceso de 8 nm. Integra una GPU ARM Mali-G610, un módulo de aceleración de imágenes 3D/2D y una NPU con capacidad de cálculo de 6 Tops. Ofrece opciones de memoria de 4GB, 8GB o 16GB (LPDDR4/4X) y soporte para salida de vídeo 8K. Sus interfaces incluyen HDMI, GPIO, M.2 PCIe 2.0, USB 2.0 y 3.0, puerto LAN Gigabit, entre otros. Es compatible con sistemas operativos como Orange Pi OS, Android 12 y Debian 11, y se utiliza en aplicaciones de inteligencia artificial, computación en la nube, seguridad inteligente, hogares inteligentes y más (Orange Pi, n.d.)

2.15 ESP32

Chip combinado que cuenta principalmente con Wifi y Bluetooth de 2.4 GHz, diseñado con la tecnología de bajo consumo de 40 nm de TSMC. Está diseñado para lograr el mejor rendimiento en cuanto a energía y RF, mostrando robustez, versatilidad y fiabilidad en una amplia variedad de aplicaciones y escenarios de potencia. (ESPRESSIF, n.d.)

2.16 Relé

Término general con el que se refiere a todos los dispositivos que utilizan una pequeña señal eléctrica para activar una carga más grande de alta corriente. Este término va más allá de las aplicaciones automotrices, abarcando una amplia gama de aplicaciones eléctricas (Littelfuse, n.d.)

2.17 Electroválvula (Mando indirecto)

Está provista de una electroválvula de mando directo que bajo tensión alimenta un operador neumático. Se trata de un distribuidor neumático accionado por una señal eléctrica. De las cuales se encuentran dos variantes:

- Servoasistidas (o autoalimentadas): el operador se alimenta del aire de la conexión de alimentación principal 1 del distribuidor
- Alimentadas externamente: conceptualmente iguales a las servoasistidas, pero con la alimentación externa del operador (PNEUMAX, n.d.)

2.18 Bloque Manifold

El bloque colector es una idea que se ha utilizado durante algún tiempo en la ingeniería aeronáutica y submarina para accionar válvulas solenoides y servoválvulas. Es un producto que consiste en un bloque rectangular que actúa como distribuidor de presión, facilitando el flujo de fluidos e interconectando las salidas internas, permitiendo un eficiente funcionamiento del sistema (Christian Ferreira Mattos, 2019)

Este bloque se utiliza generalmente para sustituir una gran cantidad de válvulas, tubos, mangueras y conexiones en el montaje de una unidad hidráulica, por lo que resulta

eficaz para ahorrar espacio y reducir los costes de instalación. Además, este producto ofrece otros beneficios como un mejor aprovechamiento del sistema hidráulico ya que la instalación es sumamente sencilla y el mantenimiento y sustitución de válvulas se puede realizar de forma rápida (Christian Ferreira Mattos, 2019)

2.19 Redes informáticas

Permite la conexión de varios ordenadores o computadores entre sí, mediante hardware y software, permitiendo que exista un receptor y emisor (Oviedo Bayas *et al.*, 2018)

2.20 Protocolo HTTP

El protocolo de transferencia de hipertexto (HTTP, Hypertext Transfer Protocol) es el protocolo base de la web, permite las aplicaciones cliente-servidor que permitan la utilización de hipertextos, este protocolo permite transmitir la información con la eficiencia necesaria para efectuar saltos de hipertexto (Stallings, 2004)

2.21 TCP/IP

Arquitectura de protocolos resultado de la investigación originada de la red experimental de conmutación de paquetes ARPANET. Inicialmente con fines militares. Consisten en una extensa colección de protocolos que se han especificado como estándares de Internet por parte de IAB (Internet Architecture Board). Resuelve el problema de la comunicación en cinco capas relativamente independientes entre sí

- Capa física.
- Capa de acceso a la red.
- Capa internet.
- Capa extremo-a-extremo o de transporte.
- Capa de aplicación (Stallings, 2004)

2.22 Red de área local

También conocida como LAN es una red de comunicaciones que interconecta varios dispositivos y proporciona un medio para el intercambio de información entre ellos, cuenta con las siguientes características:

- La cobertura es pequeña,
- Suele ser de propiedad de la organización la cual conecta los dispositivos a la red
- Usualmente las velocidades de transferencia suelen ser mayores a las de otras redes

Elas pueden utilizar diferentes tipos de canales tales como:

- Cableado
- Comunicación inalámbrica (Stallings, 2004)

III. ANTECEDENTES

3.1 La micropropagación de plantas

El cultivo de tejidos vegetales (CTV) consiste en una serie de técnicas que permiten el cultivo y manipulación, bajo condiciones artificiales y controladas de células, tejidos y órganos vegetales (Molphe-Balch *et al.*, 1999). Una de las más importantes aplicaciones del CTV es la micropropagación, pues mediante las técnicas que se desarrollan dentro de la micropropagación han permitido establecer protocolos de regeneración a gran escala de plantas con un alto valor comercial. La micropropagación o propagación clonal *in vitro* cobra cada día mayor importancia cuando es utilizada en cultivos de interés económico, pues permite obtener una descendencia uniforme, con plantas genéticamente idénticas (clones) a partir de un solo fragmento (explante) proveniente de la planta madre (Figura 3.1). Esta técnica posee un gran potencial comercial debido a la velocidad de propagación, la alta calidad de plantas obtenidas y la posibilidad de producir plantas libres de patógenos (Steward *et al.*, 1970; Ammirato, 1985).

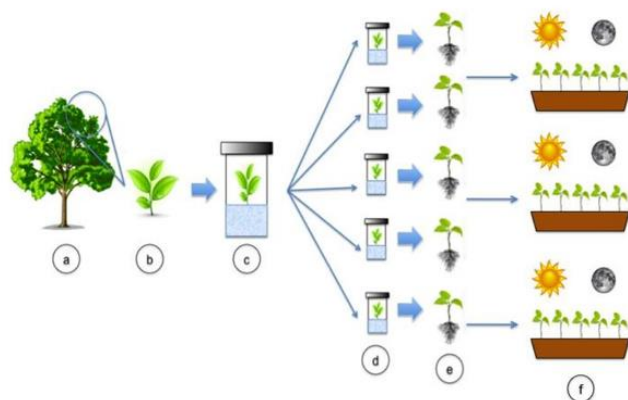


Figura 3.1. Esquema de la micropropagación y sus fases de cultivo.

a) Selección de la planta madre, b) Selección del explante, c) Establecimiento in vitro, d) Multiplicación del tejido, e) Elongación y enraizamiento, f) Adaptación al medio externo (aclimatación)

Sin embargo, la micropropagación tiene la desventaja de ser una técnica relativamente costosa, debido a que requiere mucha mano de obra y agentes gelificantes

que representan hasta el 60% de los costos de producción; para abaratar costos una opción es el uso de medio de cultivo líquido (Perugorría, 2013). Durante el cultivo en medio líquido suelen presentarse problemas como la hiperhidricidad y la falta de oxígeno los cuales pueden ser solucionados utilizando sistemas de inmersión temporal (Etienne y Berthouly, 2002).

El establecimiento de la micropropagación comercial como industria tiene sus comienzos en las décadas de los 70 y 80, y se han logrado significativos avances desde entonces en el cultivo de plantas y células *in vitro* (Jones y Sluis, 1991). El uso de la tecnología *in vitro* para la propagación de plantas ha tenido un gran desarrollo en la industria de la horticultura y la forestación. En el sector forestal, la micropropagación significa una alternativa comercial de gran importancia en comparación con la propagación tradicional gracias a la rápida ganancia genética que ofrece en los programas de mejoramiento. Los altos costos en que incurre esta técnica pueden ser una de las mayores limitantes (FAO/IAEA, 2004).

Esta técnica es extremadamente demandante en cuanto al uso de mano de obra, atribuyéndose a la manipulación de las plantas aproximadamente el 46% de los costos del proceso. Lo anterior hace necesaria la reducción de los costos de producción para la generalización de esta tecnología y en respuesta a esta demanda es imprescindible la automatización del proceso productivo para la optimización del uso de los recursos (George, 1993). La eficiencia del proceso de micropropagación desde el punto de vista comercial depende de una rápida y prolongada fase de proliferación con grandes escalas de producción.

3.2 Uso de biorreactores automatizados durante la micropropagación

Los sistemas de inmersión temporal (SIT) se sustentan en el uso de biorreactores automatizados que permiten el escalamiento para propagación masiva de especies vegetales en medio líquido. El mecanismo de estos sistemas consiste básicamente en la exposición intermitente del medio de cultivo líquido con los explantes bajo un tiempo y frecuencia de inmersión determinada, y controlada por PLC (por sus siglas en inglés:

Programmable Logic Controller) que regulan un período de tiempo establecido. El uso de biorreactores bajo el esquema de los sistemas de inmersión temporal genera un contexto bioquímico, que describe el empleo de recipientes autónomos con un ambiente aséptico, estos permiten a los explantes aprovechar la máxima absorción de nutrientes mediante el suministro de medio líquido y ayudan a mantener un ambiente favorable a través del flujo continuo de aire. Fueron diseñados para el cultivo intensivo y ofrecen la oportunidad de controlar micro condiciones ambientales tales como: agitación, aireación, temperatura, niveles de oxígeno, pH, etc. (Mehrotra *et al.*, 2007).

El cultivo en medio líquido utilizando sistemas de inmersión temporal con diferentes frecuencias de inmersión fue reportado para mejorar la calidad de las plantas y elevar las tasas de multiplicación de banano, café y hule (Alvard *et al.*, 1993; Teisson y Alvard, 1995; Etienne *et al.*, 1997). Los biorreactores están siendo utilizados en laboratorios comerciales en los EE.UU., Japón, Taiwán, Corea, Cuba, Costa Rica, Holanda, España, Bélgica y Francia para la micropropagación de plantas ornamentales, bulbosas, piña, papa, y algunos árboles forestales (Ziv, 2000).

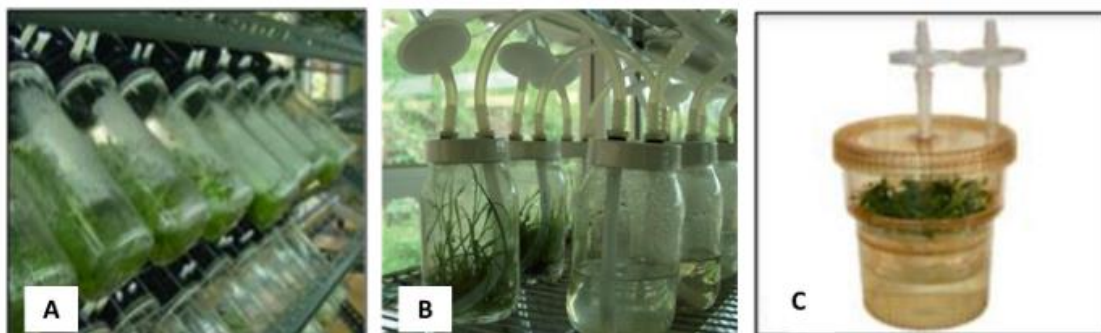


Figura 3.2. Los biorreactores en la micropropagación.

A) Micropropagación de agave (*Agavespp.*) en BioMINT® B) propagación de caña de azúcar (*Saccharum spp.*) en BIT®, y C) Recipiente de Inmersión Temporal Automatizado (RITA®).

La principal ventaja de los SIT como se muestran en la Figura 3.2 es incorporar un mayor grado de automatización en los procesos de multiplicación (proliferación), elongación y enraizamiento del cultivo *in vitro*. En algunas especies tropicales como plátano y piña, los SIT han demostrado ser altamente eficientes, ya que han permitido reducir de 30 a

40% el uso de mano de obra, reactivos, agentes gelificantes, manipulación de 6 explantes y el tiempo de producción de plantas, dependiendo de la especie. Además, estos sistemas han permitido aumentar la tasa de multiplicación, el porcentaje de enraizamiento, así como la supervivencia de plantas en la etapa de aclimatación en porcentajes que pueden variar de un 40 hasta un 50%, dependiendo del tipo de cultivo y de la producción de plantas por m² instalado de laboratorio. Todo ello ha permitido una disminución de los costos de producción de hasta un 50%, en comparación con el sistema de micropropagación convencional (Paredes, 2005).

El SIT en biorreactores constituye una herramienta tecnológica interesante, principalmente para el sector agroindustrial, ya que su implementación permitiría mejorar la eficiencia del proceso de propagación *in vitro* de distintas especies, con los siguientes méritos respecto a la técnica convencional (FIA, 2009):

- Aumento importante en la tasa de multiplicación.
- Mejoramiento en el porcentaje de enraizamiento y sobrevivencia de las plantas en la etapa de aclimatación.
- Aumento en los niveles de mecanización de algunas etapas de la micropropagación.
- Reducción en el uso de la mano de obra.
- Reducción en los costos de reactivos e insumos por planta final. Menor costo por planta.
- Aumento en la rentabilidad del proceso.

La economía de escala que se produce por efecto en la utilización de estos sistemas es importante, ya que, al producir un mayor número de plantas en un tiempo determinado, los costos por unidad se reducen significativamente (FIA, 2009).

El desarrollo de biorreactores más sofisticados y mejor adaptados a cada una de las necesidades micro ambientales en que se desarrollan las especies cultivadas ha permitido hacer más eficiente el empleo de los sistemas de inmersión temporal, es por ello por lo que periódicamente se patentan nuevos prototipos, cuya finalidad es innovar

y mejorar las condiciones de cultivo para mejorar la producción y calidad de plantas micropropagadas (Bello-Bello, 2013).

El empleo combinado de medios de cultivo en estado líquido y sistemas de cultivo semi automatizados (biorreactores) han demostrado ser eficientes en la propagación *in vitro* de muchas especies de plantas (Escalona, 2006; Mehrotra *et al.*, 2007; Cabrera *et al.*, 2009).

Los biorreactores ofrecen la solución a un sin fin de problemas relacionados con la regeneración de plantas *in vitro*. Estos sistemas permiten una adecuada aireación dentro del recipiente de cultivo, uso del medio líquido, así como una mayor disponibilidad de nutrientes y reguladores de crecimiento (Bello-Bello *et al.*, 2010).

3.3 Diseño sistema neumático

El auge que ha tomado la automatización de los procesos industriales ubica en un nivel de importancia todo el potencial que ofrece el aire como elemento de trabajo. En la actualidad es posible disponer de una gran variedad de componentes neumáticos que están prácticamente involucrados en todo proceso industrial de producción y, ofrecen estándares de seguridad, confiabilidad y operatividad que se ajustan a las exigencias de las diferentes normas vigentes en el sector (Poveda, 2007).

La neumática es la tecnología que emplea el aire comprimido como modo de transmisión de la energía necesaria para mover y hacer funcionar mecanismos. El aire es un material elástico y por tanto al aplicarle una fuerza se comprime, mantiene esta compresión y devolverá la energía acumulada cuando se le permita expandirse, según la ley de los gases ideales (Millán, 1995).

Los sistemas neumáticos se complementan con los eléctricos y electrónicos, lo que les permite obtener un alto grado de sofisticación y flexibilidad. Utilizan válvulas de solenoide, señales e interruptores eléctricos de final de carrera. El PLC les permite programar la lógica de funcionamiento de un cilindro o de un conjunto de cilindros realizando una tarea específica (Creus, 2011).

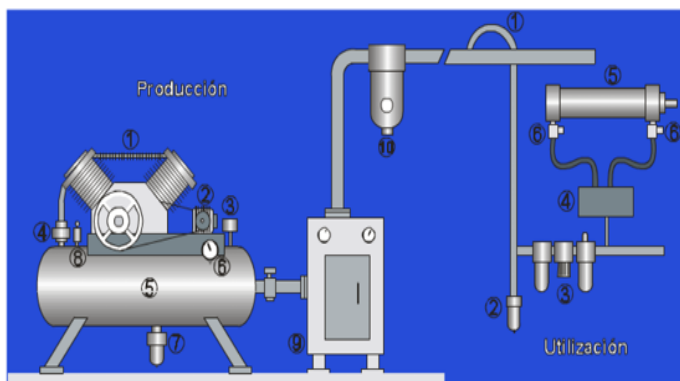


Figura 3.3. Esquema de un sistema neumático básico.

PRODUCCIÓN 1. Compresor, 2. Motor eléctrico, 3. Presostato, 4. Válvula antirretorno, 5. Depósito, 6. Manómetro, 7. Purga automática, 8. Válvula de seguridad, 9. Secador de aire refrigerado, 10. Filtro de línea. **UTILIZACIÓN** 1. Purga de aire, 2. Purga automática, 3. Unidad de acondicionamiento de aire, 4. Válvula direccional, 5. Actuador, 6. Controladores de velocidad.

En la actualidad, en la industria encontramos una gran cantidad de aplicaciones debido a la simplicidad de su aplicación y a sus bajos costos de instalación. Se podría decir que todo tipo de industria tiene una instalación de aire comprimido (Poveda, 2007), por ejemplo, para la inmersión temporal se han establecido recipientes especiales y también se han creado sistemas con elementos convencionales de un laboratorio en cualquier caso el desplazamiento del medio líquido se realiza con el uso de aire comprimido (Mulet, 1999). El funcionamiento del sistema de inmersión temporal (SIT) automatizado consiste en colocar los explantes sobre un disco dentro del biorreactor, posteriormente una sobrepresión de aire estéril sube el medio de cultivo a la parte alta donde se encuentran los explantes. El aire inyectado permite la oxigenación del medio pues el aire de la parte alta se renueva totalmente. Posteriormente la bomba de aire se apaga y el medio de cultivo vuelve a bajar por gravedad a la parte inferior (CIRAD, 2001).

La aplicación a escala comercial de las técnicas de micropropagación se ha visto limitada por factores tales como las bajas tasas de multiplicación, calidad de los explantes y altos costos ocasionados por el uso intensivo de mano de obra en las etapas de multiplicación y enraizamiento (Castro *et al*, 2002).

La mecanización y automatización de los procesos de micropropagación pueden aportar una solución para superar la limitación que significa la intensiva labor de las técnicas convencionales de propagación de plantas (Levin *et al.*, 1988).

Por lo anterior, la automatización de una o más etapas de los procesos de micropropagación es una opción para la reducción de costo de manipulación, reducción del espacio e incremento de volúmenes de producción (Aharoni, 2002).

3.4 Controlador lógico programable (PLC)

Los sistemas de inmersión temporal (SIT) se sustentan en el uso de biorreactores automatizados que permiten el escalamiento para propagación masiva de especies vegetales en medio líquido. El mecanismo de estos sistemas consiste básicamente en la exposición intermitente del medio de cultivo líquido con los explantes bajo un tiempo y frecuencia de inmersión determinada y controlada por PLCs que regulan un período de tiempo establecido (Ziv, 2000).

Un PLC es un sistema de control basado en un microprocesador y los elementos necesarios para que este microprocesador opere de forma conveniente, pues el PLC es un elemento de control de procesos de propósito general amoldable a prácticamente todas las situaciones en las que se requiera una automatización siendo una máquina diseñada para controlar en tiempo real y en entornos industriales procesos de naturaleza combinatorial y secuencial (Domingo et. al, 2003).

El principio de funcionamiento en los sistemas de inmersión intermitente se basa en la posibilidad de absorción de nutrientes y otras sustancias por las plantas *in vitro*, durante períodos alternados de inmersión en el medio de cultivo líquido y posterior permanencia en el recipiente sin el medio de cultivo, este proceso de nutrición alternativa suministra los elementos necesarios al material vegetal e incrementa notablemente la oxigenación del medio interno, lo cual influye positivamente en el crecimiento y multiplicación de las plantas. La frecuencia y duración de los períodos de inmersión pueden ir desde 4 períodos de inmersión por 15 min diariamente, hasta 1 período de inmersión de 1 min generalmente (Mulet, 1999).

Para controlar este proceso es necesario el uso de un sistema que controle las variables fundamentales del proceso. La eficiencia de un proceso independientemente

de su naturaleza depende del control de sus variables fundamentales, las cuales se definen como condiciones que están sujetas a cambios, ya sea en los materiales del proceso o en los equipos y por esto el mantenimiento del control de este en su totalidad es parte muy importante del diseño.

Para diseñar las estructuras de instrumentación y control automático del sistema se deben considerar las siguientes variables:

1. Tiempo de repetición.
2. Tiempo de permanencia.
3. Tiempo de ejecución.

Es por ello por lo que se hace uso de PLC dentro de algunos Sistemas de Inmersión Temporal, ya que es un dispositivo que opera digitalmente, utiliza una memoria para el almacenamiento interno de instrucciones con el fin de implementar funciones específicas tales como: lógica, registro, control de tiempos, operación de manera secuencial y cíclica, es decir, una vez finalizado el recorrido completo de un programa comienza a ejecutar su primera instrucción (Hernández *et al.*, 2011).

3.5 Contaminantes durante micropropagación de plantas

Una de las condiciones básicas que se requieren para la micropropagación es la asepsia, es decir la ausencia en el sistema de cualquier organismo contaminante que pudiera afectar los resultados o incluso matar el tejido vegetal cultivado. Por desgracia, la contaminación de los cultivos propagados *in vitro* es un fenómeno frecuente, que se ve facilitado por el hecho de que se utilizan medios muy ricos en nutrientes en los cuales pueden prosperar una muy amplia gama de microorganismos (Molphe-Balch *et al.*, 1999). La contaminación microbiana (Figura 3.4) es uno de los problemas más graves en la micropropagación de especies vegetales en el mundo, se producen cuantiosas pérdidas de material tanto en la micropropagación comercial como en los trabajos de investigación (Digonzelli, 2005).



Figura 3.4. Contaminación microbiana en micropropagación *in vitro* (FIA, 2009).

En la micropropagación de la caña de azúcar, por ejemplo, la contaminación bacteriana produce grandes pérdidas directas e indirectas como: reducción de la tasa de multiplicación, inhibición del enraizamiento y muerte de plantas en todas las etapas del proceso (Alvarado, 1999). Trabajos realizados en Cuba (Acosta, 1999) demostraron que en la fase de establecimiento *in vitro* las bacterias son responsables del 15 al 34 % de las pérdidas.

Existen dos fuentes probables de contaminación para los cultivos; aquella que proviene de los instrumentos utilizados y las condiciones en que se manipula los mismos y segundo, aquella que proviene del explante mismo siendo esta más difícil de controlar (Molphe-Balch *et al.*, 1999).

3.6 Formas de combatir la contaminación *in vitro*

Es indispensable evitar la contaminación con microorganismos para lograr el éxito en el establecimiento, incubación y manipulación del tejido *in vitro*, ya que éstos pueden destruir los explantes, retrasar su desarrollo al competir con ellos o generar modificaciones en el medio que afectan negativamente su sobrevivencia y desarrollo (Sanchez *et al.*, 2004).

Los hongos y bacterias son los microorganismos más comunes que se encuentran sobre o en los tejidos vegetales. Para eliminar la contaminación bacteriana durante la

propagación *in vitro*, se han desarrollado diferentes métodos en los últimos años (Barrett y Cassells 1994; Hussain *et al.*, 1994). Uno de ellos es realizar todas las manipulaciones que implique la exposición de los tejidos o del medio de cultivo en área axénica, siendo lo ideal trabajar en una campana de flujo laminar. Así también esterilizar todos los implementos utilizados para la manipulación de los tejidos antes de hacer uso de ellos. Los frascos o recipientes de cultivo deben permanecer sellados en un ambiente libre de polvo y de corrientes de aire durante el período de incubación (Molphe-Balch *et al.*, 1999).

Los antibióticos se utilizan comúnmente en el medio para eliminar los contaminantes no deseados en los sistemas de micropropagación (Smart *et al.* 1995). En teoría puede parecer que todos los problemas de contaminación podrían ser superados por la incorporación de uno o más antibióticos al medio de cultivo. Sin embargo, los antibióticos son frecuentemente fitotóxicos por lo que pueden retardar o incluso inhibir el crecimiento de los tejidos vegetales. Además, la exposición prolongada de células o tejidos a los antibióticos puede resultar en el desarrollo de la resistencia a través del cambio genético (mutación). La mayoría de los antibióticos, han mostrado efectos inhibidores del crecimiento en plantas (Pankhurst 1977). Se ha reportado que el uso de antibióticos en los medios inhibe tanto la multiplicación como el enraizamiento de los brotes (Leifert *et al.*, 2000).

La contaminación bacteriana durante el cultivo *in vitro* de segmentos internodales maduros de plantas madre cultivadas en invernadero es generalmente responsable de la pérdida de los explantes cultivados en un medio libre de antibióticos. Sin embargo, la adición de antibióticos a los medios de cultivo requiere de una cuidadosa evaluación de sus efectos sobre la regeneración de las plantas, ya que varios informes han demostrado que podían tener efectos positivos o negativos sobre la morfogénesis *in vitro* (Costa *et al.*, 2000; Tang *et al.*, 2004; Mendes, 2009).

Por lo tanto, es necesario evaluar los efectos de la concentración de los productos químicos sobre la regeneración *in vitro* de plantas, con el fin de aclarar la relación entre la concentración y el efecto fitotóxico de los productos químicos (Ferreira *et al.*, 2003).

IV. PROBLEMÁTICA

La propagación *in vitro* de plantas se ha consolidado como una herramienta fundamental en la biotecnología vegetal para la multiplicación de especies de alto valor agrícola, hortícola y de conservación. Sin embargo, los métodos convencionales presentan limitaciones significativas que afectan la eficiencia y la calidad del material vegetal obtenido, entre los principales desafíos se encuentran la hiperhidricidad, la acumulación irregular de nutrientes y la elevada incidencia de contaminaciones microbianas en sistemas estáticos, lo que repercute en la viabilidad y uniformidad de los explantes. Además, los sistemas de inmersión continua, aunque mejoran la distribución de los componentes del medio, pueden provocar estrés físico en las plantas debido al contacto prolongado, afectando su crecimiento y desarrollo.

La carencia de diseños estandarizados y adaptables para la inmersión temporal genera una brecha en la aplicación de esta tecnología a nivel comercial e investigativo, dificultando una optimización que garantice tanto la homogeneidad en la exposición al medio como la reducción de costos operativos. Este escenario se agrava ante la creciente demanda de técnicas de micropropagación que aseguren resultados reproducibles y de alta calidad, indispensables para proyectos de reforestación, producción de cultivos libres de enfermedades y conservación de especies en peligro. Así, se evidencia la necesidad de desarrollar un sistema innovador de inmersión temporal que permita controlar de manera precisa los intervalos de exposición y descanso de los explantes, minimizando el impacto negativo de la hiperviscosidad y otros factores adversos, y facilitando su implementación en diferentes escalas de producción.

V. JUSTIFICACIÓN

El cultivo *in vitro* es una herramienta clave en biotecnología y agricultura, ya que permite la producción controlada y eficiente de plantas en un ambiente libre de contaminantes. Dentro de este proceso, los biorreactores de inmersión temporal juegan un papel fundamental, al optimizar la oxigenación, mejorar la disponibilidad de nutrientes y reducir el uso de espacio y recursos. Gracias a su capacidad para producir grandes volúmenes de material vegetal de manera uniforme, estos sistemas son esenciales para la propagación masiva de cultivos con alto valor comercial y científico.

La implementación de un sistema de inmersión temporal para la propagación *in vitro* de plantas ofrece ventajas sustanciales que responden a la necesidad de superar las limitaciones de los métodos tradicionales. Este sistema permitirá una distribución homogénea y controlada de nutrientes, hormonas y otros componentes esenciales del medio de cultivo, lo que se traduce en una mayor tasa de éxito en la regeneración y multiplicación de explantes. Al optimizar los períodos de inmersión y aireación, se reducirá notablemente la incidencia de hiperhidricidad y estrés mecánico, promoviendo el desarrollo saludable y vigoroso de las plantas.

Asimismo, el diseño propuesto se plantea como una solución económica y adaptable, facilitando su integración tanto en laboratorios de investigación como en instalaciones de producción a gran escala. La estandarización de este método contribuirá a generar protocolos replicables, impulsando la transferencia de tecnología y fortaleciendo la competitividad de los sectores agrícolas y de biotecnología vegetal. Además, al aumentar la eficiencia de la propagación *in vitro*, se potenciará la disponibilidad de plantas libres de patógenos y con mayor uniformidad genética, aspectos cruciales para la producción de cultivos sostenibles y la conservación de la biodiversidad.

En resumen, el desarrollo de este sistema innovador no solo representa un avance tecnológico en el ámbito de la micropropagación, sino que también responde a

demandas prácticas y económicas del sector, justificando así la inversión en investigación y el potencial impacto positivo en la agricultura moderna y la conservación de especies. En este contexto, es fundamental diseñar y construir un biorreactor de inmersión temporal, con el objetivo de mejorar la eficiencia del cultivo in vitro mediante un sistema automatizado y optimizado. La implementación de este tipo de biorreactor permitirá un mejor control de las condiciones ambientales, asegurando una mayor tasa de éxito en la propagación de plantas. Además, un diseño escalable y modular facilitaría su adaptación a distintos escenarios de producción, promoviendo la innovación y contribuyendo al desarrollo sostenible de la biotecnología aplicada a la agricultura.

VI. OBJETIVOS

6.1 Objetivo general

Diseñar y construir un biorreactor automatizado (Sistema de Inmersión Temporal de tipo frascos gemelos) para la propagación de plantas *in vitro*.

6.2 Objetivos específicos

- Desarrollar e implementar un sistema informático para gestionar y controlar de manera eficiente cada módulo del biorreactor (SIT), así como el sistema de iluminación.
- Implementar el sistema de aireación, incorporando mecanismos que regulen la presión y aseguren el flujo de aire estable y eficiente, para garantizar ciclos precisos de inmersión y drenaje, evitando acumulación de presión.
- Implementar un sistema modular de control de fotoperíodo que permita programar de manera independiente distintos entornos lumínicos y periodos de iluminación, optimizando las condiciones para el desarrollo del cultivo *in vitro*.
- Evaluar la funcionalidad del sistema de biorreactores en la propagación de plantas *in vitro*.

VII. HIPÓTESIS

La implementación de un sistema de aireación con aspiración neumática en biorreactores (SIT-frascos gemelos) favorecerá la propagación de plantas vigorosas, saludables y de mayor tamaño en un corto periodo. Además, optimizará el uso de componentes en comparación con los modelos convencionales, lo que contribuirá a la reducción de costos.

VIII. MÉTODOS

8.1 Ubicación del proyecto

El presente trabajo se llevó a cabo en el cuarto de cultivo del Instituto Tecnológico de Tlajomulco de Zúñiga (ITTJ), Km 10 carr Tlajomulco, Cto. Metropolitano Sur, 45640 Tlajomulco de Zúñiga, Jal, México. Este municipio forma parte de la Zona Metropolitana de Guadalajara y se encuentra aproximadamente a 20 km al sur del centro de la ciudad de Guadalajara.

8.2 Desarrollo e implementación del sistema informático para la gestión y control de cada módulo del biorreactor (SIT)

8.2.1 Hardware

Para los módulos controladores se seleccionó la placa ESP32-S3 para la modularización de las líneas de los biorreactores, esta elección evita un punto único de fallo, simplifica y reduce las distancias de conexiones entre los módulos y las electroválvulas y reduce los tiempos de mantenimiento.

Para el centro de control, se seleccionó una placa Orange Pi 5, la cual se implementó junto con una pantalla táctil de 7 pulgadas para facilitar su manejo sin necesidad de periféricos adicionales. A esta placa se le instaló un sistema operativo basado en Linux, permitiendo la configuración e instalación del software de control necesario para su funcionamiento.

8.2.2 Tecnologías

Se consideraron solo lenguajes de alto nivel para la aplicación de control, considerando el código C/C++ para la interacción con los sensores en la placa ESP32-S3, de los módulos de control.

8.2.3 Programación de los módulos

8.2.3.1 Preparación del entorno

Para la programación del ESP32-S3, se requiere de ciertas herramientas de software y hardware:

- **ESP-IDF:** Framework oficial de ESPRESSIF para desarrollo de aplicaciones complejas en ESP32. Incluye soporte para C/C++ y características avanzadas.
- **Esptool:** Herramienta de línea de comandos para depurar y flashear el firmware al ESP32-S3.
- **Visual Studio Code:** Se utiliza como IDE junto con la extensión ESP-IDF.
- **ESP32-S3 Dev Kit:** Placa de desarrollo.
- **Conexión USB-C:** Se usa para conectar la placa de desarrollo para cargar el firmware y monitorear el puerto serial.

8.2.3.2 Librerías usadas

esp_wifi.h

- Proporciona la interfaz de programación para configurar y gestionar la conectividad Wifi en los microcontroladores ESP32.
- Inicialización y configuración del Wifi:
 - `esp_wifi_init()`: Inicializa la interfaz Wifi.
 - `esp_wifi_set_mode()`: Configura el modo de operación (STA, AP o ambos).
 - `esp_wifi_start()`: Inicia el módulo Wifi.
 - `esp_wifi_stop()`: Detiene la interfaz Wifi.

esp_http_server.h

- Permite crear un servidor HTTP ligero en microcontroladores ESP32. Es ideal para aplicaciones como servidores web embebidos, APIs REST y control remoto a través de la web.
- Inicialización del servidor
 - `httpd_start()`: Inicia el servidor HTTP.
 - `httpd_stop()`: Detiene el servidor HTTP.
- Registro de manejadores de solicitudes

- `httpd_register_uri_handler()`: Registra una ruta (URI) con un manejador de eventos.
- Envío y recepción de datos
 - `httpd_resp_send()`: Envía una respuesta HTTP.
 - `httpd_req_recv()`: Recibe datos enviados en una solicitud.

freertos/FreeRTOS.h

- Sistema operativo en tiempo real FreeRTOS, utilizado en ESP32 y otros microcontroladores.
- Gestión de tareas:
 - `xTaskCreate()`: Crea una tarea.
 - `vTaskDelete()`: Elimina una tarea.
 - `vTaskDelay()`: Suspende una tarea por un tiempo determinado.
- Colas de mensajes:
 - `xQueueCreate()`: Crea una cola.
 - `xQueueSend()`: Envía datos a una cola.
 - `xQueueReceive()`: Recibe datos de una cola.
- Semáforos y sincronización:
 - `xSemaphoreCreateBinary()`: Crea un semáforo binario.
 - `xSemaphoreTake()`: Toma un semáforo.
 - `xSemaphoreGive()`: Libera un semáforo.
- Timers de software:
 - `xTimerCreate()`: Crea un temporizador.
 - `xTimerStart()`: Inicia un temporizador.

driver/gpio.h

- Librería del ESP-IDF que permite el control de los pines GPIO en ESP32.
- Configuración de pines:
 - `gpio_set_direction(pin, modo)`: Configura un pin como entrada (GPIO_MODE_INPUT) o salida (GPIO_MODE_OUTPUT).
 - `gpio_set_pull_mode(pin, modo)`: Activa resistencias internas (GPIO_PULLUP_ONLY, GPIO_PULLDOWN_ONLY).
- Lectura y escritura:

- `gpio_set_level(pin, valor)`: Escribe un 1 (HIGH) o 0 (LOW) en un pin de salida.
- `gpio_get_level(pin)`: Lee el estado de un pin de entrada.
- Interrupciones:
 - `gpio_set_intr_type(pin, tipo)`: Configura interrupciones (GPIO_INTR_POSEDGE, GPIO_INTR_NEGEDGE).
 - `gpio_install_isr_service(0)`: Habilita el servicio de interrupciones.
 - `gpio_isr_handler_add(pin, handler, arg)`: Registra un manejador de interrupciones.

8.2.3.3 Flujo del código

Conexión Wifi con IP estática

- El ESP32-S3 intenta conectarse a una red Wifi usando las credenciales proporcionadas.
- Se configura una dirección IP estática para garantizar que el dispositivo mantenga siempre la misma IP.
- Si no logra conectarse, el código imprime mensajes por el puerto serial hasta que la conexión sea exitosa.

Control de relés

- Se configuraron los pines de los relés (relay1Pin, relay2Pin, relay3Pin, relay4Pin) como salidas.
- Al iniciar el programa, se desactivan todos los relés enviando un estado lógico alto (HIGH), lo que hace que se apaguen.

Servidor HTTP

- El servidor se inicializa para escuchar solicitudes HTTP en el puerto 1337.
- Se programaron varios endpoints:
 - */health*: Responde con “Healthy” para verificar el estado del dispositivo.
 - */data*: Devuelve la dirección MAC e IP del ESP32-S3 en formato JSON.
 - */lightInteraction*: Permite encender o pagar un relé específico para las luces blancas y de color, según los parámetros enviados.

- */startAction*: Controla los intervalos de activación y desactivación del sistema de aireación.

Gestión de las solicitudes

- Se programó la función `getQueryParam()`, que extrae los parámetros de las solicitudes GET que recibe el ESP32-S3 para poder determinar las acciones a realizar.
- El programa envía respuestas HTTP al cliente con códigos de estado (200 para éxito, 400 para error o 404 en caso de que el endpoint no exista).

8.2.3.4 Compilación y flasheo

Para la compilación del programa se utiliza la extensión ESP-IDF en Visual Studio Code, seleccionando la opción Build o con el comando *idf.py build*:

Para el flasheo del ESP32-S3:

- Se selecciona la placa en este caso es la ESP32-S3.
- Se conecta la placa al equipo de cómputo.
- Se selecciona el puerto COM en el que se encuentra conectada la placa.
- Se selecciona el método de flasheo en nuestro caso es UART.
- Se selecciona la opción de flasheo y monitoreo o con el comando *idf.py flash*.

8.2.4 Diagrama del módulo controlador

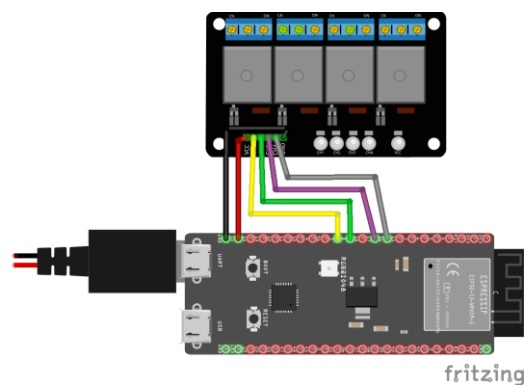


Figura 8.1. Diagrama de módulo

8.2.5 Diagrama del sistema general

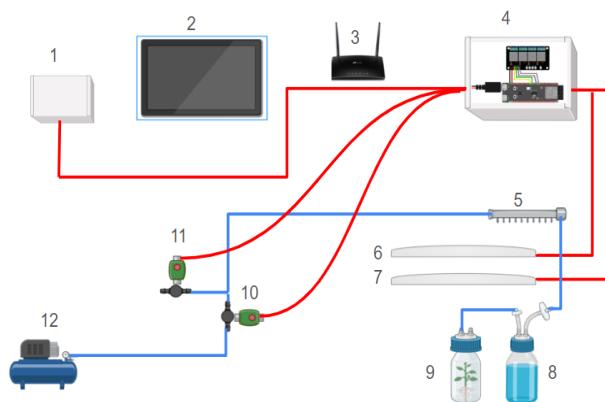


Figura 8.2. Diagrama del sistema

(1) Alimentación principal. (2) Computadora. (3) Router. (4) ESP32-S3 y Relé. (5) Manifold. (6) Lámparas led luz fría. (7) Lámparas led color (8) Recipiente con los nutrientes. (9) Recipiente con la planta. (10) Válvula de inyección. (11) Válvula de alivio. (12) Compresor

8.3 Implementación del sistema de aireación, con la incorporación de mecanismos que regulan la presión y aseguran el flujo de aire estable y eficiente.

8.3.1 Sistema de aireación

Como se muestra en la figura 8.3 el sistema de aireación suministra aire desde el compresor hasta la válvula de inyección. Está, a su vez dirige el flujo de aire hacia el bloque manifold, el cual distribuye uniformemente la presión en todas sus salidas. El aire pasa a través de los filtros y entra al recipiente por una de sus vías, mientras que, por la otra, el medio de cultivo es desplazado hacia el recipiente que contiene las plantas.

Después de un tiempo determinado, se activa la válvula de alivio, permitiendo el retorno del medio de cultivo al recipiente original. De esta manera, se restablece el equilibrio de presión entre ambos recipientes, de esta manera se hace el efecto del equilibrio de presión de los dos recipientes.

8.3.2 Diagrama de sistema de aireación

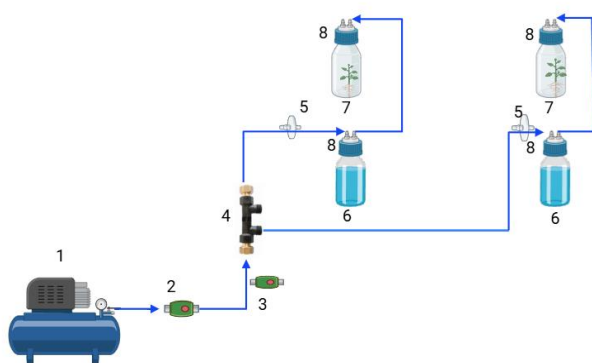


Figura 8.3. Diagrama de sistema de aireación

(1) Compresor. (2) Válvula de inyección. (3) Válvula de alivio. (4) Manifold. (5) Filtros. (6) Recipiente con los nutrientes. (7) Recipiente con la planta. (8) Tapas de dos vías.

8.4 Implementación del sistema modular de control de fotoperíodo que permite programar de manera independiente distintos entornos lumínicos y periodos de iluminación.

8.4.1 Sistema de fotoperíodo

El fotoperíodo en las plantas suele ser de 16 horas de luz seguidas de 8 horas de oscuridad, aunque puede variar según la estación del año. Durante el invierno, los días son más cortos, mientras que en primavera la exposición a la luz se prolonga, lo que influye en el crecimiento y desarrollo de las plantas.

Para la iluminación, se seleccionaron dos tipos de lámpara, la primera de espectro completo con tres configuraciones de color (violeta, rojo y violeta-rojizo) y la segunda luz led de color blanco.



Figura 8.4. Diagrama de sistema de fotoperíodo.

(1) Lámpara luz led blanca.
(2) Lámpara luz led espectro completo.

8.4.2 Diagrama de conexión del sistema de fotoperíodo con el módulo controlador

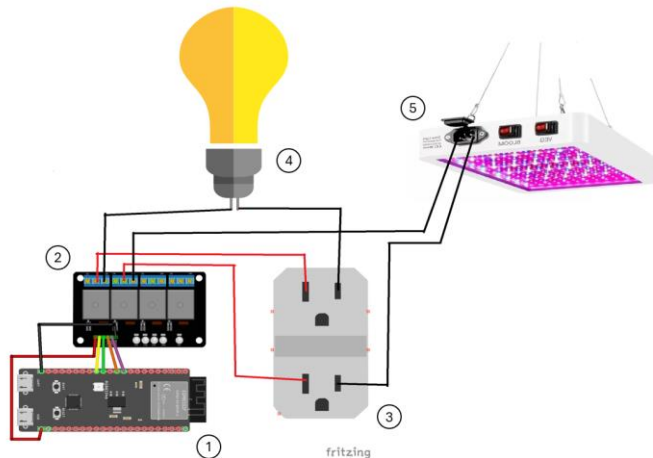


Figura 8.5. Diagrama de conexión del sistema de fotoperíodo con el módulo controlador.

(1) ESP32-S3. (2) Módulo de relés. (3) Tomacorriente 120V. (4) Lámpara led blanca. (5) Lámpara de espectro completo

8.5 Evaluación de funcionalidad del sistema de biorreactores en la propagación de plantas in vitro

Para evaluar la funcionalidad del biorreactor de inmersión temporal diseñado, se estableció un experimento en el que se evaluó la supervivencia de las plantas in vitro.

8.5.1 Selección del material vegetal

Se utilizaron explantes de nudos de *Dioscorea sp.* obtenidos de cultivos in vitro previamente establecidos en el laboratorio. Los explantes fueron seleccionados en función de su tamaño, vigor y ausencia de contaminantes.

8.5.2 Condiciones experimentales

Las plantas fueron cultivadas en el biorreactor bajo las siguientes condiciones controladas:

Prueba 1

- Los segmentos nodales son transferidos a las condiciones y medio de cultivo MS (Murashige, and Skoog, 1962). En el medio se emplean las sales del medio MS y las vitaminas L2 (Phillips y Collins, 1979) suplementado con 3% de sacarosa, 2.5g L⁻¹ de gelrite y 0.5mg L⁻¹ de BAP. El medio es ajustado a un pH de 5.8 con NaOH después se esteriliza (15 min a 121°C). Los explantes se subcultivan cada 30 días

en contenedores de vidrio con capacidad de 125mL con 25mL de medio de cultivo y se mantienen en un fotoperiodo de 8 h luz (violeta-rojizo) a 27°C.

- Ciclo de inmersión: Se programaron inmersiones de 10 segundos cada 6 horas, con una presión de 10 psi.

Prueba 2

- Los segmentos nodales son transferidos a las condiciones y medio de cultivo MS (Murashige, and Skoog, 1962). En el medio se emplean las sales del medio MS y las vitaminas L2 (Phillips y Collins, 1979) suplementado con 3% de sacarosa, 2.5g L⁻¹ de gelrite y 0.5mg L⁻¹ de BAP. El medio es ajustado a un pH de 5.8 con NaOH después se esteriliza (15 min a 121°C). Los explantes se subcultivan cada 30 días en contenedores de vidrio con capacidad de 125mL con 25mL de medio de cultivo y se mantienen en un fotoperiodo de 8 h luz (color rojo) a 27°C.
- Ciclo de inmersión: Se programaron inmersiones de 3 segundos cada 8 horas, con una presión de 5 psi.

Prueba 3

- Los segmentos nodales son transferidos a las condiciones y medio de cultivo MS (Murashige, and Skoog, 1962). En el medio se emplean las sales del medio MS y las vitaminas L2 (Phillips y Collins, 1979) suplementado con 3% de sacarosa, 2.5g L⁻¹ de gelrite y 0.5mg L⁻¹ de BAP. El medio es ajustado a un pH de 5.8 con NaOH después se esteriliza (15 min a 121°C). Los explantes se subcultivan cada 30 días en contenedores de vidrio con capacidad de 125mL con 25mL de medio de cultivo y se mantienen en un fotoperiodo de 8 h luz (color blanco) a 27°C.
- Ciclo de inmersión: Se programaron inmersiones de 3 segundos cada 10 horas, con una presión de 5 psi.

8.5.3 Variables evaluadas

Para determinar la eficiencia del biorreactor, se midieron las siguientes variables durante un período de (días/semanas de cultivo):

- Índice de vitrificación: Porcentaje de plantas con síntomas de hiperhidratación.

- Supervivencia y viabilidad: Evaluación del porcentaje de explantes viables al final del cultivo.

IX. RESULTADOS

9.1 Desarrollo e implementación del sistema informático para la gestión y control de cada módulo del biorreactor (SIT)

9.1.1 Integración de la red local

- Se instaló un router Wifi (*Figura 9.1*) dentro del laboratorio donde opera el sistema biorreactor, garantizando que toda la red de dispositivos ESP32-S3 y el control central (Orange Pi) estén conectados a una red local estable.



Figura 9.1. Router

- Se asignaron direcciones IP de manera estática en cada controlador ESP32 asegurando que siempre tengan la misma dirección IP en la red y evitar problemas de conectividad.
- Se previó la posibilidad de agregar más módulos en el futuro. Por lo tanto, la red local se diseñó para que fuera escalable, lo que permite agregar dispositivos sin necesidad de cambios significativos en la estructura de la red.

9.1.2 Hardware

El microcontrolador ESP32-S3 interpreta las peticiones HTTP que recibe del centro de control y genera señales de control hacia los relevadores para activar dispositivos de potencia, en este caso, electroválvulas y equipos de iluminación.

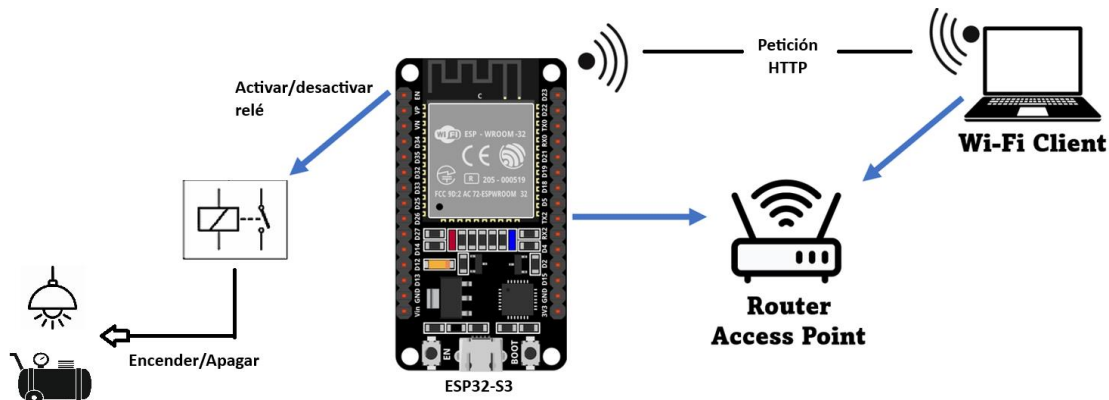


Figura 9.2. Diagrama de petición HTTP de centro de control a módulo controlador.

9.1.3 Sistema eléctrico

- Se realizó un esquema de cableado modular, asegurando la separación entre líneas de alta potencia y las señales de control de baja potencia. Esto permite que en caso de una falla o sobrecarga sólo el módulo afectado sea restablecido sin comprometer el resto del sistema.
- Se implementaron módulos relés compatibles con cargas AC y DC para garantizar el control eficiente de las electroválvulas y luces como se muestra en la figura 9.3A.

9.1.4 Sistema de control

- A la placa Orange Pi se le instaló el software de control y se realizó la configuración necesaria para su manejo.
- Se integraron dos estaciones de control modular como se muestra en la figura 9.3B, cada estación integra dos microcontroladores ESP32-S3 junto con su módulo de cuatro relés para conectar las luces blancas, luces de color y las dos válvulas del sistema de aireación.

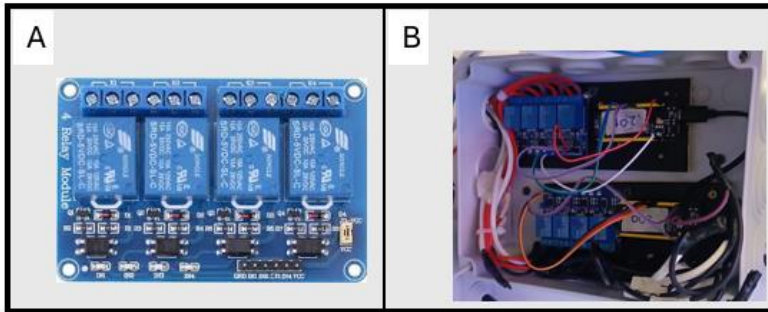


Figura 9.3. Sistema eléctrico y de control.

A) Módulo relés, B) Estación de control modular.

9.2 Implementación del sistema de aireación, con la incorporación de mecanismos que regulan la presión y aseguran el flujo de aire estable y eficiente.

9.2.1 Desarrollo del sistema de aireación

Se seleccionaron las ubicaciones de los biorreactores y se determinó la disposición de cada uno. Se decidió utilizar dos racks, cada uno con cuatro separaciones, y unirlos para formar módulos con mayor capacidad de biorreactores.

- Se realizó la Instalación del filtro principal y el regulador de presión junto con las electroválvulas en el rack, esto por cada módulo, en total cuatro.
- Se realizó la instalación en el rack de los cuatro bloques manifold que inyectan aire al frasco donde se encuentra el medio de cultivo. Un bloque manifold por cada módulo. Cada módulo nos permite integrar 8 biorreactores, en total 32 biorreactores.

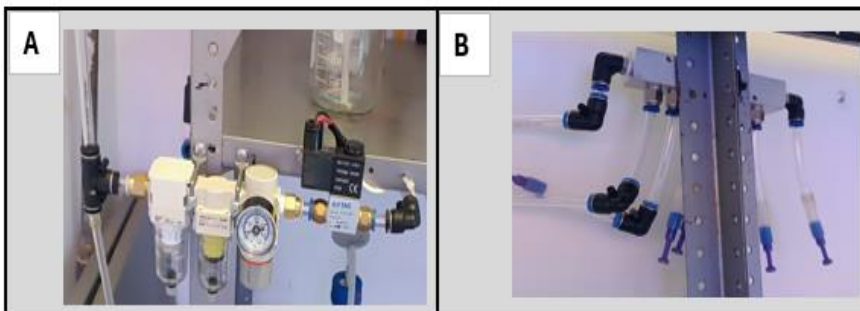


Figura 9.4. Sistema de aireación.

A) Filtro principal, regulador y electroválvulas, B) Bloque Manifold

9.3 Implementación del sistema modular de control de fotoperíodo que permite programar de manera independiente distintos entornos lumínicos y periodos de iluminación.

En la figura 9.5, se muestra la implementación del sistema de iluminación en los biorreactores. En la parte interna, se observa una lámpara LED con luces de distintos colores: violeta, rojo y violeta-rojizo, mientras que en los extremos laterales de cada módulo se encuentran luces LED blancas. En la figura 9.5A, se aprecia la iluminación con luz violeta dentro del módulo; en la figura 9.5B, la luz roja, mientras que en la figura 9.5D, se observa la activación exclusiva de la luz blanca. Por otro lado, en la figura 9.5C se muestra la distribución de las lámparas blancas y de color, con la opción de utilizar ambas simultáneamente.

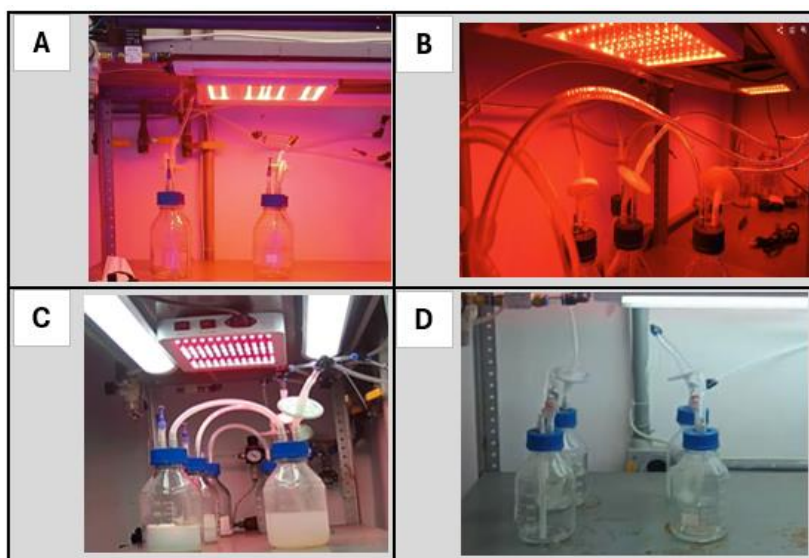


Figura 9.5. Sistema de luces.

A-B) Luz roja, C) Distribución de luces del sistema, D) Luz blanca.

9.4 Evaluación de funcionalidad del sistema de biorreactores en la propagación de plantas in vitro

9.4.1 Prueba 1

En esta prueba, observamos una hiperhidratación debido a que, al momento de transferir el medio de cultivo del frasco de origen al frasco que contenía la planta, ésta permanecía

en contacto con el medio, ya que el líquido no lograba regresar completamente a través de la manguera.

También enfrentamos problemas con la presión de aire, ya que en esta prueba utilizamos una presión de 10 psi y un tiempo de transferencia de 7 segundos y un tiempo de inmersión de 5 segundos. La elevada presión de aire provocó que las hojas de la planta se desprendieron y fueran arrastradas por la manguera hacia el frasco que contiene el medio de cultivo.

Para esta prueba, configuramos un ciclo de iluminación de luz roja, estableciendo 8 horas de luz y 16 horas de oscuridad lo cual no dio resultados favorables.



Figura 9.6. Primera prueba de funcionalidad del sistema biorreactor.

En la imagen A, se observa que la planta presenta hojas de color amarillento y translúcido. No desarrolló raíces ni experimentó crecimiento. En la imagen B, la planta ya no tiene hojas y el tallo muestra un tono amarillento. Tampoco desarrolló raíces, por lo que no hubo crecimiento. En la imagen C, la planta está sin hojas y presenta un color amarillento. Al igual que en los casos anteriores, no desarrolló raíces, lo que impidió el crecimiento.

9.4.2 Prueba 2

En esta prueba, se eligió una base de un material que soporta altas temperaturas para autoclavarlo, este molde es flexible y facilita su entrada por la boquilla del frasco. A estos moldes se les realizaron múltiples orificios en la base para permitir el ingreso y salida del medio de cultivo, exponiendo el explante al medio de cultivo, sin estar en contacto continuo con el mismo. El beneficio que se obtuvo al implementar este molde

fue que el explante permaneció un centímetro elevado del fondo del frasco lo que evitó que el explante estuviera siempre en contacto con el poco medio de cultivo que quedaba en el frasco, evitando así el problema de hiperhidratación.

De igual manera se redujo la presión de aire a 5 psi y se minimizo tanto el tiempo de transferencia (tres segundos), como el tiempo de inmersión (dos segundos), además se programó una frecuencia de transferencia del medio de cultivo de un frasco a otro cada 8 horas. Para esta prueba el sistema de fotoperiodo se programó con un entorno luminoso rojo y con un fotoperiodo de 16h/8h (16 horas luz y 8 de oscuridad). La prueba duró una semana y con estas nuevas variables se obtuvieron plantas con un color más verde y con mayor cantidad de hojas, también se observó un notable crecimiento en las raíces.

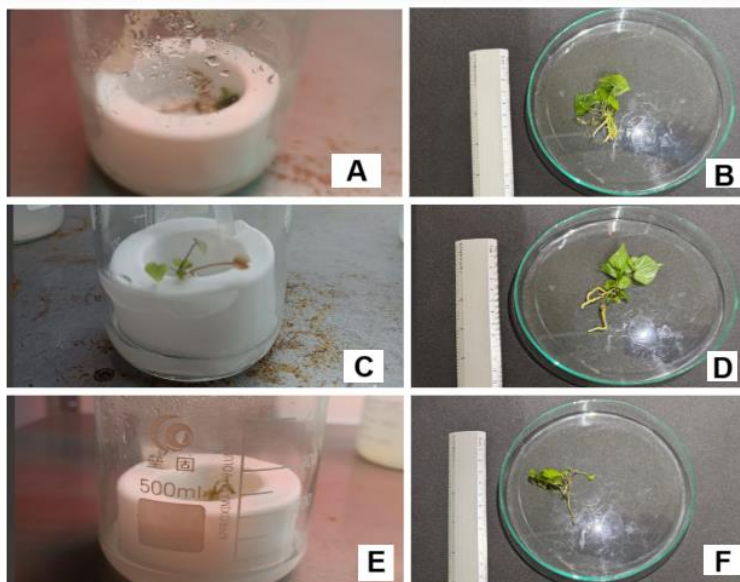


Figura 9.7. Segunda prueba de funcionalidad del sistema biorreactor.

En las imágenes A, C y E se observan los explantes dentro del biorreactor, en las imágenes B, D y F se muestran los mismos explantes fuera de los frascos donde se observa un notable crecimiento en sus raíces y poco porcentaje de vitrificación.

9.4.3 Prueba 3

En esta prueba, al igual que en la segunda prueba se implementaron los mismos moldes. De igual manera se redujo la presión de aire a 5 psi y se minimizo tanto el tiempo de transferencia (tres segundos) y el tiempo de inmersión (dos segundos), en este caso la frecuencia de transferencia que se programó fue de 10 horas. Para esta prueba el

sistema de luces se programó con un fotoperiodo de 16h/8h (16 horas luz y 8 de oscuridad) con luz blanca. Con estas variables se obtuvieron plantas con un color más verde y con mayor cantidad de hojas, y en este caso se observó un menor crecimiento en las raíces.

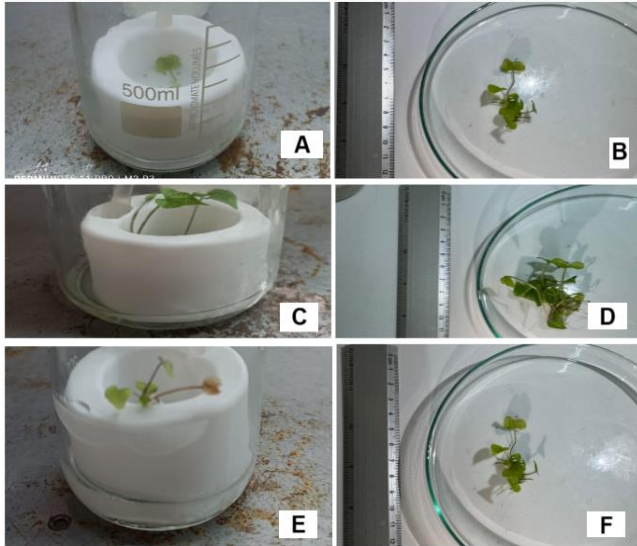


Figura 9.8. Tercera prueba de funcionalidad del sistema biorreactor.

En las imágenes A, C y E se observan los explantes dentro del biorreactor, en las imágenes B, D y F se muestran los mismos explantes fuera de los frascos donde se observa un menor crecimiento en sus raíces y de igual manera poco porcentaje de vitrificación.

X. CONCLUSIONES

La implementación de un sistema modular controlado mediante la aplicación de un módulo central y empleando placas ESP32-S3 independientes por módulo, se evitó un punto único de fallo. Es decir, si un módulo llega a tener una falla, no compromete a los módulos restantes, los cuales continúan con su función. Esto también nos permite llevar a cabo el mantenimiento de manera más rápida y eficiente. Además, se mejoró la eficiencia, ya que, al estar modularizado, el procesamiento que realiza cada módulo controlador es mucho menor.

Se detectó un problema en el sistema de aireación de frascos gemelos tradicional, estos contaban con dos electroválvulas que inyectaban aire de manera bidireccional, lo que impedía la liberación de presión y aumentaba el riesgo de fugas y daños en las piezas de los frascos debido a la acumulación de aire. Para solucionar este problema, se implementó una inyección de aire unidireccional con una electroválvula de alivio conectada a la misma línea de inyección. Este método permite inyectar aire al frasco con el medio de cultivo y realizar el intercambio de este al frasco con la planta, manteniendo una de las salidas bloqueadas para evitar la fuga de aire durante el proceso. Al finalizar el tiempo de inmersión, la electroválvula de alivio se activa, permitiendo que el aire salga y el medio de cultivo regrese al frasco original. Con esta modificación, evitamos el problema de acumulación de presión, garantizando el funcionamiento continuo del sistema y eliminando el riesgo de fugas y daños en las piezas del frasco. Además, se realiza una mejor oxigenación, ya que el aire que se inyecta siempre es nuevo.

El bloque manifold implementado en cada módulo permitió realizar una inyección de aire balanceada para todos los frascos, garantizando que todos los recipientes tengan una distribución uniforme del medio de cultivo. Esta modificación ha mejorado significativamente la eficiencia y el control del sistema de inmersión temporal, optimizando el proceso de micropropagación de plantas.

La implementación del sistema de fotoperiodo fue de gran ayuda para el crecimiento de los explantes. Al usar la lámpara de espectro completo en color rojo, se observó un notable crecimiento en los explantes. Este avance no solo optimizó el desarrollo de los explantes, sino que también mejoró la calidad y uniformidad del crecimiento, lo que es crucial para la micropropagación eficiente de plantas. Además, el uso de la lámpara de espectro completo y la lámpara led blanca, permitió simular condiciones de luz más naturales, favoreciendo la fotosíntesis y el metabolismo de las plantas. En conjunto, estas mejoras tecnológicas han permitido un control más preciso del ambiente de cultivo, resultando en un proceso más robusto y fiable.

XI. REFERENCIAS

- Ambedkar, B. (2024). *Cross Platform Application Development* (1st ed.). Dr. Babasaheb Ambedkar Open University, Ahmedabad. <https://baou.edu.in/assets/pdf/MCA-303%20Cross%20Platform%20Application%20Development.pdf>
- Blum, R. (2022). *Linux Fundamentals*. Jones & Bartlett Learning.
- Castillo, A. (2004). *Propagación de plantas por cultivo in vitro: una biotecnología que nos acompaña hace mucho tiempo*. Unidad de Biotecnología, INIA Las Brujas.
- Chmiel, H., Takors, R., & Weuster-Botz, D. (Eds.). (2018). *Bioprozesstechnik*. Springer Berlin Heidelberg.
- Computer Hope. (2024, 09 19). *What's a Library*. Computer Hope. Retrieved 12 2, 2024, from <https://www.computerhope.com/jargon/l/library.htm>
- ESPRESSIF. (n.d.). *ESP32 Series Datasheet (4.7)*. ESPRESSIF. Retrieved 11 26, 2024, from https://www.espressif.com/sites/default/files/documentation/esp32_datasheet_en.pdf
- Fowler, M. (2004, January 23). *Inversion of Control Containers and the Dependency Injection pattern*. Martin Fowler. Retrieved December 2, 2024, from <https://martinfowler.com/articles/injection.html>
- Gamma, E., Helm, R., Johnson, R., & Vlissides, J. (1995). *Design Patterns*. Addison-Wesley.
- Herve, E., & M, B. (2002). Temporary immersion systems in plant micropropagation. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 69, 215–231.
- Jiménez-Ruiz, E. F., Martínez-Solís, J., Mejía-Muñoz, J. M., Sosa-Montes, E., & Juárez-Hernández, M. d. J. (2023). EL FOTOPERIODO COMO MODULADOR DEL

CRECIMIENTO EN *Dahlia campanulata* SAAR, P. D. SØRENSEN & HJERT. *Fitotec*, 46(1), 77-83. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-73802023000100077

Kumar, M., Muthusamy, A., Kumar, V., & Bhalla-Sarin, N. (Eds.). (2019). *In Vitro Plant Breeding Towards Novel Agronomic Traits: Biotic and Abiotic Stress Tolerance*. Springer Nature Singapore.

Littelfuse. (n.d.). *RELAYS* [Definition, Specifications and Applications]. Littelfuse. [https://www.mouser.com/pdfDocs/LF-Relays-](https://www.mouser.com/pdfDocs/LF-Relays-Whitepaper.pdf?srsId=AfmBOorb7FDXJEelilXGnXtDcE5Fgzl054CEKM4wn0cDZEJM)

[Whitepaper.pdf?srsId=AfmBOorb7FDXJEelilXGnXtDcE5Fgzl054CEKM4wn0cDZEJM](https://www.mouser.com/pdfDocs/LF-Relays-Whitepaper.pdf?srsId=AfmBOorb7FDXJEelilXGnXtDcE5Fgzl054CEKM4wn0cDZEJM)
[QrCq5z_y](https://www.mouser.com/pdfDocs/LF-Relays-Whitepaper.pdf?srsId=AfmBOorb7FDXJEelilXGnXtDcE5Fgzl054CEKM4wn0cDZEJM)

Orange Pi. (n.d.). *Orange Pi 5*. Orange Pi - OrangePi. Retrieved November 26, 2024, from

<http://www.orangepi.org/html/hardWare/computerAndMicrocontrollers/details/Orange-Pi-5.html>

Oviedo Bayas, B., Samaniego Mena, E., & Murillo Oviedo, J. (2018). *Fundamentos de redes* (Primera ed.). Ediciones Grupo Compás.

https://www.researchgate.net/publication/358105030_Libro_de_Fundamentos_de_RED
ES

Palma, C., & Osorio, S. (2018). Tarjetas de Desarrollo: Herramientas para el diseño. *Letras ConCiencia Tecnológica*, 43-52.

Pérez-Urria Carril, E. (2009). Fotosíntesis: Aspectos Básicos. *Reduca (Biología)*, 2(3), 1-47.

PNEUMAX. (n.d.). *Válvulas Electroválvulas* [Información Técnica]. PNEUMAX.

Retrieved 11 26, 2024, from

<https://rodavigo.net/catalogos/PNEUMAX/01%20Introducci%C3%B3n/04%20Informaci%C3%B3n%20t%C3%A9cnica%20III.pdf>

Stallings, W. (2004). *Comunicaciones y redes de computadores* (J. E. Díaz Verdejo, Trans.). Pearson Educación.

Urquía Moraleda, A., Martín Villalba, C., & Rubio González, M. Á. (2011). *LENGUAJES DE PROGRAMACIÓN*. UNED.

Vishal Gupta, N., & Shukshith, K.S. (2016). Qualification of Autoclave. *International Journal of PharmTech Research*, 9(4), 220-226.

Yinong Chen. (2016). *Introduction to Programming Languages: Programming in C C++ Scheme Prolog C# and SOA*. Kendall Hunt Publishing Company.

Castillo, A. (2004). Propagación de plantas por cultivo *in vitro*: una biotecnología que nos acompaña hace mucho tiempo. INIA Divulga. Revista de difusión de tecnología agrícola, pecuaria, pesquera y acuícola, 8. Recuperado el 2018

George, E. (1993). *Plant propagation by tissue culture: The technology*. Somerset: Exegetics.

Damiano, C., Gentile, A., La Starza, S., Fratalleri, A., & Monticelli, S. (2003). Automation in micropropagation through temporary immersion techniques. *Acta Horticulturae*.

Mattos, C. F., & Born, R. M. (2019). PROJETO BLOCO MANIFOLD 15 MIL psis. *Revista Dissertar*, 1(33). <https://doi.org/10.24119/16760867ed115238>

Perez-Molphe-Balch E., R. Ramirez-Malagon, H. Nuñez-Palenius y N. Ochoa-Alejo. 1999. Introduccion al Cultivo de Tejidos Vegetales. Universidad Autonoma de Aguascalientes (ed), Primera edición Mexico. 179 pp

Steward F., Ammirato P., and Mapes M., (1970). Growth and development of totipotent cells; some problems, procedures and perspectives. *Ann. Bot.* 34: 761-787.

Perugorría M. (2013). Desarrollo de una técnica para micropropagación de especies leñosas en biorreactores. (Tesis Maestria). Universidad de la República. URUGUAY.

Etienne H. L., N. Michaux F., P. Carron M., M. Berthouly and C. Teisson. 1997. Improvement of somatic embryogenesis in *Hevea brasiliensis* 32 using the temporary immersion technique. *In vitro Cellular and Developmental Biology Plant* 33: 81–87.

Jones J., and Sluis C. (1991). Marketing of micropropagated plants. In Debergh P and Zimmerman R, (ed), mac Millan New York, p: 141-54

FAO/IAEA (2004). Low cost options for tissue culture technology in developing countries Proceedings of a Technical Meeting organized by the Joint Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture and held in Vienna, 26-30 August 2002 February 2004.

George E. (1993). Plant Propagation by Tissue Culture. Part 1. The Technology. Exegetics Ltd., Edington

Alvard D., F. Cote and C. Teisson. 1993. Comparison of methods of liquid medium culture for banana micropropagation: effects of temporary immersion of explants. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 32: 55–60.

Teisson C. D. and D. Alvard. 1995. A new concept of plant in vitro cultivation liquid medium: temporary immersion. *Current Issues in Plant Molecular and Cellular Biology*. pp: 105 -110.

Etienne H. L., N. Michaux F., P. Carron M., M. Berthouly and C. Teisson. 1997. Improvement of somatic embryogenesis in *Hevea brasiliensis* 32 using the temporary immersion technique. *In vitro Cellular and Developmental Biology Plant* 33: 81–87.

Ziv M. 2005. Simple bioreactors for mass propagation of plants. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 81: 277-285. Ziv M. 2000. Bioreactor technology for plant micropropagation. *Horticulture Review* 24: 1-30.

FIA (Fundación para la Innovación Agraria). (2009). Sistema de Inmersión Temporal en Especies Anuales, Frutales y Vides. Ministerio de Agricultura, Gobierno de Chile. CHILE.

Bello-Bello J. 2012. Reducción de costos y automatización in vitro In: Los Biorreactores en la Micropropagación de Plantas y su Aplicación Comercial (comp.).16-19 de enero. Xalapa, Ver. p. 27.

Bello-Bello E. 2013. Escalamiento en la micropropagación de la orquídea *Myrmecophila tibicinis*, empleando biorreactores de inmersión temporal (BIT). (Tesis Licenciatura). Universidad Veracruzana.

Escalona M. Comunicación personal 2007.

Poveda G. (2007). Modelo matemático y dimensional para el planteamiento óptimo de industrias de procesos. Instituto tecnológico metropolitano. COLOMBIA.

Millán S. (1995). Automatización neumática y electroneumática. NORGREN.16-17.

Creus A. (2011). Neumatica e Hidraulica. Marcombo. ESPAÑA.

Mulet M., De la Cruz G., Otero M., González A., Brito L., y Marañón M. (1999).
Sistemas de Inmersión Temporal Automatizado. Tecnología Química Vol. 19, No. 1. 22-24.

CIRAD. RITA®, temporary immersion system 2001;
<http://www.cirad.fr/produits/rita/es/contact.html>. Consultado el 12 de enero del año 2013 a las 8:00 pm.

Castro, D; Díaz, J y Montoya, N. 2002. Clonal propagation of bananas by biorreactors of temporary immersion. Memorias XV Reunión: Asociación de Bananeros de Colombia AUGURA. Universidad Católica de Oriente, Unidad de Biotecnología. p. 44-48.

Domingo J., Gamiz J., Grau A., Martínez H. (2003). Introducción a los autómatas programables. UOC. ESPAÑA.

Hernández F., Martínez J., y Rodríguez R. (2011). Desarrollo de una metodología para la evaluación de proyectos de automatización de procesos electroneumáticos mediante un autómata programable y una interfaz humano-maquina a través de simulación virtual. (Tesis Licenciatura). Instituto Politécnico Nacional. MEXICO.

P. Digonzelli, L. Díaz y S. Carrizo de Bellone. Uso de PPM (Plant Preservative Mixture) para controlar contaminantes bacterianos en la multiplicación in vitro de caña de azúcar. Rev. Fac. Agron. (LUZ). 2005, 22: 22-32

Acosta, M., Y. Alvarado y A. Flores. 1999. Contaminantes fungosos en la micropropagación de plantas con el uso de la esterilización química de los medios de cultivo. Libro de reportes cortos "Biotecnología Vegetal". 5° Coloquio Internacional de Biotecnología Vegetal: 239-240.

Alvarado, Y., L. Garcia, Y. Martinez, D. Ramirez, T. Pichardo y N. Portal. 1999. Estudio de la influencia de la contaminación bacteriana en la micropropagación de caña de azúcar var. Cuba 87-51. Libro de reportes cortos "Biotecnología Vegetal". 5° Coloquio Internacional de Biotecnología Vegetal: 241-243.

Barrett C and Cassells AC (1994). An evaluation of antibiotics for the elimination of *Xanthomonas campestris* pv. *pelargonii* (Brown) from *Pelargonium x domesticum* cv. 'Grand Slam' explants in vitro. *Plant Cell Tiss Org Cult* 36:169-175

Pankhurst CE (1977). Symbiotic effectiveness of antibiotic-resistant mutants of fast and slow-growing strains of *Rhizobium nodulating* Lotus species. *Canad J Microbiol* 23:1026–1033

Leifert C, Waites B, Keetley JW, Wright SM, Nicholas JR, and WM. Waites. 2000. Effect of medium acidification on filamentous fungi, yeasts and bacterial contaminants in *Delphinium* tissue cultures. *Plant Cell Tiss Org Cult* 42:149-155.

Ferreira J., Palva R., Ibrahim M., Pinto E. (2003). Efficiency of ampicillin and benomyl at controlling contamination of Annonaceae leaf segments cultured in vitro. *Fruits* / Volume 58 / Issue 06 / noviembre 2003, pp 357-361 © CIRAD, EDP Sciences.

Ponsa P., Vilanova R. (2005). Automatización de procesos mediante la guía GEMMA. Edicions de la Universitat Politècnica de Catalunya, SL. Barcelona, ESPAÑA.

Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*. 15: 473-497.

Phillips, GC, Collins, GB1979. Tejidos in vitro cultivo de leguminosas y plantas seleccionadas regeneración a partir de cultivos de callos de rojo trébol. *Ciencia de cultivos*,19:59-64. DOI10.2135/cropsci1979.0011183x001900010014x.Â

XII. ANEXOS

Tabla 1. Tabla de materiales con costos para el prototipo considerando un módulo

Cantidad	Clave	Descripción	Marca	Precio unitario	Precio	IVA
1		Lazmin Pantalla táctil LCD, Pantalla de 7 Pulgadas HDMI 1024x600 Ultra HD para Raspberry Pi 3	pantalla lcd raspberry	\$710,00	\$710,00	\$823,60
1		abierto de frecuencia de 2,4 GHz, mini PC Desktop Run Orange Pi OS, Android12, Debian11 (Pi 5 16GB)	Orange	\$2.351,68	\$2.351,68	\$2.727,95
1		ESP-32	N/A	\$300,00	\$300,00	\$348,00
1		Manifold 7 sal 1/8, 2 sal.1/4npt	N/A	\$340,00	\$340,00	\$394,40
16		Conexion recta macho HEX. 10MM	N/A	\$36,00	\$576,00	\$668,16
24		Codo macho 8MM X 1/4	N/A	\$36,00	\$864,00	\$1.002,24
16		Conexion recta macho HEX. 8MM 1/8	N/A	\$24,00	\$384,00	\$445,44
2		Cinta de teflon 1/2 6,60 metros	N/A	\$10,20	\$20,40	\$23,66
15		Manguera poliuretano 8mm trasparente	N/A	\$22,40	\$336,00	\$389,76
15		Manguera poliuretano 10mm trasparente	N/A	\$37,30	\$559,50	\$649,02
1		Compresor 2.5HP 50L	N/A	\$4.350,00	\$4.350,00	\$5.046,00
1		Rack 4 niveles	N/A	\$2.500,00	\$2.500,00	\$2.900,00
1		SP32	N/A	\$300,00	\$300,00	\$348,00
16		Frasco de 50 ml	N/A	\$164,00	\$2.624,00	\$3.043,84
16		Tapampara birreactor de dos vias	N/A	\$115,00	\$1.840,00	\$2.134,40
2		Lamparas para foto periodos 400	N/A	\$460,00	\$920,00	\$1.067,20
1		Modulo Relé	N/A	\$250,00	\$250,00	\$250,00
1		Caja de conexiones	N7a	\$450,00	\$450,00	\$450,00
2		Lampara de color blanco	N/a	\$115,00	\$230,00	\$266,80
					Total	17,054,84