

Señal Fisieléctrica de semillas *Lens culinaris* en germinación con sustrato de hidrogel y agujas hipodérmicas como electrodos

Physioelectric signal of germinating *Lens culinaris* seeds with hydrogel substrate and hypodermic needles as electrodes

Fuentes Martínez, L.¹, García Duran, A.², Esquivel Felix, R.^{3*}, Rodríguez Abdala, V.⁴, Gómez Rodríguez, J.⁴, Bañuelos García, L.³, Cleve, M.⁵, Liska, D.⁵, Valdez Valdez, E.⁷

¹Maestría en Ingeniería en Innovación Tecnológica, Universidad Autónoma de Zacatecas. Jdn. Juárez #147, Centro Histórico, 98000. Zac.

²Doctor en Ingeniería en Innovación Tecnológica Universidad Autónoma de Zacatecas. Jdn. Juárez #147, Centro Histórico, 98000. Zac.

³Ingeniería en Mecatrónica, Universidad Tecnológica de Tecnológica del Estado de Zacateca, Carr. Zacatecas - Cd Cuauhtémoc Km 5 Ejido, Cieneguitas, Zac

⁴Posgrado en Ingeniería en Innovación Tecnológica Universidad Autónoma de Zacatecas. Jdn. Juárez #147, Centro Histórico, 98000. Zac.

⁵Facultad Regional Resistencia, Universidad Tecnológica Nacional Formación en Tecnología, Resistencia 1900, Argentina

⁶Tecnológico Nacional de México, ITS Fresnillo, Tecnológico #16, Solidaridad, 99010 Fresnillo, Zac. Mexico

⁷Unidad Académica de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Zacatecas. Jdn. Juárez #147, Centro Histórico, 98000. Zac.

*Autor de Correspondencia: resquivel@utzac.edu.mx

Recibido: 28 de enero 2025

Aceptado: 4 de agosto 2025

Resumen

En la actualidad garantizar la seguridad alimentaria es un reto compartido entre instituciones e investigadores especialmente desde el ámbito académico, en este sentido la experimentación en la agricultura moderna busca nuevas formas de incrementar la producción de alimentos nutritivos, mediante técnicas de cultivo sustentables que produzcan frutos sanos sosteniblemente, y con ello reducir efectos nocivos aún inherentes a la producción industrial agrícola tradicional que impactan negativamente en las personas y el medio ambiente. En este sentido, la etapa de germinación en semillas es crucial para el desarrollo de las plantas, por un lado, se pueden potenciar las condiciones óptimas para una producción de plántulas fuertes con vigor y resistencia o, por otro lado, puede comprometerse el desarrollo fisiológico óptimo o incluso perder semillas en condiciones de mejoramiento genético. Desde esta perspectiva se han desarrollado métodos enfocados en mediciones que buscan potenciar la producción tratando de reducir el uso de agroquímicos, como son la caracterización de señales eléctricas. Este estudio busca lograr caracterizar la señal eléctrica de las fases en transformaciones físicas de muestras de semillas *lens culinaris* durante la etapa de germinación, tratando de identificar la señal asociada a la fase de imbibición, y principalmente del nacimiento de la redícula epigea, mediante el muestreo simultáneo en tiempo real del voltaje por periodo de tiempo utilizando un osciloscopio, seguimiento visual remoto y gráfico así como procesamiento computacional de datos para lograr caracterizar la respuesta correspondientes a cada fase en las muestras de semillas. Para poder obtener estos datos fue necesario establecer el uso de semillas abundantes y con alta germinación durante cortos periodos de tiempo. También se diseñó el sistema de medición que pudiera procesar los datos mediante electrodos de bajo costo (agujas hipodérmicas). Entre los resultados preliminares se destaca que las semillas presentan una actividad eléctrica baja en periodo de imbibición pero que puede ser percibida mediante un análisis de frecuencia, también se observan picos gráficos asociados a las transformaciones clave como el surgimiento de la redícula. Por ello, se puede establecer a mediano plazo que este estudio aportara en comprender mejor como es que se relacionan esta actividad eléctrica con los cambios fisiológicos y las señales gráficas que caracterizan a cada fase en la etapa germinativa de semillas, y a largo plazo el efecto que pueden tener estas características en otras etapas del proceso de producción de alimentos a través de mediciones fisieléctricas.

Palabras clave: Germinación, Semillas, lenteja, *lens culinaris*, señal fisieléctrica.

Abstract

Today, ensuring food security is a shared challenge among institutions and researchers, especially in the academic field. In this sense, experimentation in modern agriculture seeks new ways to increase the production of nutritious foods through sustainable cultivation techniques that sustainably produce healthy fruits, thereby reducing the harmful effects still inherent in traditional industrial agricultural production that negatively impact people and the environment. In this sense, the germination stage in seeds is crucial for plant development. On the one hand, it can enhance optimal conditions for the production of strong, vigorous, and resilient seedlings. On

the other hand, it can compromise optimal physiological development or even lead to seed loss under genetic improvement conditions. From this perspective, some studies have developed methods that have yielded good results and are low-cost, such as the characterization of electrical signals associated with variables of physical effects generated in plants. This study aims to characterize the electrical signal of the phases of physical transformations in *Lens culinaris* seed samples during the germination stage. It attempts to identify the signal associated with the imbibition phase, and primarily with the emergence of the epigeal reticulum, by means of simultaneous real-time voltage sampling over time using an oscilloscope, remote visual and graphic tracking, and computational data processing to characterize the response corresponding to each phase in the seed samples. To obtain these data, it was necessary to use abundant seeds with high germination rates for short periods of time. A measurement system was also designed to process the data using affordable, low-cost electrodes (hypodermic needles). Preliminary results indicate that the seeds exhibit low electrical activity during the imbibition period, but this activity can be perceived through frequency analysis as a characteristic signal of this phase. Graphic peaks associated with key transformations such as the emergence of the reticulum are also observed. Therefore, it can be established that in the medium term, this study will contribute to a better understanding of how this electrical activity relates to the physiological changes and graphic signals that characterize each phase of seed germination, and in the long term, the effect these characteristics can have on other stages of the food production process through physioelectrical measurements.

Keywords: Germination, Seeds, lentil, *lens culinaris*, physioelectrical signal.

INTRODUCCIÓN

En años recientes, se están realizando investigaciones acerca de la actividad eléctrica en las plantas, incluso se han logrado avances significativos llegando a caracterizar la respuesta eléctrica en hojas, tallos y raíces ante estímulos externos, resaltando la velocidad a la que viajan largas distancias dentro del organismo [1], incluso más rápidamente que las señales químicas. Estas señales fisioeléctricas son de gran importancia y pueden ayudar a comprender procesos relevantes dentro en los organismos [2]. Algunos estudios documentan la importancia de señales eléctrica en transformaciones fisiológicas de las plantas especialmente la fotosíntesis, que es la base de varios organismos transformando energía lumínica en energía química [3], o la germinación que transforma energía almacenada en embriones para desarrollar nuevas plántulas [4]. En esta etapa inicial, es importante para este estudio, monitorear el desarrollo de la semilla durante cada fase de desarrollo germinativo para medir la actividad eléctrica al transformarse en la plántula y saber cómo influyen las condiciones ambientales de temperatura, luz y humedad en las muestras. Algunos de los resultados obtenidos demuestran que medir la respuesta eléctrica directamente en las plantas en tiempo real puede ser muy útil para anticipar acciones que intervengan en fases fisiológicas clave, y esto podría utilizarse para evitar que las plantas alcancen condiciones extremas de estrés que afecten el desarrollo de sus frutos[5]. Esto es muy útil en

la automatización de la agricultura especialmente en etapas cruciales germinativas como la eclosión durante el surgimiento de la retícula que es la fase de inicio para el desarrollo de las plántulas.








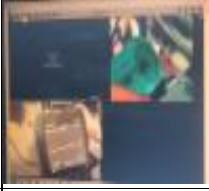


En investigaciones similares relacionadas a la agricultura de precisión, se utilizan tecnología y software libre aplicado en plantas [6], que en relación con el internet de las cosas (IoT) aplicado a diferentes cultivos en Agricultura [7], conforman estudios que permiten el desarrollo de computadoras personales de alimentos para la investigación de medicamentos y biomedicina [8], a través de caracterizar señales eléctricas y su importancia fisiológica en las plantas [9]. En el presente estudio podemos verificar el voltaje durante las transformaciones en fases cruciales de la etapa germinativa que pueden ayudar a comprender la correlación entre factores de desarrollo fisiológico y señal eléctrica. y pueden ser potencialmente útiles para encender dispositivos de Agricultura de Precisión en embriones de semillas para diversos cultivos [10]. Se busca comprobar que cuando se rompe el periodo de letargo, la respuesta eléctrica que generan las semillas de lenteja puede aumentar notablemente e igualmente esta actividad eléctrica se incrementa cuando eclosiona y emerge la retícula, lo que permite buscar pulsos tratando de encontrar ciclos en el tiempo [11].

MATERIALES Y MÉTODOS

Los materiales utilizando en esta investigación son presentados y descritos en la Tabla 1. Además de presentar

gráficamente las características de la semilla, la cápsula de hidrogel y el arreglo experimental utilizado. En dicha tabla se realiza una descripción breve de la utilidad o uso de tal componente.

Tabla 1. Equipo y Materiales para el Sistema de Medición de la señal fisiológica en semillas de Lenteja

Sistema de Medición Fisiológica						
Materiales y Descripción						
1		Semilla <i>Lens culinaris</i>	Semilla de alta germinación	6		Osciloscopio 2C53T Equipo para pruebas y medición de respuesta fisiológica
2		Cápsula hidrogel 17mm	Sustrato adecuado para medición fisiológica	7		Cámara de video Monitoreo visual en tiempo real
3		Agujas Hipodérmicas 25mm	Funcionan como electrodos para medir la respuesta eléctrica en semillas	8		Sistema de medición de respuesta fisiológica Mide la respuesta de <i>lens culinaris</i> en sustrato de hidrogel
4		Modelo 3D con lupa	Plataforma para monitoreo y observación de semilla	9		Sistema de monitoreo Visual Monitoreo de respuesta en tiempo real
5		Osciloscopio DS1052E	Equipo para medir frecuencia fisiológica	10		Recolección y procesamiento computacional de respuesta fisiológica Muestreo y generación de graficas

Métodos de medición de señal fisiológica en semillas de *Lens culinaris*

El método para monitorear la señal eléctrica de la planta consistió en utilizar como factor constante el mismo sistema de monitoreo con dos variantes importantes para medir muestras similares; estas variantes clave constan de dos modelos de Osciloscopios diferentes para medir señales en semillas de lenteja (*lens culinaris*) bajo la

misma configuración [12, 14]. En particular, se establecieron las variables de medición: Amplitud (A), miliVolts (mV) generados en fracciones de segundo 0.5 (t), y periodos de tiempo de 3-7 días (72-168hrs). El modelo de eclosión utilizado se muestra en la Tabla 2.

Mientras que la metodología utilizada para obtener el análisis de la respuesta electrofisiología se presenta en la Tabla 3. En donde se muestra la bitácora de análisis de la respuesta fisiológica.

Tabla 2. Fórmulas de modelo de eclosión y señal eléctrica

$f(t) = \{1 \text{ si } t = 0 \text{ } 0 \text{ si } t \neq 0$	(1)	$f(t) = A \sin \sin (bt + c) + d$	(2)
--	-----	-----------------------------------	-----

Tabla 3. Análisis de la respuesta electrofisiológica en semillas *lens culinaris*.

Bitácora de Análisis Respuesta Fisieléctrica				
Hora	Día	Descripción	Configuración	
18:10	09/04/2025	Configuración del osciloscopio, e inserción de la semilla dentro de una esfera de hidrogel mediante una perforación, dejando un hueco para que haga contacto con el oxígeno simulado los espacios vacíos de los sustratos de tierra comunes.	Vol/div 10mV	Time/div 500mS
17:23	10/04/2025	Se insertan dos agujas de 25 mm como electrodos dentro del hidrogel para tener contacto suave con las paredes de la semilla Vp-p promedio 10mV 7.07rmsV.	Aguja Hipodérmic a	25mm
15:43	11/04/2025	La muestra se mantiene hidratada mediante una plataforma a medida impresa en 3D, facilitando las pruebas de estímulos eléctricos con perturbaciones mecánicas en la esfera de hidrogel con la semilla dentro.		
23:09	12/04/2025	Se mantiene el monitoreo mediante el osciloscopio durante la eclosión de la semilla.	60mV	Eclosión
23:44	13/04/2025	Aparece la retícula y mantiene variaciones de 11mV- a 51mV por cada 500mS.		
	14/04/2025	Aquí se sugiere cambiar de sustrato, debido a que el hidrogel durante el 5to y 7mo día presenta una resistencia mecánica que presiona a la raíz, dificultando su crecimiento.		

El sistema de medición utiliza un equipo con suministros de bajo costo, que opera conjuntamente en tiempo real para lograr detectar el cambio electrofisiológico. Además de determinar las características de la señal eléctrica de cada fase en la etapa de germinación. Antes de comenzar la medición es importante desinfectar la semilla para posteriormente activarla [13]. Para ello, se inserta en una capsula de hidrogel con una humedad mayor a 80% sobre un modelo 3D con agua diseñado como plataforma para sostener las condiciones de humedad en la capsula, esto con una

temperatura ambiente de entre 28-31°C. Mientras tanto, el osciloscopio mide la señal cada .05 segundos durante una semana [15].

Para obtener la señal eléctrica de la *lens culinaris* se desarrolló una técnica que implica insertar la semilla en una capsula de hidrogel como sustrato sobre un modelo impreso en 3D con agua, cómo plataforma humidificadora (Figura 1).

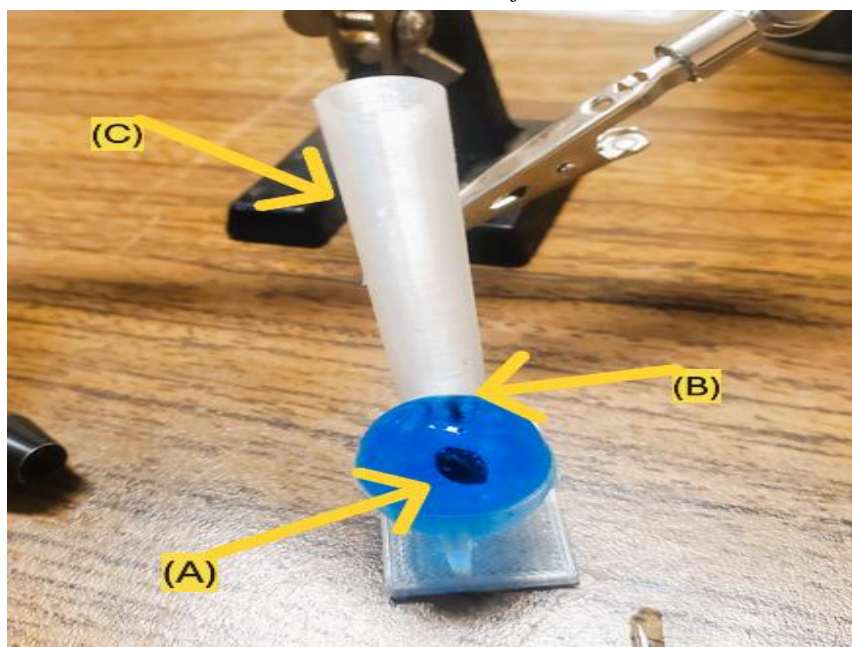


Figura 1. A) Semilla *Lens Culinaris*, B) Capsula Hidrogel 17 mm, C) Plataforma Humidificadora.

El monitoreo de señal fisiológica de la semilla de lenteja es a través de un sistema eléctrico de medición y seguimiento remoto (Figura 2). El sistema consiste en una muestra de semilla *lens culinaris* montada en una capsula de hidrogel de 17 mm, como sustrato y medio facilitador de transmisión de la señal eléctrica, tratando de identificar la señal generada por las transformaciones de la semilla durante cada fase de la etapa de germinativa.

La señal eléctrica se obtiene desde dos agujas hipodérmicas funcionando como electrodos, incrustados dentro de la capsula de hidrogel estando en contacto con la semilla. El monitoreo se realiza mediante la medición gráfica de la frecuencia en Osciloscopio y el monitoreo videográfico remoto (Figura 3).

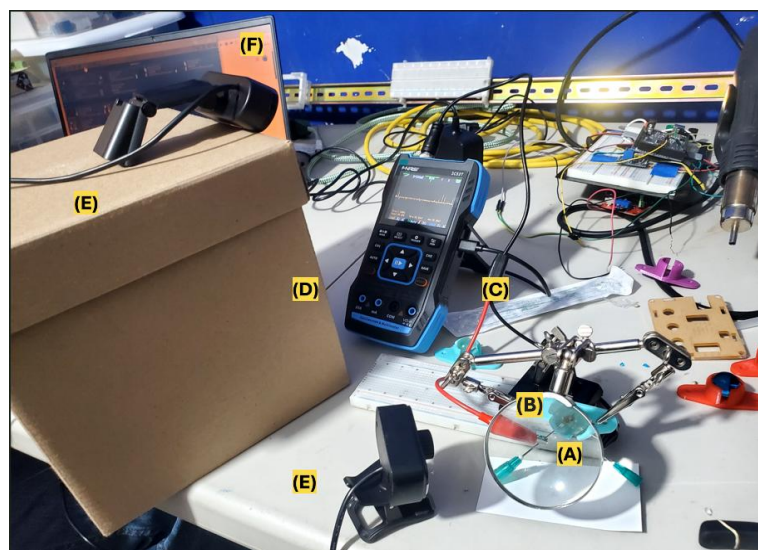


Figura 2. Sistema eléctrico para medir la respuesta fisiológica generada por las semillas de Lenteja. A) Semilla *lens culinaris*, B) Hidrogel 17 mm, C) Electrodos D) Osciloscopio 2C53T, E) Cámara de Videograbación, E) Equipo de Cómputo.

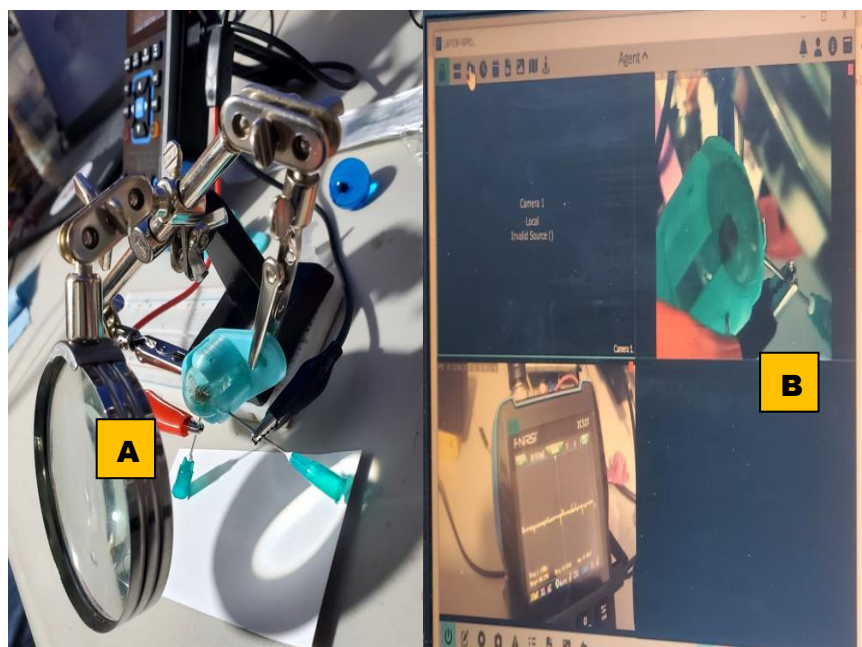


Figura 3. A) Observación y medición de muestra con electrodos incrustados en hidrogel B) Monitoreo Remoto.

Tanto la observación de las transformaciones germinativas como la señal eléctrica visible gráficamente son monitoreados por el sistema de videograbación remoto, configurado para detectar y registrar cambios significativos en un sistema de cómputo que busca correlaciones entre estos registros y sus fases fisiológicas durante la etapa germinativa (Figura 4). Se utilizan dos

osciloscopios diferentes el DS1052L y el 2C53T, configurados para la detección de ondas entre 0-90 mV, en periodos de 0.5 segundos, para comparar las señales eléctricas registradas.



Figura 4. Osciloscopios DS1052 y 253T.

Para sostener los electrodos se utiliza una lupa con pinzas eléctricas que permiten ampliar la visión de la muestra para ver cambios físicos claramente al mismo tiempo que se mide la respuesta eléctrica (Figura 5).



Figura 5. Muestra en observación.

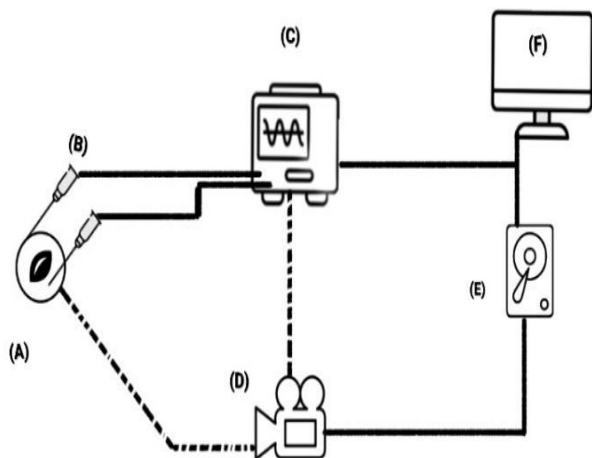


Figura 6. Diagrama eléctrico para monitoreo de la frecuencia fisiológica y procesamiento de datos generados durante la germinación de la semilla. A) Muestra *lens culinaris* encapsulada en sustrato de hidrogel, B) Agujas 25 milímetros como electrodos. C) Osciloscopio, D) Videocámaras, E) Almacenamiento, F) Equipo de Computo.

El diagrama electrónico completo del sistema de monitoreo se representa en la Figura 6. Mostrando la conexión desde la muestra, pasando por electrodos, equipos de medición, grabación, almacenamiento y computo. Procesando más de 1 millón de datos en la unidad de almacenamiento para posteriormente generar las gráficas mediante software libre, enlazado a hojas de cálculo de Excel en un equipo de cómputo que permite generar las gráficas que muestran la evolución de las señales fisiológicas recolectadas desde las muestras.

Para la medición es necesario utilizar un sustrato de hidrogel que encapsule las muestras y facilite la recolección de datos, mediante electrodos tipo sondas conectados a un osciloscopio.

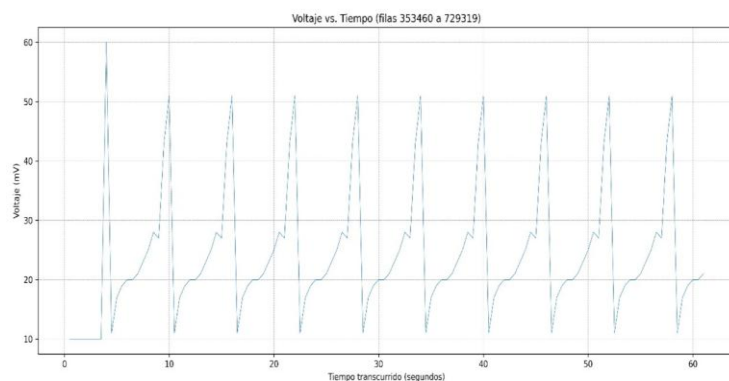


Figura 7. Señales eléctricas detectadas durante la fase de eclosión

Al llegar el momento de fase de eclosión, las señales recolectadas cada 500 milisegundos segundos en hojas de datos, se procesan computacionalmente para poder apreciar cómo se generan ciclos de 9 segundos que alcanzan picos de ± 50 mV durante el desarrollo de la retícula.

RESULTADOS

Con base en los datos que se recabaron, se puede apreciar cómo se registraron las variables fecha, hora y voltaje en una configuración de 500 milisegundos por ciclo, logrando detectar que las semillas *lens culinaris* emiten señales eléctricas de +20 mV al romper el estado de dormición y entrar en la fase de imbibición. Para lo cual, primero se obtuvo un modelo matemático empírico, mostrado en la Tabla 4.

Tabla 4. Modelo Matemático de Aproximación empírica

$f(t) \approx \begin{cases} 25.5 \sin \sin (1t + 0) + 25.5:t & > 1 \\ 61:t == 1 \\ 0:t \neq 0 & \end{cases}$	(3)
--	-----

Al procesar esta base de datos se muestra un importante pico eléctrico de 61 mV que se relacionan con la fase de eclosión después de 54:51:01 (54 horas 51 minutos .1 segundos) de monitoreo, donde se aprecia un pico de 61 mV $\pm 1/2$ segundo. Este pico se muestra en la Figura 8.

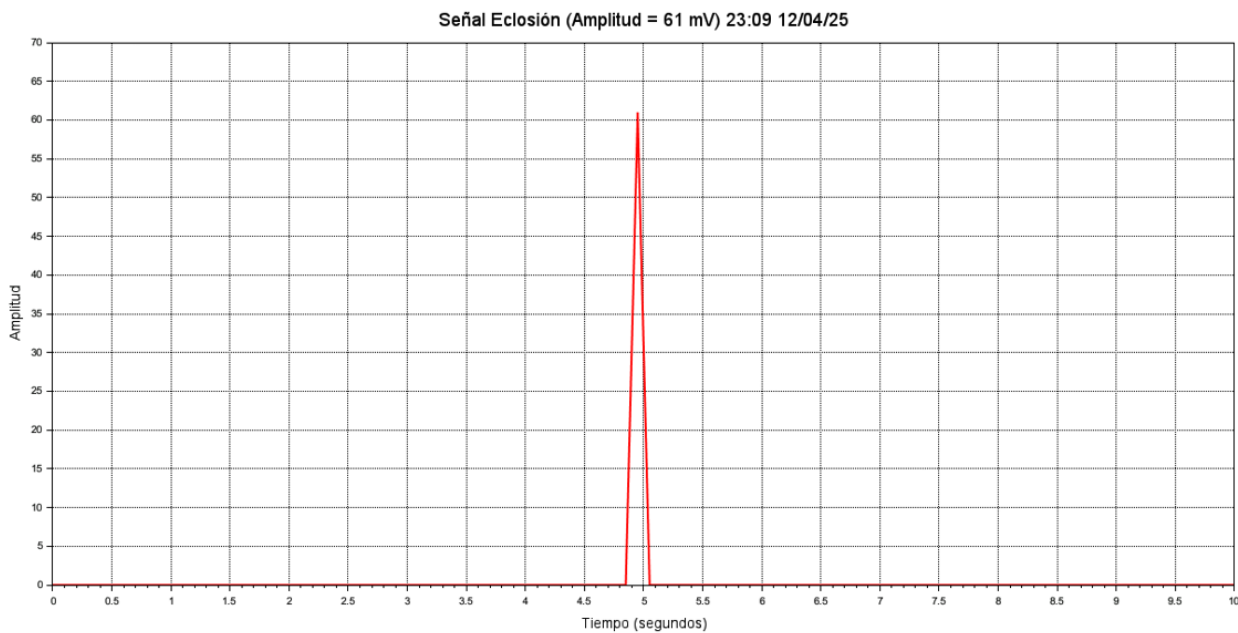


Figura 8. Señal eléctrica de la semilla *Lens Culinaris* en eclosión.

El conjunto de señales monitoreadas después del momento de eclosión a partir de la hora 54:51:01 y hasta 168 horas, muestra un estado de micro pulsaciones cíclicas durante del surgimiento de la retícula que arroja una curva similar a una Senoidal en pequeños periodos de 9 segundos (Figura 9).

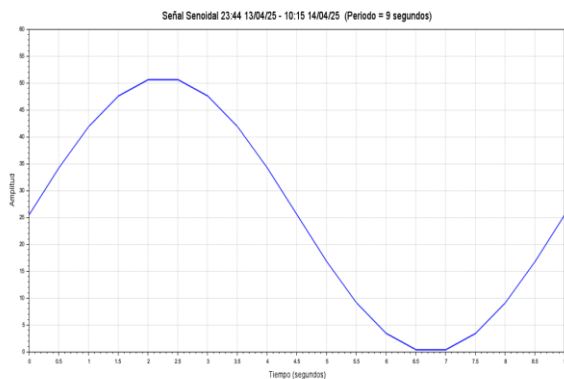


Figura 9. Amplitud de 51mV y Periodo de 9s esta señal representa 0.11Hz que son las pulsaciones que emite la semilla después de la eclosión.

Los registros de voltaje durante este periodo de tiempo (7 días) muestran el incremento en la actividad eléctrica registradas desde la fase de imbibición de las muestras hasta el surgimiento de pelos reticulares y un posterior decremento de la señal eléctrica, posiblemente relacionado con limitaciones técnicas de los electrodos en contacto con la muestra, Figura 10.

CONCLUSIONES

Para monitorear esta señal fisio eléctrica es relevante utilizar un sustrato de hidrogel como medio activador para romper el estado de dormición de la semilla y facilitar la señal eléctrica entre el electrodo y la muestra de semilla, los cambios fisiológicos que se desarrollan durante la etapa de germinación en *lens culinaris* se pueden caracterizar al iniciar la fase de imbibición por el incremento de actividad eléctrica generando una señal característica en relación a esta transformación fisiológica, principalmente en la fase de eclosión de las muestras de estas semillas alrededor de los 60 mV, estas señales fisioeléctricas se puedan relacionar con un incremento de voltaje durante microciclos de desarrollo, aunque falta

caracterizar otras fases de la etapa de germinación, esta experimentación puede ser útil para caracterizar esta etapa del proceso de crecimiento en semillas similares.

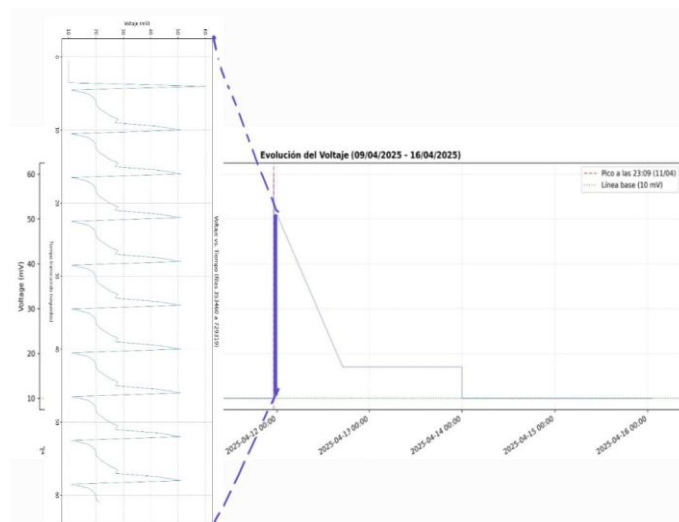


Figura 10. Evolución del voltaje durante una semana 168 horas de monitoreo.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación fue financiada por la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI), a través de una beca de financiamiento de posgrado (CVU 646005).

REFERENCIAS

- Batool, T., Ali, S., Seleiman, M.F., Naveed, N.H., Ali, A., Ahmed, K., Abid, M., Rizwan, M., Shahid, M.R., Alotaibi, M., Al-Ashkar, I., Mubushar, M. 2020. Plant growth promoting rhizobacteria alleviates drought stress in potato in response to suppressive oxidative stress and antioxidant enzymes activities. *Sci. Rep.*, 10 (1), 16975. doi: 10.1038/s41598-020-73489-z.
- Bhardwaj, J., Anand, A., Nagarajan, S. 2012. Biochemical and biophysical changes associated with magnetopriming in germinating cucumber seeds. *Plant Physiol. Biochem.*, 57, 67–73. doi: 10.1016/j.plaphy.2012.05.008.
- Boanos, A., Chandrababu, S., Bastola, D. R. 2018. Automation of Personal Food Computers for Research in Drug Development and Biomedicine.

- 7th International Congress on Advanced Applied Informatics (IIAI-AAI). pp. 655–658. doi: 10.1109/IIAI-AAI.2018.00137.
- Boanos, A., Mothukuri, A. S., Goettsch, K. A., Bastola, D. K. 2017. Investigation and utilization of personal food computers for research in drug development and biomedicine. *IEEE International Conference on Bioinformatics and Biomedicine (BIBM)*, pp. 2229–2231. doi: 10.1109/BIBM.2017.8218006.
- Cauthorn, G., Crisman, K., Boles, H.O., Johnson, C.M., Subramanian, A., Barker, R., Cuthbert, E., Yamada, M., Sato, Y., Chisuga, H., Fukoka, S., Kagami, S., Tada, C., Park, S., Kunihiro, K., Mitsukawa, K., Ueki, A., Nozawa, S., Delioglu, G. 2025. Japanese Oblate Film as a Novel Method for Seed Handling and Activation in Microgravity. *Gravitational Space Res.* 13 (1), pp. 30–38. doi: 10.2478/gsr-2025-0002.
- Domin, M., Kluza, F., Goral, D., Nazarewicz, S., Kozolwicz, K., Szmigielski, M., Slaska-Grzywna B. Germination Energy and Capacity of Maize Seeds Following Low-Temperature Short Storage. 2020. *Sustainability*, 12 (1). doi: 10.3390/su12010046.
- Dos Santos, R. P., Fachada, N., Beko, M., Leithardt, V. R. Q. 2023. A Rapid Review on the Use of Free and Open Source Technologies and Software Applied to Precision Agriculture Practices. *J. Sens. Actuator Netw.*, 12 (2). doi: 10.3390/jsan12020028.
- Fromm, J., Lautner, S., Electrical signals and their physiological significance in plants. 2007. *Plant Cell Environ.*, 30 (3), 249–257. doi: 10.1111/j.1365-3040.2006.01614.x.
- Kailash, K., Chandra, S. y Sukesh, M. 2021. Design and Development of an Instrumentation System to Detect the Bioelectric Signals of Plants. 2021 IEEE International Conference on Distributed Computing, VLSI, Electrical Circuits and Robotics (DISCOVER). doi: 10.1109/DISCOVER52564.2021.9663601
- Kassim, M. R. M. IoT Applications in Smart Agriculture: Issues and Challenges, 2020. *IEEE Conference on Open Systems (ICOS)*, pp. 19–24. doi: 10.1109/ICOS50156.2020.9293672.
- Khan Academy. Introducción a la fotosíntesis (artículo). Consultado: el 27 de mayo de 2025. [En línea]. Disponible en: <https://es.khanacademy.org/science/ap-biology/cellular-energetics/photosynthesis/a/intro-to-photosynthesis>.
- Repo, T., Paine, D. H., Taylor, A. G. 2002. Electrical impedance spectroscopy in relation to seed viability and moisture content in snap bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Seed Sci. Res.*, 12 (1), 17–29. doi: 10.1079/SSR200194.
- Stočes, M., Vaněk, J., Masner, J., Pavlík, J. 2016. Internet of Things (IoT) in Agriculture - Selected Aspects. *AGRIS -Line Pap. Econ. Inform.* Unknown. doi: 10.22004/ag.econ.233969.
- Yanbo, S., Zhao, W., Su, Z., Guo, S., Du, Y., Song, X., Shi, X., Li, X., Liu, Y, Liu, Z. 2024. Effect of Pulsed Electric Field Treatment on Seed Germination and Seedling Growth of *Scutellaria baicalensis*. *Agriculture*, 14 (1). doi: 10.3390/agriculture14010158.
- Zhong-Yi, W., Qiang, L., Lan, H., Long-Lian, Z., Zhi-Long, X., Rui-Feng, H. y Cheng, W. 2009. Monitoring system for electrical signals in plants in the greenhouse and its applications. *Biosystems Engineering*. 103(1), pp. 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2009.01.013>.