

EFFECTO DE ALUMINIO Y pH SOBRE EL DESARROLLO Y PIGMENTACIÓN FLORAL DE *Hydrangea macrophylla* MEDIANTE REDES NEURONALES ARTIFICIALES

EFFECT OF ALUMINUM AND pH ON FLORAL DEVELOPMENT AND PIGMENTATION OF *Hydrangea macrophylla* THROUGH ARTIFICIAL NEURAL NETWORKS

María de Jesús Ibañez-Barboza¹, Manuel Livera-Muñoz^{1*}, José Alfredo Carrillo-Salazar¹, Ma. De Lourdes Arévalo-Galarza¹, Manuel Sandoval-Villa² y Juan Manuel González-Camacho³

¹Colegio de Postgraduados (CP), Posgrado en Recursos Genéticos y Productividad, ²CP, Posgrado en Edafología, ³CP, Posgrado en Socioeconomía y Estadística, Montecillo, Texcoco, Estado de México, México.

*Autor de correspondencia (mlivera@colpos.mx)

RESUMEN

En hortensia (*Hydrangea macrophylla*), el color de las inflorescencias cambia con su desarrollo y efecto de diversos factores. En esta investigación se determinó el efecto de dos estados de desarrollo floral (Fresh, Antique), cuatro dosis de $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ y dos pH (4.5, 6.0), en el color de los floretes de dos cultivares de hortensia: rosa (ToIR) y azul (ToIA). Se utilizó un clasificador creado con redes neuronales artificiales (RNA) y como variables de entrada se utilizó el modelo RGB (rojo, verde, azul) y de salida cuatro clases de color: azul, rosa, café y verde. Se calculó superficie por clase de color (SCC, %), frecuencia del grupo de color dominante (FCD, %) y luminosidad (CIE L*) y croma (C*). La superficie rosa fue la clase dominante en ambos cultivares en estado Fresh con 8.5 % (pH 4.5) y 13 % (pH 6.0) y mayor superficie en ToIR que en ToIA, mientras que las clases verde (ToIA) y café (ToIR) obtuvieron mayor superficie (85 %) en estado Antique sin efecto por dosis de $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ o pH. Al aplicar 1 g L^{-1} de $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ en ToIA, el grupo de color (carta RHS) con mayor FCD cambió de púrpura-violeta a rojo-púrpura bajo pH 6.0 en estado Fresh y de verde-amarillento a marrón-grisáceo con pH 4.5 en estado Antique. La variación en color fue debida principalmente al cultivar y estado de desarrollo floral.

Palabras clave: *Hydrangea macrophylla*, análisis de imágenes, redes neuronales artificiales, variables de color.

SUMMARY

In hydrangea (*Hydrangea macrophylla*), the color of inflorescences changes with development and effect of various factors. In this study, the effect of two stages of floral development (Fresh, Antique), four doses of $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ and two pH (4.5, 6.0) on the color of the florets of two hydrangea cultivars: pink (ToIR) and blue (ToIA) was determined. A methodology with image analysis and artificial neural networks (ANN) was used to determine numerically color changes. A classifier created with artificial neural networks (ANN) was used; the RGB (red, green, blue) system was used as input variables and four color classes: blue, pink, brown and green were used as output. The variables calculated were surface by color class (SCC, %), frequency of the dominant color group (FCD, %), luminosity (CIE L*) and chroma (C*). The pink surface was the dominant class in both cultivars in the Fresh state with 8.5 % (pH 4.5) and 13 % (pH 6.0) and greater surface in ToIR than in ToIA, while the green (ToIA) and brown (ToIR) classes obtained greater surface (85%) in Antique state with no effect by dose of $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ or pH. When applying 1 g L^{-1} of $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ in ToIA, the color group (RHS chart) with the highest CDF changed from purple-violet to red-purple under pH 6.0 in the Fresh state and from yellowish-green to greyish-brown with pH 4.5 in Antique state. The color

variation was mainly due to the cultivar and floral development stage.

Index words: *Hydrangea macrophylla*, artificial neural networks, color variables, image analysis.

INTRODUCCIÓN

La hortensia (*Hydrangea* spp.) es una planta ornamental de origen asiático perteneciente a la familia Hydrangeaceae y la especie *H. macrophylla* es la de mayor importancia económica (UPOV, 2020); se comercializa como planta para jardín, maceta y flor de corte. En 2014 *H. macrophylla* fue el segundo arbusto con mayor producción en los Estados Unidos con 10 millones de plantas vendidas (\$91.2 millones de USD) (Fulcher *et al.*, 2016), mientras que en 2016 en la Unión Europea fue el segundo producto ornamental con mejor precio de maceta (\$2.53 USD) (AIPH, 2016). En México, su producción en maceta lidera el grupo de cultivos con mayor rentabilidad y su importancia como flor de corte va en aumento (SIAP, 2020).

Se comercializan dos tipos de flores cortadas, en estado fresco (Fresh, recolectadas justo después de que los sépalos decorativos están completamente coloreados antes o durante la floración) y flores cortadas en etapa antigua (antique o vintage, recolectadas cuando los sépalos decorativos se vuelven verdes o rojos después de la floración) (Kitamura *et al.*, 2018). La pigmentación de los floretes depende del genotipo y del pH del suelo, que determina la biodisponibilidad de elementos como el aluminio y el fósforo (Fulcher *et al.*, 2016), mientras que en suelos ácidos con disponibilidad de Al se obtienen inflorescencias azules, en suelos alcalinos se presentan tonos rosas. Esta plasticidad hace posible que con el control del pH y las aplicaciones de Al y P se puedan obtener inflorescencias con colores atractivos para el mercado (Fulcher *et al.*, 2016). La percepción del color

depende de las características intrínsecas del objeto, de la fuente de iluminación y de la persona receptora de la radiación reflejada por el objeto; por ello, es necesario evaluar los atributos del color y expresar las diferencias, por mínimas que sean, en términos numéricos (Carrillo-Salazar *et al.*, 2019). El uso de clasificadores de color con redes neuronales artificiales (RNA) es una opción accesible que permite identificar el color con precisión con base en estándares de color y una alternativa al uso del colorímetro y la carta de color RHS. Esta metodología de agrupación de píxeles de imágenes con un clasificador basado en redes neuronales artificiales permite calcular la superficie y el color por clase (Carrillo-Salazar *et al.*, 2019), y su análisis espacial y temporal (Liu *et al.*, 2019).

En análisis de imágenes de plantas, el clasificador con RNA segmenta las imágenes y con el uso de diferentes algoritmos se obtienen variables fenotípicas como color, textura, forma, información espacial, contorno (Siraj *et al.*, 2010) y venación (Kulkarni *et al.*, 2013), que en conjunto con variables fisiológicas y ambientales pueden ser usadas como variables de entrada para modelos de predicción de vida poscosecha (In *et al.*, 2009), entre otras aplicaciones. Las RNA se han aplicado en identificación de especies con base en el reconocimiento de pétalos (Tan *et al.*, 2012), reconocimiento automático de flores (Shi *et al.*, 2019), en la clasificación de variedades de crisantemos (Wu *et al.*, 2018) y orquídeas (Arwatchananukul *et al.*, 2015; Sabri *et al.*, 2019), determinación de calidad en *Petunia multiflora* y *Gloxinia* (Carrillo-Salazar *et al.*, 2019; Sun *et al.*, 2017), en la detección temprana de enfermedades en *Phalaenopsis* (Huang, 2007) y en predicción de vida en florero en rosa (In *et al.*, 2009). El objetivo de esta investigación fue determinar la variación del color en floretes en diferentes pH y dosis de $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ en dos estados de desarrollo floral de dos cultivares de hortensia utilizando una metodología que se basa en los valores de color obtenidos del análisis de imágenes con un clasificador entrenado con RNA para su interpretación numérica.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio experimental

El experimento se estableció en el período de mayo a octubre de 2019 en Montecillo, Texcoco, Estado de México, con coordenadas 19° 27' 40" N, 98° 53' 19" O y 2250 m de altitud, en un invernadero tipo túnel con techo de media luna de 8 m de ancho, 30 m de largo y 4 m de altura, con cubierta de polietileno blanco lechoso calibre 180 μm (720 galgas) y malla sombra sobre él, resultando en una transmisión de radiación fotosintéticamente activa del 70 %, medida con un sensor (AccuPAR LP-80, Decagon Devices®, Pullman, Washington, EUA). La

temperatura y humedad relativa medias fueron 19.5 °C y 72 % respectivamente, medidas con un Data Logger (WhatchDog A-Series, SpectrumTechnologies®, El Paso, Texas, EUA).

Tratamientos y diseño experimental

Se estudiaron los siguientes factores y niveles: pH de la solución nutritiva (4.5 y 6.0); se agregó ácido fosfórico grado fertilizante, con densidad 1.7 g mL⁻¹ y pureza 85 % al volumen total de solución a preparar, hasta que el pH descendió al valor deseado, determinado con un medidor de pH (Conductronic PC18, México), cultivares (ToLA, ToLR), estado de desarrollo floral (Fresh, Antique) y dosis de $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ 98 % (T0: 0, T1: 0.25, T2: 0.50 y T3: 1.0 g L⁻¹); de su combinación resultaron 32 tratamientos. Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con arreglo en parcelas divididas, con el pH asignado a la parcela grande para regularlo mediante el sistema de riego suministrado a partir de dos depósitos, y las subparcelas correspondieron al cultivar, dosis de $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ y estado de desarrollo floral. La unidad experimental fue una planta en una maceta de 0.5 L con tres repeticiones.

Manejo del experimento

Se utilizaron plantas de 10 meses después de esqueje, sin floración, en macetas de 0.5 L con sustrato ácido (pH 6.0) consistente en mezcla de tepojal (sustrato de piedra volcánica), tierra de hoja y tierra negra en proporción 1:1:2. La nutrición se dio con Solución de Steiner 25 % (8 días); posteriormente, se incrementó a 50 % (32 días) y se mantuvo a 35 % durante el resto del experimento con 400 mL/planta/día utilizando ácido fosfórico (H_3PO_4) como fuente de acidificación. La dosis de $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ se aplicó tres veces por semana (100 mL/planta). Para la colecta de floretes decorativos se siguió la clasificación modificada de Kitamura *et al.* (2018); se consideró el estado Fresh cuando las inflorescencias presentaban más de 90 % de pigmentación en los floretes decorativos y apertura mayor de 40 % de flores verdaderas, y el estado Antique o Vintage cuando los floretes presentaban más de 80 % de superficie con matiz verde o rojizo y apertura mayor de 40 % de flores verdaderas.

Obtención y segmentación de imágenes digitales

Se recolectaron floretes al azar en toda la inflorescencia en los estados Fresh y Antique; en cada fecha de muestreo se recolectaron nueve floretes por tratamiento con un total de 288, que fueron digitalizados en un escaner HP Scanjet® a 600 dpi en formato JPEG; después, las imágenes individuales de los floretes se recortaron a 100 × 100 píxeles y se almacenaron. Se obtuvieron los valores

de los canales del espacio de color RGB (rojo, verde, azul) de 40, 22, 39 y 29 submuestras de 30 × 30 píxeles de cuatro áreas clasificadas visualmente de color azul, café, rosa o verde, mediante muestreo dirigido. Con los valores de los canales del espacio de color RGB y su respectiva clase objetivo (cuatro clases) asociada con cada registro se generó una base de datos de 56,309 registros en una hoja de cálculo en formato CSV (Figura 1). La RNA se creó y entrenó con el programa Neuroshell Classifier® (AI Trilogy, Ward Systems Group, Inc., Frederick, Maryland, EUA) de acuerdo con la metodología descrita en Carrillo-Salzar *et al.* (2019). Para evaluar el desempeño en predicción del clasificador se usaron cuatro criterios: 1) la precisión global (OA), que se define como el número de individuos clasificados correctamente en cada clase entre el número total de individuos, 2) el área de la curva (ROC), definida por la relación entre las tasas de positivos verdaderos (sensibilidad) y las tasas de positivos falsos (AI Trilogy, 2020), 3) la sensibilidad (positivos verdaderos) definida como el número de positivos verdaderos dividido por la suma de positivos verdaderos más negativos falsos, y 4) especificidad (negativos verdaderos), que es el número de negativos verdaderos dividido por la suma de los negativos verdaderos y positivos falsos (Florkowski, 2008).

Con el mejor clasificador (RNA) entrenado, se analizaron las imágenes en secuencia y se almacenaron automáticamente los siguientes resultados en una hoja de cálculo: superficie (% cm²) y la media de los valores R, G y B para cada clase por florete.

Determinación del color de floretes decorativos

Las 920 cartas de color de la Royal Horticultural Society (5ª edición) se digitalizaron a 600 dpi con el mismo escáner

HP Scanjet® usado para obtener las imágenes de los floretes y se almacenaron en formato JPEG; después, se tomó una muestra de 100 × 100 píxeles en la parte central de cada carta, se obtuvieron los valores promedio de los canales del espacio de color RGB de esas superficies con un programa escrito en Microsoft Visual Basic 6.0 y se almacenaron en una hoja de cálculo junto con la descripción de la nomenclatura de la carta RHS. Para determinar la carta RHS representativa del color promedio de la superficie de cada clase de color en los floretes, se seleccionó la carta que minimizó la siguiente función en un programa en VBA (Visual Basic para aplicaciones) en Microsoft® Excel®:

$$\Delta E = \sqrt{(R_i - R_c)^2 + (G_i - G_c)^2 + (B_i - B_c)^2} \quad (\text{Ec. 1})$$

Donde: R_i, G_i, y B_i son los valores promedio de los canales del modelo de color RGB de los píxeles de la superficie de una determinada clase de color en las imágenes de los floretes. R_c, G_c, y B_c son los valores promedio de los canales del modelo de color RGB de los píxeles de una muestra de la superficie de una determinada carta RHS.

Para evaluar el efecto de los tratamientos en el color de los floretes se determinaron las variables: 1) superficie por clase de color (SCC, %) dividiendo el número de píxeles de cada clase de color entre el número de píxeles totales de la superficie del florete y el resultado se multiplicó × 100, 2) frecuencia del grupo de color dominante (FCD, %). Con las cartas RHS obtenidas con la Ec.1 por tratamiento se obtuvo el grupo de color (descrito en las cartas RHS) con la frecuencia más alta o dominante por clase; en este caso, el valor más alto de FCD indica mayor estabilidad del color.

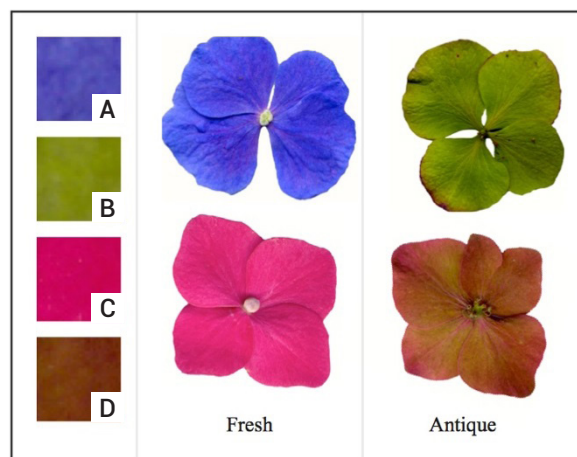


Figura 1. Ejemplos de muestras de 30 x 30 píxeles de las clases de color azul (A), verde (B), rosa (C) y café (D) en las etapas fenológicas Fresh y Antique utilizadas en la generación del clasificador con RNA.

Análisis estadístico

Se realizó análisis de varianza y comparación de medias con la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$) con SAS versión 9.1 (SAS Institute, 2004) y análisis de conglomerados con partición alrededor de medoides con R (V.3.6.3; R Core Team, 2006). A los datos no paramétricos (variable FCD) se les aplicó análisis de frecuencia con una prueba binomial ($P \leq 0.05$) con el programa JASP versión 0.12.1 (Goss-Sampson, 2020) BibTeX.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 2 se muestran ejemplos de la aplicación de la metodología para la segmentación de imágenes de floretes usando el clasificador con RNA, con los colores originales (A-D) y la segmentación por clase de color con la superficie en pseudocolor (E-H).

El clasificador entrenado con los canales de color RGB como variables de entrada presentó precisión global (OA) de 99.36 %, mientras que el área bajo la curva (ROC), sensibilidad y especificidad fueron mayores a 0.97 en cada clase (Cuadro 1).

Variables del color en floretes

En el Cuadro 2 se muestran las fuentes de variación en el porcentaje de superficie por clase de color (SCC); en la clase rosa se atribuyeron principalmente al cultivar, estado fenológico y sus interacciones ($P \leq 0.0001$), sin diferencias significativas en SCC por efecto de la dosis de $Al_2(SO_4)_3$, con excepción de T1 (0.250 g L^{-1}) con pH 6.0 en estado Fresh que fue 25 % mayor en TolR que en TolA. A diferencia de las clases con mayor superficie, en la clase azul la variación fue debida al cultivar ($P \leq 0.0001$) y las interacciones

estado de desarrollo floral \times pH \times dosis de $Al_2(SO_4)_3$ y por tratamiento ($P \leq 0.0037$), que promovieron un SCC 11 % mayor en TolA que en TolR. Bajo pH 4.5 en estado Fresh el cultivar TolA obtuvo mayor SCC sin la aplicación de $Al_2(SO_4)_3$, a diferencia del estado Antique, donde la dosis más alta promovió mayor SCC; por otro lado, en ambos estados de desarrollo floral el pH 6.0 sin la aplicación de $Al_2(SO_4)_3$ tuvo mayor SCC.

En la clase café las variaciones en SCC se atribuyeron a todas las fuentes de variación e interacciones, con excepción de las interacciones cultivar \times dosis de $Al_2(SO_4)_3$ ($P = 0.2783$), y cultivar \times estado de desarrollo floral \times dosis de $Al_2(SO_4)_3$ ($P = 0.1925$), aunque en la prueba de medias de Tukey sólo se observaron diferencias entre medias por cultivar y estado de desarrollo floral. En TolR en estado Fresh, independientemente del pH, la SCC presentó valores cercanos a cero, que incrementaron a 88.5 % (pH 4.5) y 82.3 % (pH 6.0) en estado Antique como efecto del avance de la floración. En SCC de la clase verde las mayores significancias ($P \leq 0.0001$) se obtuvieron por cultivar y estado fenológico, en particular TolR bajo un pH de 6.0, que presentó mayor superficie verde sin la aplicación de Al; en cambio, no se presentó variación en SCC por efecto del pH ($P = 0.2066$), pH \times estado fenológico ($P = 0.2066$), cultivar \times dosis de $Al_2(SO_4)_3$ ($P = 0.3740$), ni en cultivar \times estado fenológico \times dosis de $Al_2(SO_4)_3$ ($P = 0.3740$).

Las clases de color con mayor superficie en los floretes de TolA fueron la rosa (87 %) y verde (85 %), y para TolR la rosa (98 %) y café (85 %), para los estados Fresh y Antique, respectivamente, por lo que se determinaron como clases de color dominantes (SSC). La superficie rosa fue la clase dominante en ambos cultivares en estado Fresh, como resultado de un alto contenido de P en la solución nutritiva (KH_2PO_4 y H_3PO_4), lo que posiblemente favoreció la mayor

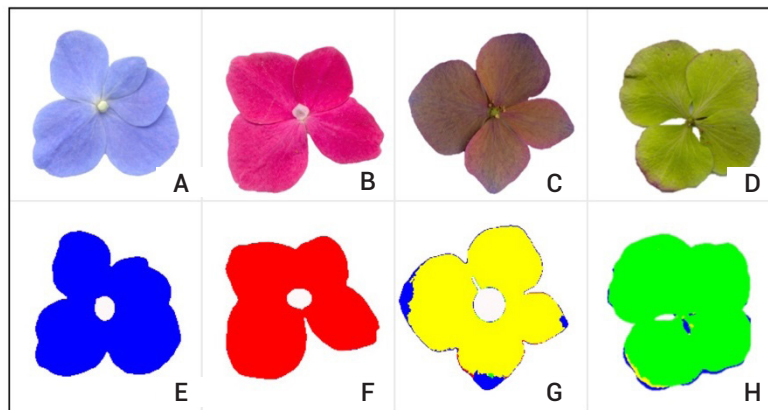


Figura 2. Segmentación de imágenes, florete original (A-D) y florete segmentado en cuatro posibles clases: azul, rojo, café, verde (E-H). Clase café representada por pseudocolor amarillo.

Cuadro 1. Media (\bar{X}), desviación estándar (SD) y coeficiente de variación (CV) (n = 10) de los criterios de desempeño del escenario de entrada con los canales del espacio de color RGB y cuatro clases de salida (rosa, azul, café y verde).

Clase	Índice de desempeño								
	ROC			Sensibilidad			Especificidad		
	\bar{X}	SD	CV (%)	\bar{X}	SD	CV (%)	\bar{X}	SD	CV (%)
Rosa	0.999 a	0.0001	0.010	0.982 a	0.0070	0.713	0.993 a	0.0102	1.027
Azul	0.999 a	0.0001	0.010	0.987 a	0.0054	0.547	0.996 a	0.0043	0.432
Café	0.999 a	0.0001	0.010	0.976 a	0.0748	7.664	0.995 a	0.0017	0.171
Verde	1.000 a	0.0001	0.010	0.996 a	0.0097	0.974	0.996 a	0.0122	1.225

Medias con letras iguales en las columnas no son estadísticamente diferentes (Tukey, $P \leq 0.05$). ROC: área bajo la curva.

Cuadro 2. Efecto de los tratamientos en el porcentaje de superficie cubierta por clase SCC (rosa, azul, café y verde).

pH	Estado fenológico	Dosis de $Al_2(SO_4)_3$ (g L ⁻¹)	Cultivar							
			TolA				TolR			
			rosa	azul	café	verde	rosa	azul	café	verde
4.5	Fresh	0.00	86 ab	14 a	0 c	0 c	98 a	1 b	1 c	0 c
		0.25	85 ab	15 a	0 c	0 c	98 a	1 b	1 c	0 c
		0.50	93 a	7 b	0 c	0 c	97 a	1 b	2 c	0 c
		1.00	93 a	7 b	0 c	0 c	98 a	1 b	1 c	0 c
	Antique	0.00	1 c	2 b	1 c	95 a	4 c	2 b	93 a	1 c
		0.25	1 c	7 b	3 c	88 a	2 c	2 b	94 a	2 c
		0.50	6 c	9 b	1 c	85 a	1 c	4 b	92 a	3 c
		1.00	2 c	11 a	1 c	86 a	4 c	4 b	84 a	8 c
6.0	Fresh	0.00	89 a	11 a	0 c	0 c	99 a	1 b	0 c	0 c
		0.25	73 b	27 a	0 c	0 c	98 a	1 b	0 c	0 c
		0.50	87 a	13 a	0 c	0 c	98 a	2 b	0 c	0 c
		1.00	93 a	7 b	0 c	0 c	99a	1b	0 c	0 c
	Antique	0.00	4 c	22 a	2 c	72 a	1 c	1 b	66 ab	32 b
		0.25	6 c	2 b	7 c	85 a	2 c	1 b	91 a	5 c
		0.50	0 c	2 b	0 c	98 a	2 c	2 b	66 ab	30 bc
		1.00	1 c	23 a	1 c	74 a	2 c	1 b	97 a	0 c

Medias con letras iguales en las columnas no son estadísticamente diferentes (Tukey, $P \leq 0.05$).

formación de la antocianina delfinidina-3-glucósido en su forma más estable; es decir, el catión flavilio (AH⁺) que contribuye a la coloración roja y morada de flores (Castañeda-Ovando *et al.*, 2009; Yoshida *et al.*, 2003), y por lo tanto, la cantidad de Al no fue suficiente para promover la formación de pigmentos que reflejan el color azul.

La variación de color en los sépalos es determinada por el tipo de pigmentos presentes que afectan el matiz o longitud de onda reflejada predominantemente (Narbona *et al.*, 2014). En esta investigación se determinó un indicador de estabilidad (FCD, %) que calcula el grupo de color de las cartas RHS de mayor frecuencia observado en las SCC dominantes. En el Cuadro 3 se observan los

valores de FCD correspondientes a las clases dominantes con superficies medias mayores a 3 %, y se aprecian siete grupos de color con mayor FCD: púrpura-violeta (PV) y rojo-púrpura (RP) para la clase rosa en estado Fresh; naranja-grisáceo (GO) y marrón-grisáceo (GB) para la clase café y verde-amarillento (YG), verde-grisáceo (GG) y marrón-grisáceo (GB) para la clase verde, correspondientes al estado Antique.

En TolA en estado Fresh la mayor FCD (89 %) se obtuvo para PV en ambos niveles de pH; con pH 4.5 se obtuvo mayor FCD bajo todas las dosis de $Al_2(SO_4)_3$, con el valor máximo en T3, y disminuyó a 11 % con el avance de la floración, mientras que en Antique se obtuvieron dos grupos con mayor FCD, YG de colores vívidos con las dosis T0 a T2 y GB de colores opacos con T3; grupos de color con valores similares de CIE-L 76.62 (YG), 73.98 (GB), pero con marcada diferencia en C: 64.24 (YG) y 31.67 (GB),

respectivamente. Con pH 6.0 en TolA, el PV de violetas pálidos mostró mayor FCD en estado Fresh en las dosis 0 a $0.5 g L^{-1}$ de $Al_2(SO_4)_3$, alcanzando el FCD máximo con T1, mientras que con la dosis más alta de $Al_2(SO_4)_3$ el grupo de color con mayor FCD fue RP, similar a los tonos vívidos de RP obtenidos en TolR en Fresh.

Como efecto de la interacción de la dosis de $Al_2(SO_4)_3 \times pH \times$ estado fenológico, el cambio en el color de la carta de mayor FCD de PV a RP aumentó en CIE L* de 66.30 a 86.01 y disminuyó en C* de 68.36 a 36.6. En estado Antique, con la aplicación $Al_2(SO_4)_3$, el grupo de color con mayor FCD fue YG, que alcanzó 100% en T2 y sin $Al_2(SO_4)_3$, el GG fue el grupo de color con mayor FCD caracterizado por presentar menor C* (20.5) que en YG (58.6). TolR tuvo mayor FCD en estado Fresh con 25.3 % (pH 4.5) y 27.8 % (pH 6.0), y en estado Antique con 16.5 % (pH 4.5) y 7.3 % (pH 6.0) que TolA y presentó menor variación en los grupos

Cuadro 3. Efecto de los tratamientos en la frecuencia del grupo de color dominante[†] (FCD) por tratamiento para las superficies de color dominante (SCC).

pH	Estado fenológico	Dosis de $Al_2(SO_4)_3$ (g L ⁻¹)	Cultivar								
			TolA				TolR				
			rosa	%	verde	%	rosa	%	café	%	
4.5	Fresh	0.00	PV	56				RP	78		
		0.25	PV	44				RP	67		
		0.50	PV	33				RP	100		
		1.00	PV	89				RP	78		
	Antique	0.00				YG	67			GO	67
		0.25				YG	56			GO	100
		0.50				YG	67			GO	78
		1.00				GB	56			GO	67
6.0	Fresh	0.00	PV	44				RP	100		
		0.25	PV	89				RP	100		
		0.50	PV	67				RP	100		
		1.00	RP	56				RP	67		
	Antique	0.00				GG	44			GB	67
		0.25				YG	56			GO	78
		0.50				YG	100			GO	50
		1.00				YG	44			GO	78



[†]Prueba Binomial (P ≤ 0.05). Grupos de color: RP: rojo-púrpura, PV: púrpura-violeta, YG: verde-amarillento, GO: naranja-grisáceo, GR: rojo-grisáceo, GP: púrpura-grisáceo, GG: verde-grisáceo, GB: marrón-grisáceo. Cada grupo de color está representado con la imagen de la carta RHS de mayor frecuencia.

de color, indicando mayor estabilidad y uniformidad. En estado Fresh en la clase rosa, RP obtuvo mayor FCD, independientemente del pH, con los máximos valores bajo pH 4.5 en T2 y a pH 6.0 con las dosis 0 a 0.5 g L⁻¹, y en estado Antique en la clase café bajo pH 4.5; GO obtuvo mayor FCD independientemente de la dosis de Al aplicada con el máximo FCD en T1; mientras que con pH 6.0, la aplicación de Al₂(SO₄)₃ cambió el grupo de color de mayor FCD de GB a GO con valores similares de CIE L* y C*.

El color dependió principalmente del estado de desarrollo floral, posiblemente determinado por la función del pigmento; mientras que en estado Fresh los floretes mostraron colores intensos, púrpura-violeta en TolA y rojo-púrpura en TolR, importantes para la atracción de polinizadores, dispersión de semillas y fotoprotección (Narbona *et al.*, 2014); en etapa Antique, los floretes presentaron matices verdes-amarillentos en TolA y colores naranja-grisáceos en TolR, sugiriendo la posible reactivación de los cloroplastos en órganos florales (Muñoz y Munné-Bosch, 2018), necesarios para la acumulación de fotoasimilados y producción de yemas florales en verano (Pagter *et al.*, 2011), esencial en hortensia que presenta dormancia invernal y defoliación natural. Schreiber *et al.* (2011) mencionaron que en *H. macrophylla* cada genotipo presenta el mismo contenido de antocianinas, independientemente del color que muestren las inflorescencias, pero la tonalidad depende de la concentración de Al, lo que explica los resultados obtenidos en este estudio, ya que se presentó una interacción entre el genotipo y la disponibilidad de Al en la solución nutritiva. Este comportamiento se observó en TolR, cuyos floretes mostraron mayor uniformidad y estabilidad del color, consecuencia de una baja disponibilidad del Al y alto contenido de P en la solución nutritiva (KH₂PO₄ y H₃PO₄) (Castañeda-Ovando *et al.*, 2009). Otros autores también han usado las RNA para segmentar imágenes digitales en diversas especies ornamentales con la finalidad de determinar variación en el color y forma de estructuras vegetales entre variedades, con clasificadores de píxeles con una precisión de hasta 98 % (De Keyser *et al.*, 2013; Lootens *et al.*, 2007; Singh *et al.*, 2011; Yoshioka *et al.*, 2006), lo cual es útil en la identificación de especies, clasificación de plantas por calidad, detección temprana de enfermedades, predicción de vida en florero, selección de líneas de mejoramiento, selección de técnicas productivas para satisfacer los estándares de mercados específicos y clasificación de productos hortícolas. En la presente investigación las RNA permitieron clasificar las unidades de cada imagen (píxel) en cuatro categorías de color. Después de segmentar cada imagen de los floretes fue posible calcular otras variables como distribución, uniformidad y superficie en cada clase de color, lo que permitió identificar la forma en que los tratamientos afectaron dos estados

florales de importancia comercial (Fresh y Antique). La metodología propuesta tiene la ventaja sobre métodos convencionales de poder determinar color en superficies reducidas, donde hay mezclas de diversas clases de color a un costo accesible, y no se requiere analizar inmediatamente las muestras colectadas; el análisis de imágenes se realiza de manera automatizada en corto tiempo y se puede generar un gran número de variables respuesta.

CONCLUSIONES

Las redes neuronales artificiales permitieron clasificar las unidades de cada imagen (píxel) en cuatro categorías de color, y calcular otras variables necesarias para identificar el efecto de los tratamientos en los estados florales Fresh y Antique en dos cultivares de hortensia. Con el uso del clasificador de píxeles se determinó que el estado de desarrollo floral y el genotipo tuvieron efecto en el color de los floretes y que la dosis de Al₂(SO₄)₃ y pH únicamente tuvieron efecto cuando interactuaron con los otros factores. En estado Fresh, la mayor uniformidad y estabilidad del color en los floretes se obtuvo en el cultivar TolA cuando la solución nutritiva tenía un pH 4.5 y 1.0 g L⁻¹ de Al₂(SO₄)₃ y en el cultivar TolR con pH 4.5 y dosis de 0.25 g L⁻¹ de Al₂(SO₄)₃ y para pH 6.0 sin aplicación de Al₂(SO₄)₃. En estado Antique, la mayor uniformidad y estabilidad del color se obtuvo en el cultivar TolA aplicando 0.50 g L⁻¹ de Al₂(SO₄)₃ con pH 6.0 y en TolR con 0.25 g L⁻¹ de Al₂(SO₄)₃ y pH 4.5.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología de México (CONACYT) por la beca otorgada a la primera autora para realizar estudios de posgrado. A los que revisaron y editaron esta contribución por sus sugerencias para su mejor presentación.

BIBLIOGRAFÍA

- AIPH, International Association of Horticultural Producers (2016) International Statistics Flowers and Plants 2016 Yearbook. Vol. 64. International Association of Horticultural Producers. Oxfordshire, England. 190 p.
- AI Trilogy (2020) NeuroShell classifier tutorial. Ward Systems Group, Inc. Frederick, Maryland, USA. <http://www.wardsystems.com/classifiertutorial.asp> (March 2020).
- Arwathananukul S., P. Charoenkwan and D. Xu (2015) POC: *Paphiopedilum* orchid classifier. 2015 IEEE 14th International Conference on Cognitive Informatics & Cognitive Computing 2015:206-212, <https://doi.org/10.1109/ICCI-CC.2015.7259387>
- Carrillo-Salazar J. A., J. M. González-Camacho, E. San Juan-Martínez and V. A. González-Hernández (2019) Quality assessment of potted petunia based on a probabilistic neural network classifier. *Agrociencia* 53:895-910.
- Castañeda-Ovando A., M. L. Pacheco-Hernández, M. E. Páez-Hernández, J. A. Rodríguez and C. A. Galán-Vidal (2009) Chemical studies of anthocyanins: a review. *Food Chemistry* 113:859-871, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.12.011>

- doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.001
- De Keyser E., P. Lootens, E. Van Bockstaele and J. De Riek (2013) Image analysis for QTL mapping of flower colour and leaf characteristics in pot azalea (*Rhododendron simsii* hybrids). *Euphytica* 189:445-460, <https://doi.org/10.1007/s10681-012-0809-7>
- Florkowski C. M. (2008) Sensitivity, specificity, receiver-operating characteristic (ROC) curves and likelihood ratios: communicating the performance of diagnostic tests. *The Clinical Biochemist Reviews* 29 (Suppl. 1):S83-S87.
- Fulcher A., J. S. Owen and A. LeBude (2016) Hydrangea production: species specific production guide. Institute of Agriculture, University of Tennessee. Nashville, Tennessee, USA. 12 p.
- Goss-Sampson M. A. (2020) Statistical Analysis in JASP - A Students Guide v0.10.2. JASP Team. Amsterdam, The Netherlands. 159 p.
- Huang K. Y. (2007) Application of artificial neural network for detecting *Phalaenopsis* seedling diseases using color and texture features. *Computers and Electronics in Agriculture* 57:3-11, <https://doi.org/10.1016/j.compag.2007.01.015>
- In B. C., K. Inamoto and M. Doi (2009) A neural network technique to develop a vase life prediction model of cut roses. *Postharvest Biology and Technology* 52:273-278, <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2009.01.001>
- Kitamura Y., S. Ueno, H. Aizawa and W. Teoh (2018) Differences in vase lives of cut hydrangea flowers harvested at different developmental stages. *The Horticultural Journal* 87:274-280, <https://doi.org/10.2503/hortj.OKD-111>
- Kulkarni A. H., H. M. Rai, K. A. Jahagirdar and P. S. Upparamani (2013) A leaf recognition technique for plant classification using RBPNN and Zernike moments. *Journal of Computer-Mediated Communication* 2:984-988.
- Liu Y., T. Lin, L. Du, J. Wang, X. Yang, J. Zhang, ... and X. Yang (2019) Sampling for DUS test of flower colors of *Ranunculus asiaticus* L. in view of spatial and temporal changes of flower colorations, anthocyanin contents, and gene expression levels. *Molecules* 24:615, <https://doi.org/10.3390/molecules24030615>
- Lootens P., J. V. Waes and L. Carlier (2006) Evaluation of the tepal colour of *Begonia × tuberhybrida* Voss. for DUS testing using image analysis. *Euphytica* 155:135-142, <https://doi.org/10.1007/s10681-006-9315-0>
- Muñoz P. and S. Munné-Bosch (2018) Photo-oxidative stress during leaf, flower and fruit development. *Plant Physiology* 176:1004-1014, <https://doi.org/10.1104/pp.17.01127>
- Narbona E., M. L. Buide, I. Casimiro-Soriguer y J. C. del Valle (2014) Polimorfismos de color floral: causas e implicaciones evolutivas. *Ecosistemas* 23:36-47, <https://doi.org/10.7818/ECOS.2014.23-3.06>
- Pagter M., I. Lefèvre, R. Arora and J. F. Hausman (2011) Quantitative and qualitative changes in carbohydrates associated with spring deacclimation in contrasting *Hydrangea* species. *Environmental and Experimental Botany* 72:358-367, <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2011.02.019>
- R Core Team (2006) R: A Language and Environment for Statistical Computing. Version 3.6.3. The R Foundation. Vienna, Austria. <https://cran.r-project.org/doc/manuals/r-release/fullrefman.pdf> (May 2023).
- Sabri N., M. F. Kamarudin, R. Hamzah, N. N. A. Manghsor, K. A. F. A. Samah and N. Hasan (2019) Combination of color, shape and texture features for orchid classification. *2019 IEEE 9th International Conference on System Engineering and Technology* 2019:315-319, <https://doi.org/10.1109/ICSEngT.2019.8906322>
- SAS Institute (2004) SAS/STAT® 9.1 User's Guide. SAS Institute Inc. Cary, North Carolina, USA. 5121 p.
- Schreiber H. D., S. E. Wade, K. M. Mayhew and J. A. Cobb (2011) Characterization of *Hydrangea macrophylla* cultivars by the anthocyanin content in their sepals. *Journal of Environmental Horticulture* 29:131-136, <https://doi.org/10.24266/0738-2898-29.3.131>
- Shi L., Z. Li and D. Song (2019) A flower auto-recognition system based on deep learning. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* 234:012088, <https://doi.org/10.1088/1755-1315/234/1/012088>
- SIAP, Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (2020) Anuario estadístico de la producción agrícola. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. Ciudad de México. <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/> (Febrero 2020).
- Singh S., D. Dhyan and A. K. Yadav (2011) Flower colour variations in gerbera (*Gerbera jamesonii*) population using image analysis. *Indian Journal of Agricultural Sciences* 81:1130-1136.
- Siraj F., M. A. Salahuddin and S. A. M. Yusof (2010) Digital image classification for Malaysian blooming flower. In: 2010 Second International Conference on Computational Intelligence, Modelling and Simulation. Institute of Electrical and Electronics Engineers. Bali, Indonesia. pp:33-38, <https://doi.org/10.1109/CIMSiM.2010.92>
- Sun Y., L. Zhu, G. Wang and F. Zhao (2017) Multi-input convolutional neural network for flower grading. *Journal of Electrical and Computer Engineering* 2017:9240407, <https://doi.org/10.1155/2017/9240407>
- Tan W. N., Y. F. Tan, A. C. Koo and Y. P. Lim (2012) Petals' shape descriptor for blooming flowers recognition. In: Proceedings 8334, Fourth International Conference on Digital Image Processing. M. Othman, S. Senthilkumar and Y. Xie (eds.). The International Society for Optics and Photonics. pp:1-6, <https://doi.org/10.1117/12.966367>
- UPOV, International Union for the Protection of New Varieties of Plants (2020) Pluto. Plant Variety Database. International Union for the Protection of New Varieties of Plants. Geneva, Switzerland. <https://pluto.upov.int/login1> (March 2020).
- Wu N., C. Zhang, X. Bai, X. Du and Y. He (2018) Discrimination of chrysanthemum varieties using hyperspectral imaging combined with a deep convolutional neural network. *Molecules* 23:2831, <https://doi.org/10.3390/molecules23112831>
- Yoshida K., Y. Toyama-Kato, K. Kameda and T. Kondo (2003) Sepal color variation of *Hydrangea macrophylla* and vacuolar pH measured with a proton-selective microelectrode. *Plant and Cell Physiology* 44:262-268, <https://doi.org/10.1093/pccp/pcg033>
- Yoshioka H., Y. Iwata, N. Matsuura, S. Hase, R. Ninomiya and S. Ohsawa (2006) Genetic combining ability of petal shape in garden pansy (*Viola × wittrockiana* Gams) based on image analysis. *Euphytica* 151:311-319, <https://doi.org/10.1007/s10681-006-9151-2>