



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE EDAFOLOGÍA

**DEFICIENCIAS DE HIERRO Y MANGANESO EN HOJAS DE FRIJOL
(*Phaseolus vulgaris* L.) IDENTIFICADAS MEDIANTE ANÁLISIS
TEXTURAL, COLOR DE IMÁGENES DIGITALES Y
REDES NEURONALES ARTIFICIALES**

EDGAR GARCÍA CRUZ

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

2013

La presente tesis titulada: **Deficiencias de hierro y manganeso en hojas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) identificadas mediante análisis textural, color de imágenes digitales y redes neuronales artificiales** realizada por el alumno: **Edgar García Cruz**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS

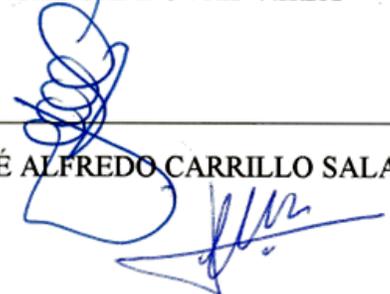
EDAFOLOGÍA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO


DR. MANUEL SANDOVAL VILLA

ASESOR


DR. JOSÉ ALFREDO CARRILLO SALAZAR

ASESOR

M.C. JORGE MANUEL VALDÉZ CARRAZCO

ASESOR


M.C. PAULINA HAYDEÉ GONZÁLEZ FIERRO

Montecillo, Texcoco, Estado de México, Septiembre de 2013

DEFICIENCIAS DE HIERRO Y MANGANESO EN HOJAS DE FRIJOL (*Phaseolus vulgaris* L.) IDENTIFICADAS MEDIANTE ANÁLISIS TEXTURAL, COLOR DE IMÁGENES DIGITALES Y REDES NEURONALES ARTIFICIALES

RESUMEN

Edgar García Cruz, M.C.
Colegio de Postgraduados, 2013

En la presente investigación se analizaron imágenes digitales de hojas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) para identificar con un clasificador, deficiencias de hierro (Fe) y manganeso (Mn). A los 24 días después de la siembra (dds) se les suministró la solución nutritiva de acuerdo a ocho tratamientos: dos deficiencias parciales, una de 50 % Fe y otra de 50 % Mn; dos deficiencias totales, 0 % Fe y una más de 0 % Mn además de una interacción (0 % Fe, 0 % Mn) y dos dosis excedentes (200 % Fe y 200 % Mn); finalmente un tratamiento testigo (100 % Fe, 100 % Mn) usando como referencia la solución Steiner. A partir de imágenes digitales de muestras de hojas de los tratamientos obtenidas a los 63 dds, se calcularon variables de color con los valores promedio de los canales de los espacios de color RGB y CIELab, el croma y el matiz. Además, se calcularon promedios de cuatro variables texturales: Segundo momento angular (SMA), entropía (EN), inercia (IN) y homogeneidad local (HoL). Tanto las variables de color como las de textura fueron usadas como variables independientes para generar clasificadores de grupos de datos de ocho, seis y cuatro tratamientos o clases de salida de deficiencias de Fe y Mn con el programa de redes neuronales NeuroShell® Classifier Release 2.2. Se obtuvo que usando sólo características texturales se obtienen bajos porcentajes de precisión en los clasificadores. Usando sólo características de color mejoran los porcentajes de clasificaciones correctas pero se requiere un mayor uso de neuronas de la capa interna, mientras que la combinación de características texturales y de color genera mejores resultados con un menor número de neuronas de la capa interna. Finalmente, de los clasificadores generados se eligió un clasificador con una eficiencia del 81.25 % usando doce variables de entrada, combinando características de textura y color, y cuatro clases de salida.

Palabras clave: RGB, textura, redes neuronales, *Phaseolus vulgaris*, hierro, manganeso

IRON AND MANGANESE DEFICIENCIES IN BEAN CROP LEAVES (*Phaseolus vulgaris* L.) IDENTIFIED BY TEXTURE, COLOR DIGITAL IMAGES ANALYSIS AND ARTIFICIAL NEURAL NETWORKS

ABSTRACT

Edgar García Cruz, M.C.
Colegio de Postgraduados, 2013

This research was carried out with the aim to analyze by digitalization bean leaves (*Phaseolus vulgaris* L.) under different doses of iron (Fe) and manganese (Mn). Eight treatments were set up to evaluate: a control treatment (100% Fe, 100% Mn); two partial deficiencies (50% Fe and 50% Mn); two total deficiencies (0% Fe and 0% Mn), an interaction of the absence of both microelements (0%Fe, 0%Mn) and two doses surplus (200 % Fe y 200 % Mn). The reference for the doses design was the Steiner nutrient solution. An image digital analysis was performed to obtain values from the color spaces RGB and CIELab, plus Chroma (C) and Hue (H) as well as four textural parameters: Angular Second Moment (ASM), Entropy (En), Inertia (IN) and Local Homogeneity (LoH). These color and textural features were extracted from samples of bean leaves (63 days after sowing) treated according with the eight conditions above mentioned. Later, using a different number of variables combination with three data groups: eight, six and four treatments or output variables, various classifiers proposals were generated using neural networks software, the NeuroShell® Classifier Release 2.2 with the aim of classifying the Fe and Mn deficiencies categories. It was found that the use of only textural features results in low accuracy percentages, while the combination of just color features generates better results but it is needed a mayor number of inner layer neurons. But the use of textural and color features generates better correct classifications percentages with a minor number of inner layer neurons. Finally, from the proposed classifiers, one of them was selected, with an 81.25 % of accuracy and the use of twelve input variables involving textural and color features and four output variables.

Keywords: RGB, texture, neural networks, *Phaseolus vulgaris*, iron, manganese

AGRADECIMIENTOS

Mis más sinceros agradecimientos,

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo económico otorgado para la realización de esta investigación al igual que al Colegio de Postgraduados por proporcionar los recursos humanos y de investigación.

A los integrantes del Consejo Particular: Al Dr. Manuel Sandoval por su invaluable apoyo y disposición en todo momento; al Dr. Alfredo Carrillo por su inestimable contribución; al M. C. Jorge Valdéz por sus valiosas sugerencias y a la M. C. Paulina González por sus consejos y amistad.

A la M. C. Juliana Padilla por su esmero en transmitir sus conocimientos. Al Dr. Porfirio Ramírez por proporcionar el material vegetal para el experimento. Gracias también a todos los profesores de quienes aprendí a lo largo de dos años y que de forma indirecta contribuyeron con esta investigación.

A mis más grandes amigos, y a todos aquellos quienes estuvieron involucrados de una u otra forma y que con acciones o palabras motivaron la continuación...

Edgar García

DEDICATORIA



*Dedicada especialmente a todos aquellos
que no abandonan los sueños y los anhelos...*

*...Al ser extraordinario
que su corazón nunca dejó de creer*



CONTENIDO

I.	INTRODUCCIÓN GENERAL	1
1.1	Justificación	1
II.	OBJETIVOS	2
2.1	Objetivo general	2
2.2	Objetivos particulares.....	2
III.	HIPÓTESIS	3
3.1	Hipótesis general	3
IV.	REVISIÓN DE LITERATURA	3
4.1	El cultivo de frijol en México	3
4.2	Deficiencia de hierro y manganeso en el cultivo del frijol	4
4.3	Análisis de imágenes y sus aplicaciones	6
4.4	Redes neuronales artificiales	10
V.	MATERIALES Y MÉTODOS	12
5.1	Establecimiento del experimento	12
5.2	Análisis de imágenes y generación de modelos	16
5.3	Análisis químico del material vegetal	23
5.4	Análisis estadístico.....	26
VI.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	27
6.1	Entrenamiento de grupos de datos	27
6.2	Validación de grupos de datos	27
6.3	Elección del clasificador	36
6.4	Análisis estadístico de los análisis de imágenes.....	40
6.5	Análisis estadístico de las concentraciones de micronutrientes en el tejido vegetal	53
VII.	CONCLUSIONES	61
VIII.	LITERATURA CITADA	62

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Tratamientos evaluados en la investigación con base en la solución Steiner.....	13
Cuadro 2. Entrenamiento y validación de clasificadores creados con redes neuronales artificiales cuando se consideraron ocho clases de salida o tratamientos (100 % de Fe y Mn; 200 % Fe, 100 % Mn; 50 % Fe, 100 % Mn; 0 % Fe, 100 % Mn; 0 % Fe, 0 % Mn; 100 % Fe, 0 % Mn; 100 % Fe, 50 % Mn y 100 % Fe, 200 % Mn).	28
Cuadro 3. Entrenamiento y validación de clasificadores creados con redes neuronales artificiales cuando se consideraron seis clases de salida o tratamientos (100 % de Fe y Mn; 50 % Fe, 100 % Mn; 0 % Fe, 100 % Mn; 0 % Fe, 0 % Mn; 100 % Fe, 0 % Mn y 100 % Fe, 50 % Mn).....	32
Cuadro 4. Entrenamiento y validación de clasificadores creados con redes neuronales artificiales cuando se consideraron cuatro clases de salida o tratamientos (100 % de Fe y Mn; 0 % Fe, 100 % Mn; 0 % Fe, 0 % Mn; 100 % Fe, 0 % Mn y 100 % Fe, 0 % Mn).	33
Cuadro 5. Estadísticas del arreglo matricial (tabla de contingencia) para la combinación de variables R, G, B, L, a, b, C, H, SMA, EN, IN y HoL usando cuatro clases de salida o tratamientos (100 % de Fe y Mn; 0 % Fe, 100 % Mn; 0 % Fe, 0 % Mn; 100 % Fe, 0 % Mn y 100 % Fe, 0 % Mn).....	37
Cuadro 6. Grado de atribución al tratamiento equivocado para la combinación de variables R, G, B, L, a, b, C, H, SMA, EN, IN y HoL usando cuatro clases de salida o tratamientos (100 % de Fe y Mn; 0 % Fe, 100 % Mn; 0 % Fe, 0 % Mn; 100 % Fe, 0 % Mn y 100 % Fe, 0 % Mn).	39
Cuadro 7. Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para el canal R (rojo).....	40
Cuadro 8. Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para G (green).	41
Cuadro 9. Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para B (blue).....	42
Cuadro 10. Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para CIEL.	43
Cuadro 11. Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para CIEa.....	44
Cuadro 12. Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para CIEb.	45
Cuadro 13. Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para C (croma).	46
Cuadro 14. Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para H (hue).	47
Cuadro 15. Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para SMA (segundo momento angular).....	48
Cuadro 16. Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para EN (entropía).....	49
Cuadro 17. Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para IN.....	50
Cuadro 18. Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para la homogeneidad local (HoL).	52
Cuadro 19. Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para Fe ²⁺ (mg·kg ⁻¹).	53
Cuadro 20. Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para Fe total (mg·kg ⁻¹).	56
Cuadro 21. Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para Mn (mg·kg ⁻¹).	59
Cuadro 22. Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para la relación Fe-Mn.	61

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Apreciación visual del estado fenológico del cultivo previo y en el momento del transplante 24 días después de la siembra (dds) y con los cotiledones ya eliminados.	13
Figura 2. Vista general del establecimiento del cultivo en los vasos de poliestireno.....	14
Figura 3. Las plantas fueron sumergidas en todo momento en la solución nutritiva, la cual se cambió y agitó periódicamente para evitar la acumulación de algas.	15
Figura 4. Momento previo a la colecta de hojas para su digitalización.....	17
Figura 5. Cuarta hoja de frijol var. Cacahuete recientemente madura de los tratamientos: (a) 100 % de Fe y Mn, (b) 200 % Fe y 100 % Mn, (c) 50 % Fe y 100 % Mn, (d) 0 % Fe y 100 % Mn, (e) 0 % Fe y 0 % Mn, (f) 100 % Fe y 0 % Mn, (g) 100 % Fe y 50 % Mn, (h) 100 % Fe y 200 % Mn, colectadas a los 63 dds en septiembre 2012 de plantas cultivadas en semi-hidroponía.....	21
Figura 6. Submuestras obtenidas de las hojas de frijol var. Cacahuete recientemente madura de los tratamientos: (a) 100 % de Fe y Mn, (b) 200 % Fe y 100 % Mn, (c) 50 % Fe y 100 % Mn, (d) 0 % Fe y 100 % Mn, (e) 0 % Fe y 0 % Mn, (f) 100 % Fe y 0 % Mn, (g) 100 % Fe y 50 % Mn, (h) 100 % Fe y 200 % Mn, colectadas a los 63 dds en septiembre 2012 de plantas cultivadas en semi-hidroponía.....	22
Figura 7. (a) Destrucción de la materia orgánica y aparición de humos pardos; (b) Vista superior del tubo Follin – Wu conteniendo la muestra; (c) Aparición de los humos blancos, indicando una destrucción total de la materia orgánica; (d) Muestra recién sacada del bloque digestor.....	24
Figura 8. (a) Molido de la muestra en el mortero de porcelana; (b) Molido parcial de la hoja; (c) Colocación de los tubos en la centrífuga para separar la fase sólida de la líquida; (d) Matraces de aforo de 25 mL; (e) Paso previo a la filtración; (f) Filtración de la fase líquida que contiene el Fe soluble extraído.	26
Figura 9. Gráfica de tendencias del espacio de color RGB en función de la concentración de Fe y Mn en la solución nutritiva.....	42
Figura 10. Gráfica de tendencias del espacio de color CIELab en función de la concentración de Fe y Mn en la solución nutritiva.....	44

Figura 11. Gráfica de tendencias de los canales L y b del espacio de color CIELab en función de la concentración de Fe y Mn en la solución nutritiva.....	45
Figura 12. Gráfica de tendencias del C (croma) en función de la concentración de Fe y Mn en la solución nutritiva.	46
Figura 13. Gráfica de tendencias del H en función de la concentración de Fe y Mn en la solución nutritiva.....	48
Figura 14. Gráfica de tendencias de la entropía (EN) en función de la concentración de Fe y Mn en la solución nutritiva.....	49
Figura 15. Gráfica de tendencias del segundo momento angular (SMA) e inercia (IN) en función de la concentración de Fe y Mn en la solución nutritiva.....	51
Figura 16. Gráfica de tendencias de la homogeneidad local (HoL) en función de la concentración de Fe y Mn en la solución nutritiva.....	52
Figura 17. Tendencia de la concentración de Fe^{2+} ($mg\ kg^{-1}$ materia seca) en el tejido vegetal en función de la concentración de Fe en la solución nutritiva.....	54
Figura 18. Gráfica de tendencias de la concentración de Fe total ($mg\ kg^{-1}$ peso seco) en el tejido vegetal en función de la concentración de Fe en la solución nutritiva.....	55
Figura 19. Gráfica de comparación de las concentraciones de Fe^{2+} e Fe soluble ($mg\ kg^{-1}$ peso seco) en el tejido vegetal.	57
Figura 20. Tendencia de la concentración de Mn en el tejido vegetal ($mg\ kg^{-1}$ peso seco) en función de la concentración del mismo micronutriente en la solución nutritiva.	58
Figura 21. Tendencias de la concentración de Fe soluble y total y Mn en el tejido vegetal ($mg\ kg^{-1}$ peso seco) en función de la concentración de Fe y Mn en la solución nutritiva. ..	60

I. INTRODUCCIÓN GENERAL

1.1 Justificación

La detección de deficiencias nutrimentales de un cultivo se da por lo general mediante un análisis químico; sin embargo, la dinámica del ciclo de vida en la mayoría de los casos es muy rápida, por lo que el tiempo se convierte en un inconveniente al momento de hacer diagnósticos en el estado nutrimental del cultivo. Esto ha llevado a los investigadores a la exploración de otras herramientas diferentes a un análisis químico. Paralelamente existe también el inconveniente en la expresión de los síntomas visuales de las deficiencias de micronutrientes como el hierro y el manganeso, los cuales pueden llegar a ser confundidos, o bien la relación entre estos dos elementos, la cual, en caso de estar en desbalance puede provocar efectos en la asimilación o acumulación de acuerdo a la proporción de cada uno.

Una herramienta no necesariamente explorada en su totalidad, es el uso de los análisis de imágenes digitales para determinar un estatus nutrimental en algún cultivo o bien cuantificar daños causados por insectos. El análisis de color ha jugado un papel importante en el uso de esta herramienta, sin embargo, también existe el análisis textural que en algunos casos ha servido para identificar, por ejemplo, malezas en un cultivo.

Si bien se ha investigado acerca del color en la detección de deficiencias y el papel que juega la sintomatología visual del cultivo, poco es lo que se ha explorado respecto a las características texturales y su papel como indicadores de deficiencias nutrimentales y que probablemente tendrían la ventaja de anticiparse a las manifestaciones visuales de dicha deficiencia de algún elemento.

Particularmente, en la presente investigación se pretende proponer el uso de estas características texturales y de color del cultivo de frijol como herramienta de detección del estatus nutrimental del cultivo en etapas tempranas, así como el contraste con análisis químicos llevados a cabo en el laboratorio para generar un método de detección de deficiencias que se anticipe a la expresión visual de los síntomas.

II. OBJETIVOS

2.1 Objetivo general

2.1.1 Identificar las deficiencias de nutrimentales de hierro y manganeso, que tienen patrones de clorosis similar, con base en análisis textural y de color de imágenes de hojas de frijol, y un clasificador obtenido con redes neuronales artificiales

2.2 Objetivos particulares

2.2.1 Determinar si las variables texturales son más importantes que las de color para identificar deficiencias nutrimentales con patrón de clorosis similar como lo son la de hierro y manganeso, mediante el análisis digital de imágenes de hojas de frijol previa inducción de deficiencias nutrimentales con patrón de clorosis similar como lo son la de hierro y manganeso.

2.2.2 Correlacionar los análisis de imágenes con los resultados de los análisis químicos para la determinación de hierro y manganeso.

III. HIPÓTESIS

3.1 Hipótesis general

El análisis digital de imágenes proporciona información para la detección de deficiencias nutrimentales de micronutrientes con sintomatología visual similar por lo que constituye una herramienta de diagnóstico.

IV. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1 El cultivo de frijol en México

El cultivo de frijol es fundamental para la economía campesina mexicana, como fuente de ocupación e ingreso, así como garantía de seguridad alimentaria, vía autoconsumo. Para una proporción amplia de la población mexicana, este cultivo representa la principal, y en ocasiones la única, fuente de proteínas (ASERCA, 1997). El frijol ocupa el segundo lugar a nivel nacional en superficie promedio anual sembrada. Además, por el número de productores dedicados a su cultivo, esta especie representa la segunda actividad agrícola más importante en el país (SAGAR, 1998). Agrega que el consumo per cápita anual es de aproximadamente 15 kg, el segundo más alto de América Latina, después de Brasil. El cultivo de frijol se practica en todas las regiones del país, bajo las condiciones más diversas de suelo y clima.

Jiménez y Acosta (2013) en un estudio de rendimiento de frijol y densidades de siembra mencionan también que es importante considerar que el cultivo de frijol tiene gran importancia social ya que de acuerdo a cifras publicadas por la SAGARPA (2010), en nuestro país existen 570,000 productores. Además, la implementación del cultivo genera 76 millones de jornales que equivalen a 382,000 empleos permanentes en México. Sólo en el

estado de Chihuahua existen 22,380 productores de frijol el cual establece en diversas áreas que varían en potencial productivo, desde aquellas altamente productivas en riego hasta las de baja productividad. En temporal, aún en áreas de alto potencial el rendimiento promedio es bajo, y en éstas y en áreas de mediano potencial se puede lograr el incremento sostenible del rendimiento que permita mayor rentabilidad. Lo anterior dará certidumbre a los productores, comercializadores y transformadores de frijol.

4.2 Deficiencia de hierro y manganeso en el cultivo del frijol

De acuerdo con Hansen *et al.* (2009), el frijol es una especie susceptible a deficiencia de Fe, mientras que Clark (1991) menciona que la deficiencia de Fe puede disminuir hasta 100% el rendimiento de frijol. La deficiencia de Fe se manifiesta como clorosis intervenal. La importancia del Fe radica en sus funciones de aceptación y donación de electrones y juega un papel importante en la cadena de transporte de electrones de la fotosíntesis y respiración, por lo que es indispensable en la transferencia de energía en la planta. Además, el Fe es un constituyente de enzimas y proteínas y al igual tiene importancia en el metabolismo (Ebrahimian y Bybordi, 2011).

El Mn forma complejos estables con moléculas biológicas; cataliza la formación de la clorofila y las reacciones de óxido-reducción en los tejidos. En las plantas es un elemento poco móvil y en el suelo se encuentra en compuestos análogos a aquellos del Fe. Su disponibilidad es limitada en suelos que presentan valores altos de pH o que presentan carbonatos libres. La deficiencia de Mn en las dicotiledóneas se caracteriza, a menudo, por pequeñas manchas amarillas, o clorosis intervenal; las hojas superiores de las plantas con deficiencia se vuelven amarillentas entre nervaduras, mientras que éstas permanecen verdes. La toxicidad por Mn a su vez distorsiona las hojas y se observa manchas oscuras.

En casos severos, hay un necrosamiento de los bordes de las hojas que avanza hacia el interior de las mismas a medida que se incrementa la severidad (Schulte y Kelling, 1999). De acuerdo con Mengel y Kirkby (1987), el nivel de deficiencia crítico para la mayoría de las especies está en el rango de 15 a 25 mg L⁻¹ en la materia seca en las plantas superiores. Jones *et al.* (1991) a su vez, menciona un rango de 15 a 49 mg kg⁻¹ como bajo. El mismo autor establece una concentración de 50 a 300 mg kg⁻¹ como óptimo tanto para Mn como para Fe.

Weinstein y Robbins (1954) mencionan la dificultad para separar el papel del Fe y el Mn en la nutrición vegetal debido a que estos elementos han mostrado ser antagonistas, de ahí que se hayan estudiado algunos de los efectos de ambos micronutrientes en condiciones de deficiencia y sus interacciones. En estudios llevados a cabo por Kelley (1914) y Johnson (1924), citados por Somers y Shive (1942), se registra que la oxidación del Fe puede ser ocasionada por las cantidades de Mn en el suelo, actuando así como un agente oxidante resultando en la indisponibilidad de Fe para la planta. Twyman (1951) sugiere que la deficiencia de Fe inducida por Mn es el resultado de la sustitución del Mn por dos átomos de hidrógeno (H) o por Fe en las moléculas de porfirina.

Respecto a una apreciación visual, Barbazán (1998) asevera que los síntomas de deficiencia aparecen solo después que el suministro de un nutriente es tan bajo que la planta no puede contemplar su función adecuadamente. La marcada carencia de un determinado nutriente puede provocar la aparición de síntomas visuales característicos en la planta. Agrega que el Mn y el Fe son nutrimentos relativamente inmóviles en el floema, dado que no son removilizados hacia los tejidos jóvenes cuando disminuye su suministro. En el desarrollo de los síntomas de deficiencia tales nutrientes, su concentración es alta en hojas viejas,

declinando rápidamente en hojas jóvenes. De acuerdo con Yáñez (2002), la deficiencia de ambos elementos se presenta acompañadas una con la otra, por lo que se tiende a la confusión.

4.3 Análisis de imágenes y sus aplicaciones

Para los humanos, una imagen no es solo una colección de píxeles aleatoria, es un arreglo significativo de regiones y objetos. A pesar de las grandes variaciones de estas imágenes, los humanos no tienen problemas en interpretarlas. Y se puede estar de acuerdo acerca de las diferentes regiones en las imágenes y reconocer los diferentes objetos (Wertheimer, 1938).

Así, los cambios de color de la hoja pueden ser una forma práctica para evaluar el estado nutricional de la planta así como su sanidad. El color se mide con escalas visuales y guías de color fáciles de usar en campo y que pueden resultar de gran utilidad en la toma de decisiones. De acuerdo con Gonzalez y Woods (2002), el espacio de color es la especificación de un sistema de coordenadas y sub-espacios dentro de un sistema en donde cada color es representado por un solo punto, característica que es empleada en diversas investigaciones como la llevada a cabo por Murakami *et al.* (2005), en la que establece que el análisis de color digital se ha incrementado por ser un método de bajo costo por técnicos y científicos para evaluar la nutrición foliar y la sanidad en respuesta al estrés ambiental. Por lo que estos autores proponen una guía en la que se analizaron hojas de maple para desarrollar un nuevo método de análisis digital de imágenes en el cual se analizan las bandas o canales R y G del espacio de color RGB (rojo, verde y azul por sus siglas en inglés), las cuales son particularmente útiles para evaluar la sanidad del cultivo.

Sin embargo, existen otras opciones que pueden explorarse como alternativas de análisis de imagen diferentes a los espacios de color. Haralick *et al.* (1973), por ejemplo, propone el análisis textural como herramienta para la clasificación de imágenes que se sitúan en un rango de microfotografías hasta imágenes satelitales. En esta misma investigación definen a la textura como una de las características más importantes usada en la identificación de objetos y regiones de interés en una imagen. Los mismos autores agregan más adelante que las características espectrales, texturales y contextuales son tres elementos usados en la interpretación de las fotografías. Así, las características espectrales describen las variaciones promedio en la tonalidad en varias bandas del espectro electromagnético visible e infrarrojo. Mientras que las características texturales contienen información de la distribución espacial de variaciones de tonalidad dentro de una banda. A su vez, las características contextuales contienen información derivada de bloques de datos pictoriales que rodean el área que está siendo analizada.

Una imagen textural es descrita por el número y tipos de sus primitivas (tonales) y la organización espacial o disposición de sus primitivas (tonales). Una característica fundamental de la textura: no puede ser analizada sin un marco de referencia de primitiva tonal siendo fijada o implicada. Para cualquier superficie lisa de tonos grises, existe una escala tal que cuando la superficie es examinada, no tiene textura. Entonces, como se incrementa la resolución toma una textura fina y después una textura áspera (Haralick, 1979).

La textura es una noción aparentemente paradójica. Por un lado, es comúnmente usada en los primeros procesamientos de información visual, especialmente con propósitos de clasificación. Por otro lado, nadie ha tenido éxito en producir una definición aceptada de

textura comúnmente. La resolución de esta paradoja dependerá de que tan rico o más desarrollado esté el modelo para procesar la información visual temprana, un aspecto central del cual serán sistemas representacionales en los diferentes niveles de abstracción. Estos niveles probablemente incluirán intensidades reales en el fondo y que progresarán a través de los bordes y la orientación de los descriptores de la superficie, tal vez hasta descriptores volumétricos. Dadas estas estructuras multinivel, parece claro que deberían incluirse en la definición de los descriptores texturales (Zucker y Kant, 1981).

Por lo tanto, el análisis de textura es un área de estudio importante y útil en la visión artificial. La mayoría de las superficies poseen textura y un sistema de visión exitoso debe ser capaz de manejar las texturas que lo rodean. De acuerdo con Chen *et al.* (1998), hay dos puntos de vista en la percepción de la textura: el punto de vista de la visión humana o psicofísica y el punto de vista de las aplicaciones prácticas de la visión artificial. Es así como se pueden detectar en campo las manifestaciones visuales de la madurez de un fruto por los cambios en la coloración, las variaciones en las coloraciones de una hoja que indican daños o cambios fisiológicos, hasta llegar a la expresión visual de los síntomas visuales de deficiencias de nutrientes específicamente.

La separación figura-fondo es un aspecto de intenso interés para la psicofísica. Tal separación puede basarse en varias características como el brillo, forma, color, textura, etc. Sin embargo, el ojo humano no es capaz de diferenciar a detalle imágenes con las características mencionadas y con variaciones imperceptibles. Se evalúa entonces el desempeño de la visión humana contra la percepción de la textura a través de varios algoritmos y el resultado es la especificidad en la percepción a favor de la visión artificial.

Julesz (1973) ha estudiado la percepción de la textura extensivamente en el contexto de la discriminación de texturas, a partir de los cuales se pueden definir los siguientes conceptos:

1. Estadísticos de primer orden. Miden la probabilidad de observar un valor gris en la localización aleatoriamente seleccionada en la imagen. Los estadísticos de primer orden pueden ser contados del histograma de intensidades de píxeles en la imagen. Estos dependen solamente de valores de píxel individuales y no de la interacción o co-ocurrencia de valores de píxeles vecinos. La intensidad promedio en una imagen es un ejemplo de estadístico de primer orden.
2. Estadísticos de segundo orden. Son definidos como la probabilidad de observar un par de valores de gris que ocurren en los puntos finales de un dipolo de una longitud aleatoria localizada en la imagen a una orientación y localización aleatoria. Estas son propiedades de valores de píxeles.

Dentro de las aplicaciones, los análisis de textura han sido usados extensamente para clasificar imágenes obtenidas por sensores remotos. La clasificación del uso de la tierra donde se necesitan identificar diferentes tipos de terreno (como trigales, cuerpos de agua, regiones urbanas, etc.) es considerada como una aplicación importante. Haralick *et al.* (1973) usaron características de co-ocurrencia en los niveles de gris para analizar imágenes obtenidas por sensores remotos. Computaron las matrices de co-ocurrencia de niveles de gris para una distancia de uno con cuatro direcciones (0° , 45° , 90° y 135°). Para un problema de clasificación de siete clases, obtuvieron un porcentaje de confiabilidad del 80% usando las características texturales. Específicamente, la textura puede ser evaluada como fina, áspera o lisa; ondulada o lineada. De igual manera, la textura es una propiedad innata de todas las superficies (Haralick *et al.* 1973).

A su vez, Burks *et al.* (2000) llevaron a cabo una investigación en malezas haciendo una clasificación de las mismas usando características texturales y un análisis discriminante. En este estudio, un conjunto de 240 imágenes de seis diferentes clases de cobertura de suelo fueron digitalizadas y se encontró que pudo clasificarse entre el suelo y la planta con una precisión del 100%, mientras que el método de co-ocurrencia de color tuvo una precisión del 93%.

Kim *et al.* (2009) utilizaron el método de co-ocurrencia de color para diferenciar hojas de cítricos con ocho condiciones entre las que se incluían deficiencias de los microelementos Fe, Mn y Zinc (Zn) además de la enfermedad llamada “enverdecimiento de los cítricos”. De igual manera, usaron un análisis discriminante y generaron tres modelos con precisiones del 86.67 cuando tomaron las ocho condiciones; cuando tomaron sólo siete y seis condiciones, 95.60 y 97.33 % respectivamente, esto con la finalidad de eliminar la matriz de confusión.

4.4 Redes neuronales artificiales

Una red neuronal es un sistema de procesamiento de información que es no algorítmico e intensamente paralelo. Consiste en un número de procesadores muy simples y altamente interconectados llamados neurodos, los cuales son análogos a las neuronas en el cerebro. De acuerdo con Haykin (1994), la analogía se debe a que el conocimiento es adquirido por la red a través de un proceso de aprendizaje. Los neurodos están conectados por un gran número de enlaces, a través de los cuales pasa la señal. Cada neurodo recibe muchas señales de las conexiones entrantes; algunas de estas señales entrantes pueden surgir de otros neurodos, y otras pueden surgir desde fuera. El neurodo, por lo general, tiene muchas de estas conexiones de señales entrantes; sin embargo, nunca produce más de una señal

saliente. La señal de salida se transmite por la conexión de salida del neurodo (que corresponde al axón de la neurona), la cual usualmente se divide en un número muy grande de conexiones más pequeñas, las cuales tienen terminales en diferentes destinos. Cada una de estas ramas de la conexión de salida sencilla transmite la misma señal; la señal no se divide entre ellas en ninguna forma. La mayoría de estas ramas termina en la conexión entrante de algún otro neurodo en la red; otras terminan fuera de la red y generan control o patrones de respuesta (Caudill y Butler, 1992).

De acuerdo con Haykin (1994), una red neuronal es un procesador paralelo distribuido masivamente que tiene una tendencia a almacenar conocimiento experiencial y hacerlo disponible para su uso.

Un neurodo en una red neuronal es un dispositivo extremadamente simple. Recibe un estímulo de entrada a lo largo de sus conexiones de entrada y traduce esos estímulos en una respuesta de salida, la cual es transmitida a lo largo de la conexión de salida del neurodo. El lugar donde la conexión de entrada encuentra al neurodo es llamada *sinapsis*, como la sinapsis biológica de las neuronas (Caudil y Butler, 1992).

4.4.1 **Aprendizaje y entrenamiento en una red neuronal**

Las redes neuronales aprenden a resolver un problema; no están programadas para hacerlo.

El aprendizaje y entrenamiento es fundamental para casi todas las redes neuronales. El aprendizaje no se lleva a cabo por modificar los neurodos en la red sino por modificar los pesos en las interconexiones en la red. Cada salida del neurodo está determinada por dos cosas: la señal de entrada y los pesos en las conexiones de entrada al neurodo. Claramente, si el neurodo aprende a responder correctamente a un patrón de señal entrante, el único posible elemento que puede ser usado para mejorar el desempeño del neurodo es el peso en la

conexión. Por lo que el aprendizaje en las redes neuronales consiste en hacer cambios sistemáticos a aquellos pesos con el fin de mejorar el desempeño de la respuesta de la red a niveles aceptables. El entrenamiento y aprendizaje no son lo mismo. El entrenamiento es el procedimiento por el cual la red aprende; el aprendizaje es el resultado final de este procedimiento. El entrenamiento es un procedimiento externo a la red; el aprendizaje es un procedimiento o actividad interna (Caudill y Butler, 1992).

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Establecimiento del experimento

5.1.1 Siembra

En un invernadero en Texcoco, México, se sembraron 120 semillas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) cv. Cacahuate en charolas de 60 cavidades utilizando como sustrato perlita (Agrolita®), el cual es considerado inerte y estéril, depositando una semilla por cavidad. El proceso se inició humedeciendo la perlita y posteriormente se taparon las charolas con una cubierta plástica hasta el momento de la emergencia, con la finalidad de conservar la humedad. Una vez que la radícula fue visible se retiró la cubierta y se llevaron a cabo riegos diarios; durante todo el proceso se utilizó únicamente agua destilada tipo II, la cual es de grado analítico y en la que se han eliminado las impurezas e iones mediante la destilación. Esto con la finalidad de evitar en lo posible la interferencia con los micronutrientes evaluados se eliminaron también los cotiledones a los siete dds.

5.1.2 Transplante

El transplante se llevó a cabo 24 dds (días después de la siembra) en vasos de poliestireno expandido de 1 L de capacidad. Se tomó como referencia el sistema de raíz flotante; la fertilización se hizo en el riego de acuerdo a los ocho tratamientos con las variaciones indicadas en el Cuadro 1, en función del micronutriente a estudiar mediante la técnica del

elemento faltante. Cada tratamiento a su vez tuvo diez repeticiones. La solución nutritiva referencia fue la solución Steiner. Se usó agua destilada tipo II para preparar la solución nutritiva. Estas soluciones fueron ajustadas a un pH de 6.3 y CE de 2.0 dS m⁻¹ y fueron suministradas una vez que las hojas cotiledonares estaban expandidas; previamente las plantas fueron regadas únicamente con agua destilada.



Figura 1. Apreciación visual del estado fenológico del cultivo previo y en el momento del transplante 24 días después de la siembra (dds) y con los cotiledones ya eliminados.

Cuadro 1. Tratamientos evaluados en la investigación con base en la solución Steiner.

Tratamiento	Concentración del micronutriente en la solución nutritiva en mg·L ⁻¹ y porcentaje			
	Fe (mg·L ⁻¹)	Mn (m·gL ⁻¹)	Fe (%)	Mn (%)
1 Testigo (solución Steiner)	3	0.70	100	100
2 Excedente en Fe	6	0.70	200	100
3 Deficiente en Fe	1.5	0.70	50	100
4 Sin Fe	0	0.70	0	100
5 Sin Mn, sin Fe	0	0	0	0
6 Sin Mn	3	0	100	0
7 Deficiente en Mn	3	0.35	100	50
8 Excedente en Mn	3	1.40	100	200



Figura 2. Vista general del establecimiento del cultivo en los vasos de poliestireno.



Figura 3. Las plantas fueron sumergidas en todo momento en la solución nutritiva, la cual se cambió y agitó periódicamente para evitar la acumulación de algas.

5.2 Análisis de imágenes y generación de modelos

5.2.1 Obtención de las imágenes

En la etapa vegetativa se tomó la cuarta hoja recientemente madura de cada una de las diez repeticiones, completamente expandida, para realizar la digitalización a 300 dpi con un escáner comercial tipo “flatbed” comercial HP Scanjet G2410 y se almacenaron en el formato JPG. La digitalización se realizó inmediatamente después de haber sido cortadas las hojas para evitar su marchitamiento. Posteriormente a la digitalización de la hoja, se tomó el foliolo izquierdo, a partir de los cuales se tomaron diez submuestras de cada uno de ellos. Dicha decisión fue tomada a partir de ensayos previos en los que se evaluó el análisis de imagen de cada uno de los foliolos para determinar cuál era el mejor indicador de las características texturales y de color a evaluar. Finalmente se tuvieron 60 subimágenes por cada uno de los tratamientos, constituyendo así un conjunto de 360 subimágenes de 100x100 píxeles cada una. El proceso de manipulación se llevó a cabo usando el programa de distribución libre para Windows, GIMP 2.8.4.



Figura 4. Momento previo a la colecta de hojas para su digitalización.

5.2.2 Análisis de color y textura

Con un programa en Visual Basic® se obtuvieron los valores numéricos para los tres canales de color del espacio RGB (R = Rojo, G = Verde y B = Azul por sus siglas en inglés). Los valores RGB se convirtieron al clasificador de color estándar sRGB (lineales) definido por la Commission Internationale de L'Éclairage (IEC, IEC61966-2-1, 1999 citado por Mendoza *et al.*, 2006), con lo que se calculó el espacio de color CIE-Lab. El croma (C) se calculó con la ecuación $(a^2+b^2)^{1/2}$, mientras que el matiz (H) se calculó a partir del arcotangente de la relación a/b (McGuire, 1992), donde a y b son dos canales del espacio de color CIE-Lab. Se siguió la metodología de Haralick *et al.* (1973) que consistió en obtener la matriz de co-ocurrencia de frecuencias relativas P_{ij} de pares de pixeles vecinos en una imagen digital, uno teniendo nivel de tono i y otro j , separados por $\delta = (r = 1, \theta = 0^\circ, 45^\circ, 90^\circ, 135^\circ)$ en la submuestra, donde r es la distancia en pixeles y θ el ángulo. $\delta = (r)$ denota un vector en las coordenadas polares de la imagen. Los P_{ij} por ángulo se promediaron para generar una matriz de co-ocurrencia promedio, que fue registrada en una hoja de cálculo y donde n es el número de tonos de grises.

En cuanto al análisis textural, se determinaron cuatro características:

- a. Segundo Momento Angular (SMA). Llamada también uniformidad, es una medida local de la homogeneidad y es la característica opuesta a la entropía. Es un estadístico de segundo orden en el dominio espacial. Valores altos son indicadores de uniformidad en los pixeles (Jensen, 1996). Esta característica textural fue calculada usando la fórmula:

$$\sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^m [p_{ij}(\delta, \theta)]^2$$

- b. Entropía (EN). Ésta característica es un estadístico de primer orden y analiza la aleatoriedad. Los valores bajos comprendidos entre 0 y 1 indican uniformidad (Jensen, 1996). A su vez, menciona que ésta característica textural es una medida estadística de la aleatoriedad que puede ser usada para caracterizar la textura de la imagen entrante. Así, la entropía, a partir de la matriz de co-ocurrencia normalizada fue calculada como:

$$\sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^m p_{ij}(\delta, \theta) \log[p_{ij}(\delta, \theta)]$$

- c. Inercia (IN). Calculada a partir de la matriz de co-ocurrencia:

$$\sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^m [(i-j)^2 p_{ij}(\delta, \theta)]$$

- d. Homogeneidad local (HoL). Es una medida de las características de contraste. Al incrementarse las características de contraste cercanas, la homogeneidad local disminuye. Llamada también momento de diferencia inversa. Está dada por la ecuación:

$$\sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^m 1/[1 + (i-j)^2] p_{ij}(\delta, \theta)$$

Para llevar a cabo el análisis textural, la imagen que se tiene originalmente es a color, por lo que podría estar compuesta de alrededor de 16 millones de colores aproximadamente que se originan de la multiplicación de las tres capas del espacio de color RGB (28*28*28). Así entonces, cada canal está compuesto de 256 posibilidades de color. Al convertir dicha

imagen de color a escala de grises, se toma una sola de esas capas y por lo tanto, las posibilidades de color se reducen a solo 256 (28). Posteriormente se llega a una etapa llamada cuantización, en la cual aun hay una reducción más en las posibilidades de color. Para el caso del experimento se toman arbitrariamente 16 posibilidades, lo que significa que todos los colores de la imagen que se sitúen en las posibilidades de color del 1 al 16 tomarán el mismo valor, mientras que los pixeles que se sitúen en los valores del 17 al 32 tomarán un segundo valor y así sucesivamente.

Siguiente a esta etapa se analiza cada uno de los píxeles de la imagen en cuanto a la variación con respecto al pixel vecino en cuatro direcciones: horizontal, vertical, diagonal izquierdo y diagonal derecho con lo que se va conformando un arreglo matricial basado en las frecuencias de ocurrencia de cada tono con respecto a las cuatro direcciones mencionadas. Finalmente se promedian las frecuencias de las cuatro direcciones y se obtiene un valor, el cual será usado para determinar los valores texturales de la imagen analizada. Posteriormente, para la generación del modelo, los datos se introdujeron en el programa NeuroShell® Classifier Release 2.2 de AI Trilogy (Ward Systems Group, Inc.), mismo que realizó la clasificación.

5.2.3 Entrenamiento de datos

Se entrenaron tres grupos de datos de ocho (100 % de Fe y Mn; 200 % Fe, 100 % Mn; 50 % Fe, 100 % Mn; 0 % Fe, 100 % Mn; 0 % Fe, 0 % Mn; 100 % Fe, 0 % Mn; 100 % Fe, 50 % Mn y 100 % Fe, 200 % Mn), seis (100 % de Fe y Mn; 50 % Fe, 100 % Mn; 0 % Fe, 100 % Mn; 0 % Fe, 0 % Mn; 100 % Fe, 0 % Mn y 100 % Fe, 50 % Mn) y cuatro (100 % de Fe y Mn; 0 % Fe, 100 % Mn; 0 % Fe, 0 % Mn y 100 % Fe, 0 % Mn) tratamientos o clases con 315, 234 y 160 submuestras respectivamente. En esta etapa del proceso se probaron

diferentes combinaciones de 12 variables: cinco de ellas relacionadas al color (R, G, B, C, H, CIEL, CIEa y CIEb) y cuatro pertenecientes al análisis textural (SMA, EN, IN y HoL). Como variables de salida se consideraron los ocho, seis o cuatro tratamientos establecidos. Los clasificadores se entrenaron de 3 a 12 variables de entrada independientes arriba mencionadas y un número máximo de 150 neuronas en la capa interna. Se desecharon aquellas combinaciones en las cuales el porcentaje de ajuste de datos fue inferior al 85%, mientras que las que superaron dicho porcentaje se emplearon en la validación de los datos. En la Figura 5 puede observarse la hoja de frijol digitalizada previa a la obtención de las submuestras, las cuales se ejemplifican en la Figura 6.

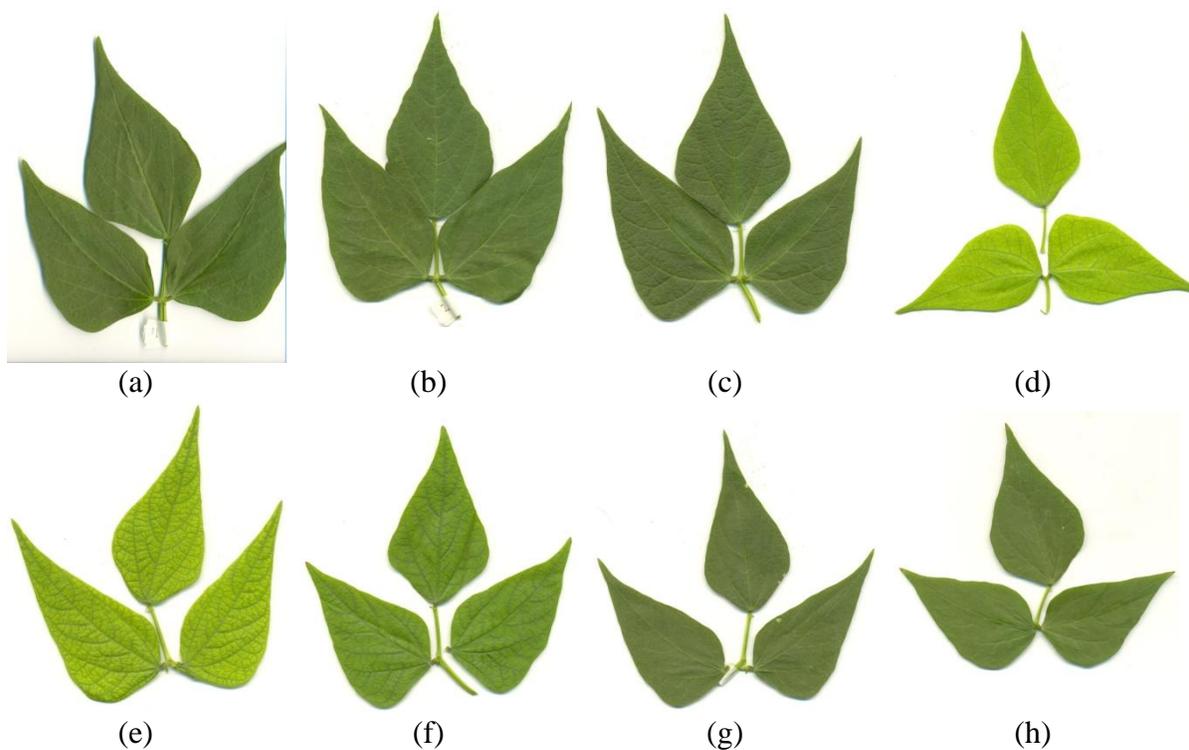


Figura 5. Cuarta hoja de frijol var. Cacahuete recientemente madura de los tratamientos: (a) 100 % de Fe y Mn, (b) 200 % Fe y 100 % Mn, (c) 50 % Fe y 100 % Mn, (d) 0 % Fe y 100 % Mn, (e) 0 % Fe y 0 % Mn, (f) 100 % Fe y 0 % Mn, (g) 100 % Fe y 50 % Mn, (h) 100 % Fe y 200 % Mn, colectadas a los 63 dds en septiembre 2012 de plantas cultivadas en semi-hidroponía.

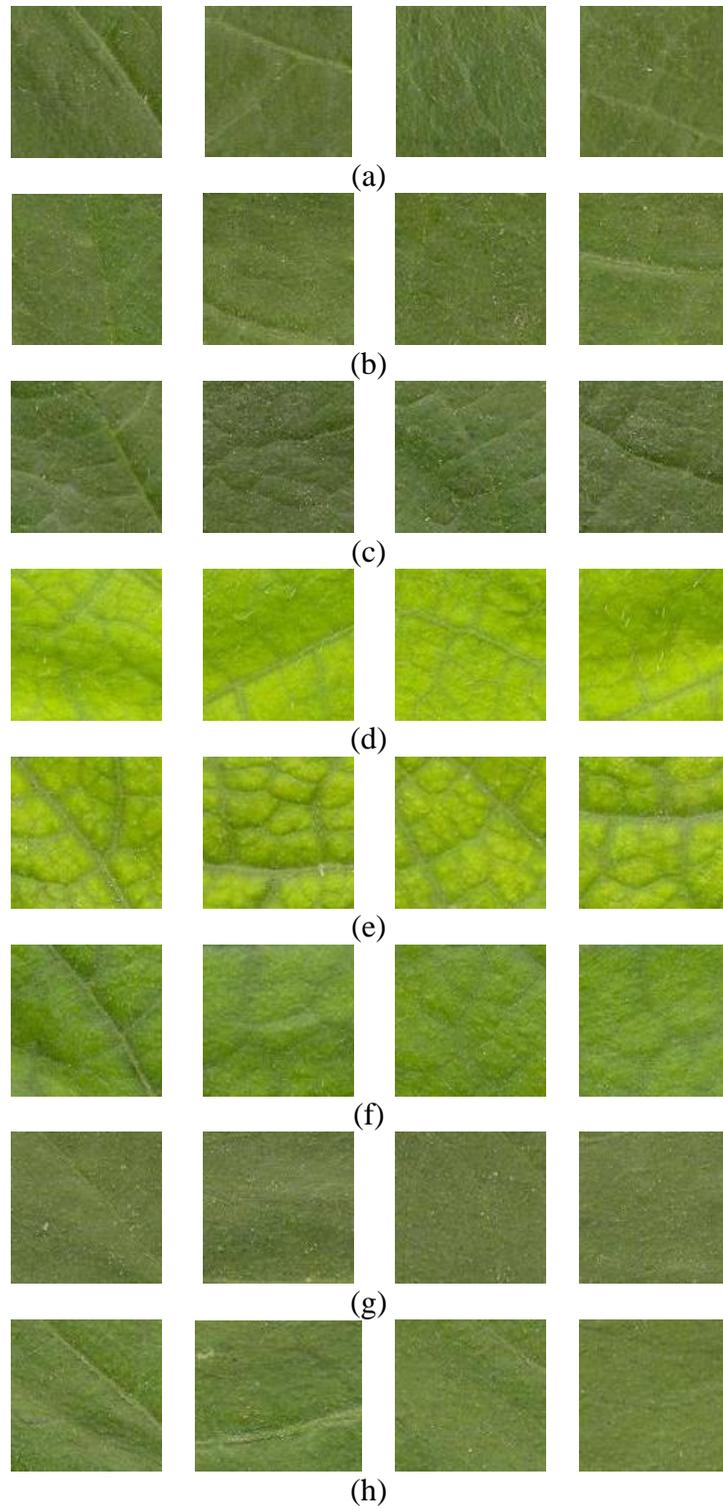


Figura 6. Submuestras obtenidas de las hojas de frijol var. Cacahuete recientemente madura de los tratamientos: (a) 100 % de Fe y Mn, (b) 200 % Fe y 100 % Mn, (c) 50 % Fe y 100 % Mn, (d) 0 % Fe y 100 % Mn, (e) 0 % Fe y 0 % Mn, (f) 100 % Fe y 0 % Mn, (g) 100 % Fe y 50 % Mn, (h) 100 % Fe y 200 % Mn, colectadas a los 63 dds en septiembre 2012 de plantas cultivadas en semi-hidroponía.

5.2.4 Validación de los datos

Se validaron un grupo de 160, 120 y 80 submuestras para los grupos de datos de ocho, seis y cuatro clases respectivamente. Estas submuestras son independientes de las usadas para el entrenamiento de los datos. Para la elección de los modelos a sugerir se tomó en cuenta el porcentaje de clasificaciones correctas en la validación de los datos, número de neuronas de la capa interna y el número de variables de entrada empleadas en la combinación.

5.3 Análisis químico del material vegetal

5.3.1 Determinación de hierro total y manganeso

A partir de las mismas hojas colectadas para el análisis de imágenes digitales se llevó a cabo el análisis químico para la determinación de la concentración de hierro total y manganeso en el tejido vegetal. Con la finalidad de garantizar la representatividad de la muestra, y dado que una sola hoja podría no ser suficiente para tomar dos muestras se mezclaron dos repeticiones, por lo que finalmente se obtuvieron cinco repeticiones por tratamiento.

La técnica usada se basó en la propuesta por Alcántar y Sandoval (1999); por lo que se secaron las hojas en una estufa a una temperatura de 70 °C por un periodo de 24 horas aproximadamente. Posteriormente, usando un mortero de porcelana, se molieron las muestras hasta su pulverización.

Se tomaron 0.1 g del material vegetal que fueron colocados en tubos Follin-Wu y a los cuales se adicionaron 6 mL de la mezcla de ácidos nítrico – perclórico (2:1) para iniciar el proceso de predigestión. En una siguiente etapa, los tubos fueron colocados en un block digester para la destrucción de la materia orgánica a una temperatura de 210 °C. Los tubos fueron retirados una vez que se visualizó la aparición de la reacción viciosa (aparición de

humos blancos) y se consideró la evaporación del ácido nítrico y que se reflejó en la reducción del volumen de la muestra.

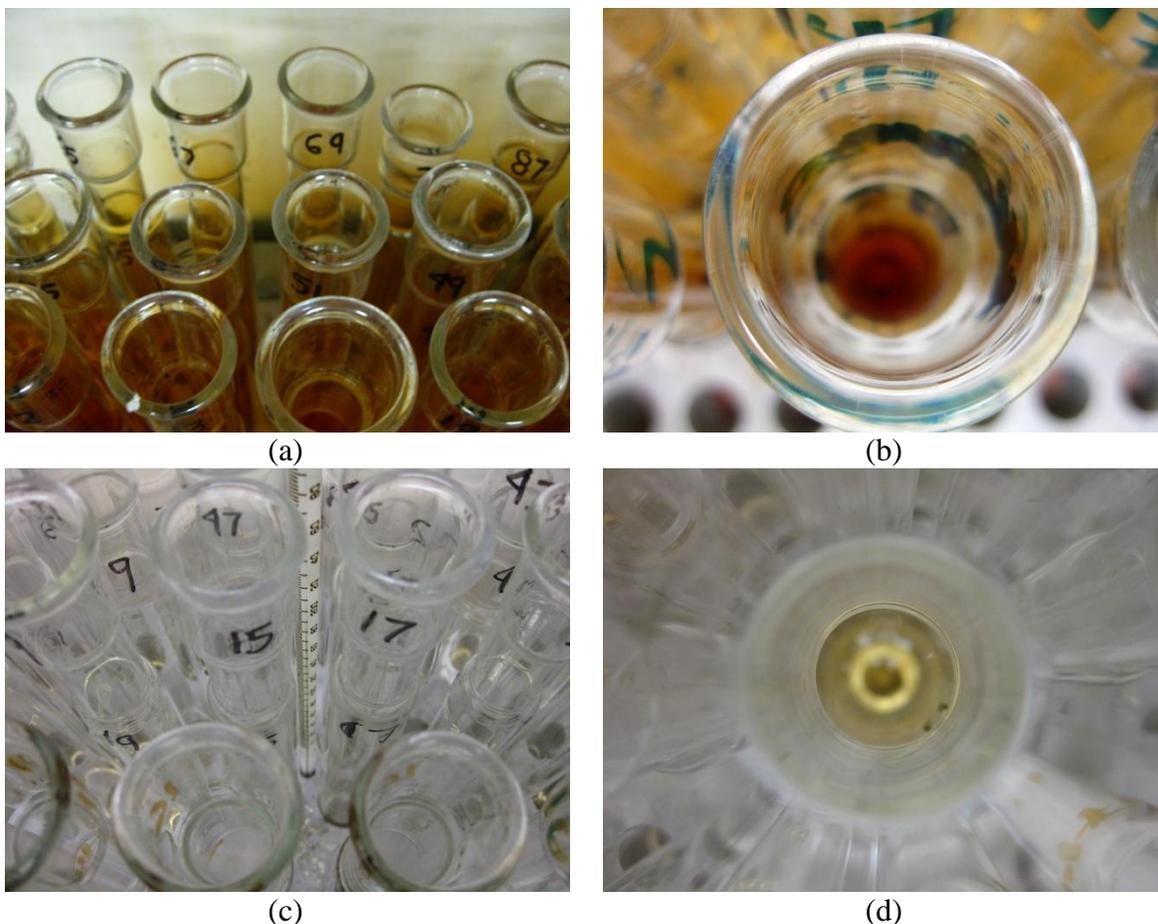


Figura 7. (a) Destrucción de la materia orgánica y aparición de humos pardos; (b) Vista superior del tubo Follin – Wu conteniendo la muestra; (c) Aparición de los humos blancos, indicando una destrucción total de la materia orgánica; (d) Muestra recién sacada del bloque digestor.

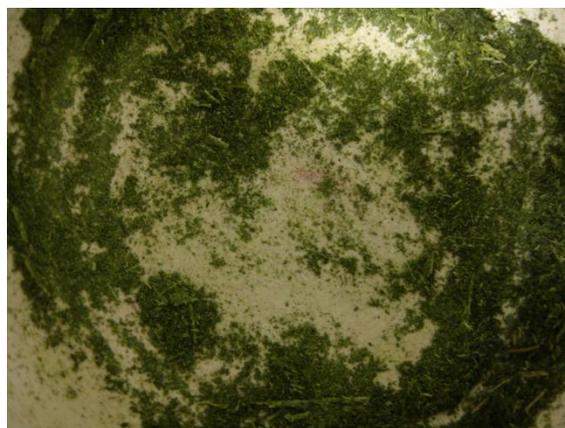
Posteriormente se agitaron las muestras en los mismos tubos y se aforó hasta llegar a un volumen de 25 mL utilizando agua desionizada. Dichas muestras fueron leídas en el espectrofotómetro de absorción atómica AAS 220 a una longitud de onda de 213 nm para Fe y 525 nm para Mn.

5.3.2 Extracción de hierro soluble

Para la determinación específica de Fe^{2+} , la técnica usada se basó en el método propuesto por Oserkowksy (1933). Se tomaron 0.1 g del material vegetal previamente molido y se colocaron en tubos para centrifuga de polipropileno de 50 mL (Nalgene®) con rosca; se agregaron 15 mL de HCl 1N y se colocaron en un oscilador por un periodo de tiempo de 4 horas. Posteriormente las muestras se centrifugaron durante 30 minutos a una velocidad de 3000 rpm. Finalmente, utilizando matraces de aforo de 25 mL, las muestras fueron filtradas vaciando únicamente la fase superior utilizando papel filtro del número 1 (Whatman®). El aforo se hizo utilizando agua desionizada. Las muestras fueron leídas en el espectrofotómetro de absorción atómica leyendo a 213 nm.



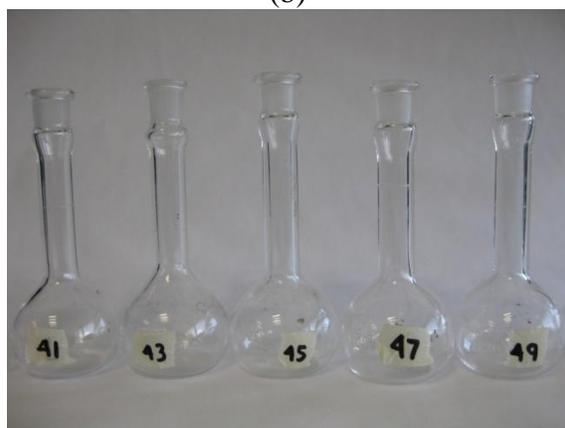
(a)



(b)



(c)



(d)



(e)



(f)

Figura 8. (a) Molido de la muestra en el mortero de porcelana; (b) Molido parcial de la hoja; (c) Colocación de los tubos en la centrífuga para separar la fase sólida de la líquida; (d) Matraces de aforo de 25 mL; (e) Paso previo a la filtración; (f) Filtración de la fase líquida que contiene el Fe soluble extraído.

5.4 Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza usando el programa SAS (Statistical Analysis System)® versión 9.3.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Entrenamiento de grupos de datos

Un primer paso en el manejo de los datos fue evaluar los mismos en el proceso de entrenamiento de los datos, por lo que se tomaron submuestras de los tres foliolos de la hoja; se analizaron dichos foliolos individualmente y en conjunto. De acuerdo con los resultados obtenidos en cuanto al ajuste de los datos, el foliolo izquierdo resultó tener un mejor porcentaje de clasificaciones correctas, por lo que se determinó hacer uso de este mismo en las pruebas posteriores.

6.2 Validación de grupos de datos

6.2.1 Entrenamiento y validación del grupo de datos con ocho tratamientos

Para el primer grupo de datos, como puede observarse en el Cuadro 2 que incluye los ocho tratamientos o clases, es decir, variaciones en las concentraciones de Fe y Mn de 0 a 200 % para cada uno de los micronutrientes se obtuvieron porcentajes de clasificaciones correctas por encima del 30 % pero inferiores a 56 %. Dentro de las combinaciones de variables de entrada que peor resultado arrojaron fueron usar únicamente características texturales como variables de entrada, mientras que la combinación de variables de entrada que incluían a los espacios de color RGB y CIELab tuvo mejores resultados de clasificaciones correctas.

Cuadro 2. Entrenamiento y validación de clasificadores creados con redes neuronales artificiales cuando se consideraron ocho clases de salida o tratamientos (100 % de Fe y Mn; 200 % Fe, 100 % Mn; 50 % Fe, 100 % Mn; 0 % Fe, 100 % Mn; 0 % Fe, 0 % Mn; 100 % Fe, 0 % Mn; 100 % Fe, 50 % Mn y 100 % Fe, 200 % Mn).

Número de Clasificador	Variable de entrada	Proceso de entrenamiento	Proceso de validación		
		% Class. Corr.	Neur *	% Gener.	% Class. Corr.
1	R, G, B, L, a, b, C, H, SMA, EN, IN, HoL	85.03	96	40	51.88
2	R, G, B	58.92	68	0	43.13
3	L, a, b	55.73	48	0	43.13
4	L, a, b, C, H	71.66	100	30	47.50
5	SMA, EN IN, HoL	50.00	96	40	34.38
6	R, G, B, SMA, EN, IN, HoL	75.48	97	70	46.88
7	L, a, b, C, H, SMA, EN, IN, HoL	83.76	99	60	50.00
8	R, G, B, L, a, b, C, H	77.07	88	30	54.38
9	R, B, L, a, b	69.75	98	40	55.00
10	R, G, B, C	65.61	92	50	51.25
11	L, a, b, SMA, EN	70.38	90	10	47.50
12	L, a, b, IN, HoL	71.34	94	70	45.63
13	R, L, SMA, EN, IN, HoL	72.61	99	70	43.13
14	C, H, SMA, EN, IN, HoL	73.25	95	70	43.13
15	R, B, C, H, SMA, EN, IN, HoL	81.21	98	50	50.63

R= Rojo, G= Verde, B= Azul, L= CIEL, a= CIEa, b=CIEb, C= Cromo, H= Hue, SMA = Segundo momento angular, EN = Entropía, IN= Inercia, HoL = Homogeneidad local

*Neur. = Número óptimo de neuronas de la capa interna

Un aspecto a considerar al hacer uso de las redes neuronales artificiales es que el porcentaje de validación no está ligado al porcentaje de clasificaciones correctas al momento del entrenamiento. Así se tiene que en el Cuadro 2 se notan porcentajes de clasificaciones correctas en la etapa de entrenamiento de 85.03 %, porcentaje que disminuye a 51.88 % en la etapa de validación como es el caso del Clasificador 1.

En cuanto al número de neuronas de la capa interna, hubo una variación de 48 hasta 100, lo que indica la variación en la complejidad de los clasificadores probados ya que un menor número de neuronas de la capa interna es más cercano a un modelo lineal, caso contrario al haber un mayor número de neuronas involucrado en la generación del clasificador, lo que

significa una mayor complejidad y por consiguiente una mayor especificidad del mismo. El número de neuronas de la capa interna no está relacionado necesariamente con la combinación de variables ya sea de color o textura, ni tampoco con el número de variables de entrada usadas para la generación del clasificador.

El mejor clasificador se obtiene con la combinación de variables de color de los espacios de color RGB y CIELab (Clasificador 9) con un porcentaje de clasificaciones correctas del 55 %. Por otro lado, existen combinaciones en las que únicamente se utilizan las características texturales y el porcentaje de clasificaciones correctas decrece y aumenta el número de neuronas de la capa interna, como es el caso del Clasificador 5. Aunque los porcentajes de generalización son iguales para ambos clasificadores.

Debe considerarse también que el número de variables de entrada no necesariamente afecta el porcentaje de clasificaciones correctas; puede haber clasificadores que usan una combinación de 12 variables (Clasificador 1) contra otro de 4 (Clasificador 10) y la variación en la precisión es apenas perceptible, 51.88 % y 51.25 % respectivamente, lo que sugiere que existen variables de entrada que aportan información más concisa, mientras que hay variables que únicamente proporcionan información redundante. Por otro lado, el porcentaje de generalización es un aspecto a considerar en la elección del clasificador, ya que supone la capacidad del mismo para ubicar correctamente clases con características diferentes a las proporcionadas en el momento de entrenamiento de la red neuronal. Dicho porcentaje no está relacionado con la precisión del clasificador; como se observa en el Cuadro 2, para la combinación de variables del Clasificador 2, el porcentaje de generalización es 0 y el porcentaje de clasificaciones correctas es de 43.13. Mientras que una segunda combinación de variables de entrada (Clasificador 13) arroja el mismo

porcentaje de clasificaciones correctas pero con un porcentaje de generalización del 70, lo que significa una mayor flexibilidad para la aplicación del clasificador frente a la otra combinación de variables de entrada.

6.2.2 Entrenamiento y validación del grupo de datos con seis tratamientos

Con la finalidad de disminuir características que fueran confusas para el clasificador debido a que hubo tratamientos que compartían dichas características, se eliminaron los Tratamientos 2 y 8 (200 % Fe, 0 % Mn y 100 % Fe, 200 % Mn respectivamente). Por lo que los porcentajes de precisión esta vez variaron entre 40 y 67 % aproximadamente.

Los mejores porcentajes de clasificaciones correctas fueron obtenidos usando características de color como en el caso del Clasificador 10; mientras que los resultados más bajos fueron obtenidos usando las características texturales por sí solas (Clasificador 5). Una combinación de ambas características, de textura y color, como en el Clasificador 7, resulta en un valor medio de precisión en la etapa de validación, superando a los porcentajes obtenidos usando sólo características texturales, pero sin alcanzar la precisión de los clasificadores de sólo características de color.

Respecto al número de neuronas de la capa interna, la variación es amplia y se ubica en el rango de 41 a 150. No obstante, como se indica en el apartado anterior, un mayor número de neuronas usadas por el clasificador deriva en un modelo más específico y por consiguiente, con menos capacidad de generalización. Las variables involucradas tienen un efecto consistente en el porcentaje de precisión del clasificador; así, si se comparan dos combinaciones de variables de entrada, por un lado usando características de color (Clasificador 3) y como otra opción características de color y textura (Clasificador 14), ambas combinaciones tienen porcentajes de clasificaciones correctas de 56.67 y 54.17 %

respectivamente. Sin embargo, el número de neuronas en uso es bastante diferenciado, ya que para el primer caso se utilizan únicamente 59, mientras que en la segunda combinación se utilizan 143, lo que convierte a la primera opción como un clasificador de tendencia más lineal que el segundo. Debe subrayarse también el porcentaje de generalización, el cual, analizando las mismas dos opciones dista mucho uno del otro, lo que supone la capacidad del clasificador para poder ser aplicado en distintos casos. En la combinación de características de color el porcentaje de generalización del clasificador es de 29 %, mientras que para el segundo caso dicho porcentaje se sitúa en un 60 %. Si bien, el clasificador que hace uso de únicamente características de color tiene una tendencia lineal como ya se mencionó anteriormente, y que sugeriría una variación de las clases de entrada en proporción similar, su aplicación sería limitada a otros casos, no así el clasificador que usa una combinación de color y textura, la cual tendría una aplicación más generalizada en un 50 %.

En el Cuadro 3 también se observan las combinaciones en las cuales se usan hasta doce variables de entrada con clasificadores que utilizan únicamente cinco y el porcentaje de precisión en ambos clasificadores es el mismo. Como primer caso, se usa la combinación del Clasificador 1 comparada con un segundo caso: Clasificador 20. Ambas combinaciones hacen uso de las características de color y textura y el porcentaje de clasificaciones correctas es de 61.67 % para ambos casos, mientras que el porcentaje de generalización y el número de neuronas de la capa interna es bastante similar. Lo anterior aludiría a la redundancia de información que algunas variables de entrada puedan ocasionar. Es importante entonces identificar aquellas características que mejor puedan definir las clases

de salida, ya que de otro modo podrían afectar la ubicación correcta de futuras muestras que alimenten al clasificador.

Cuadro 3. Entrenamiento y validación de clasificadores creados con redes neuronales artificiales cuando se consideraron seis clases de salida o tratamientos (100 % de Fe y Mn; 50 % Fe, 100 % Mn; 0 % Fe, 100 % Mn; 0 % Fe, 0 % Mn; 100 % Fe, 0 % Mn y 100 % Fe, 50 % Mn).

Número de clasificador	Variable de entrada	Proceso de entrenamiento		Proceso de validación	
		% Class. Corr.	Neur*	% Gener.	% Class. Corr.
1	R, G, B, L, a, b, C, H, SMA, EN, IN, HoL	94.87	92	52	61.67
2	R, G, B	70.09	41	10	55.83
3	L, a, b	70.51	59	29	56.67
4	L, a, b, C, H	88.46	130	68	62.50
5	SMA, EN IN, HoL	62.39	113	76	40.00
6	R, G, B, SMA, EN, IN, HoL	91.03	103	92	54.17
7	L, a, b, C, H, SMA, EN, IN, HoL	96.58	126	90	60.00
8	R, G, B, L, a, b, C, H	94.02	146	60	65.00
9	R, B, L, a, b	87.18	143	50	64.17
10	R, G, B, C	84.19	150	40	65.83
11	L, a, b, SMA, EN	89.32	132	50	57.50
12	L, a, b, IN, HoL	87.18	131	30	57.50
13	R, L, SMA, EN, IN, HoL	86.32	127	90	50.00
14	C, H, SMA, EN, IN, HoL	91.03	143	60	54.17
15	R, B, C, H, SMA, EN, IN, HoL	89.32	93	30	60.83
16	R, B, C, SMA, EN, HoL	88.89	96	50	51.67
17	R, B, C, SMA, HoL	87.18	94	80	51.67
18	L, a, b, C, SMA, EN	88.03	94	60	60.00
19	R, G, B, C	81.62	93	20	66.67
20	R, B, C, H, SMA	85.04	91	50	61.67

R= Rojo, G= Verde, B= Azul, L= CIEL, a= CIEa, b=CIEb, C= Cromo, H= Hue, SMA = Segundo momento angular, EN = Entropía, IN= Inercia, HoL = Homogeneidad local

*Neur. = Número óptimo de neuronas de la capa interna

6.2.3 Entrenamiento y validación del grupo de datos con cuatro tratamientos

En un tercer grupo de datos se tomaron los datos de los tratamientos ausencia o presencia total del micronutriente a evaluar y la interacción de ambas deficiencias. Los porcentajes de precisión en la etapa de validación se situaron en un rango de 46.25 a 86.25 % siendo las

combinaciones con características de color con las que mejor porcentaje se obtuvo. La sola combinación de características texturales se reporta como el porcentaje más bajo.

Cuadro 4. Entrenamiento y validación de clasificadores creados con redes neuronales artificiales cuando se consideraron cuatro clases de salida o tratamientos (100 % de Fe y Mn; 0 % Fe, 100 % Mn; 0 % Fe, 0 % Mn; 100 % Fe, 0 % Mn y 100 % Fe, 0 % Mn).

Número de clasificador	Variable de entrada	Proceso de entrenamiento		Proceso de validación	
		% Class. Corr.	Neur*	% Gener.	% Class. Corr.
1	R, G, B, L, a, b, C, H, SMA, EN, IN, HoL	98.75	76	60	81.25
2	R, G, B	86.88	118	70	68.75
3	L, a, b	87.50	114	20	68.75
4	L, a, b, C, H	95.63	139	60	75.00
5	SMA, EN, IN, HoL	82.50	121	90	46.25
6	R, G, B, SMA, EN, IN, HoL	99.38	149	100	66.25
7	L, a, b, C, H, SMA, EN, IN, HoL	98.75	101	80	72.50
8	R, G, B, L, a, b, C, H	99.38	113	70	77.50
9	R, B, L, a, b	96.88	90	50	81.25
10	R, G, B, C	96.88	81	20	86.25
11	L, a, b, SMA, EN	98.75	150	70	72.5
12	L, a, b, IN, HoL	93.13	126	70	71.25
13	R, L, SMA, EN, IN, HoL	96.88	104	80	67.5
14	C, H, SMA, EN, IN, HoL	96.25	96	50	71.25
15	R, B, C, H, SMA, EN, IN, HoL	98.75	96	60	75.00
16	R, B, C H	93.13	50	30	82.50
17	R, B, C, SMA, EN, HoL	98.13	100	90	67.50
18	R, B, L, SMA, EN	98.13	100	60	71.25
19	R, B, a, C, SMA	98.13	99	70	78.75
20	R, L, a, C, EN	97.50	86	40	75.00
21	R, G, B, H	93.13	90	20	80.00

R= Rojo, G= Verde, B= Azul, L= CIEL, a= CIEa, b=CIEb, C= Cromo, H= Hue, SMA = Segundo momento angular, EN = Entropía, IN= Inercia, HoL = Homogeneidad local

*Neur. = Número óptimo de neuronas de la capa interna

En promedio, el porcentaje de generalización de todos los clasificadores es de 60, lo que indicaría un buen ajuste del modelo a las imágenes que pudieran ser validadas. Mientras que se observan porcentajes superiores a 80 en cuanto a precisión del clasificador, el porcentaje de generalización es bajo. De los cinco clasificadores el porcentaje antes

mencionado, se promedia un porcentaje de generalización de 30 en contraste con el 63 que registran aquellas combinaciones que superan el 70 % de clasificaciones correctas pero que no alcanzan el 80 % de precisión en la etapa de validación.

Comparando lo anterior con el número de neuronas de la capa interna, aquellas combinaciones de clases de entrada con valores superiores al 80 % en la etapa de validación, el número de neuronas usado es inferior que en el segundo caso. Esto indica la complejidad del modelo contra la especificidad del mismo.

El mejor porcentaje de clasificaciones correctas se obtiene con el solo uso de las características de color (Clasificador 10), con un número bajo de neuronas de la capa interna, sin embargo, con un porcentaje de generalización muy bajo también. Otros clasificadores con porcentajes cercanos tienen en común el uso de las variables de entrada R y B en todos los casos y C o H en dos posibles combinaciones, lo que referiría la importancia de estas variables de entrada en este grupo de datos.

6.2.4 Comparación de los tres grupos de datos

Teniendo como referencia los tres conjuntos de datos caracterizados por el número de tratamientos involucrados como clases de salida, se hace una comparación entre sí. Puede observarse que cuando se toman en cuenta todas las condiciones de aporte de micronutrientos y para el caso específico de combinaciones de variables de color, el número de neuronas de la capa interna es menor que cuando el conjunto de datos involucra seis o cuatro tratamientos. La linealidad está relacionada con la distribución normal de los datos y por lo tanto, con la complejidad del mismo. En promedio, se ocupan 81 neuronas de la capa interna contra 102 y 93 cuando se utiliza un conjunto de datos con seis y cuatro tratamientos respectivamente.

Cuando varias posibles combinaciones de características de color y textura están implicadas, la tendencia en el número de neuronas de la capa interna usado es el mismo que en el caso del solo uso de características de color; no así cuando únicamente se utilizan características texturales, que aumenta el número de neuronas de la capa interna a medida que disminuye el número de tratamientos en el grupo de datos.

La precisión alcanzada por el clasificador, cuando se usan ocho tratamientos es la más baja de los tres grupos de datos. El porcentaje de clasificaciones correctas es de apenas de 48 en promedio utilizando solo características de color, alcanzando la combinación del Clasificador 8 el mejor porcentaje en el grupo de ocho tratamientos. La precisión de los clasificadores aumenta a medida que se reduce el número de tratamientos abarcados ya sea utilizando sólo características de color o bien la combinación de éstas con las características texturales.

Por lo tanto, el porcentaje de clasificaciones correctas en la etapa de validación no está relacionado con el número de neuronas de la capa interna, sin embargo, el uso de características de color o textura o una combinación de éstas entre sí, afectan la precisión del clasificador. Para esta investigación en particular, con las características de color, en general, se consiguen mejores porcentajes de precisión que utilizando sólo las características texturales e incluso combinaciones de ambas.

Otro aspecto a considerar es el porcentaje de generalización del clasificador; el cual tiene una tendencia similar al porcentaje de clasificaciones correctas, es decir, aumenta a medida que se reduce el número de tratamientos en el grupo de datos. En promedio se obtienen 42, 54.3 y 60 % para grupos de datos de ocho, seis y cuatro tratamientos respectivamente.

Anteriormente, Kim *et al.* (2009), en un experimento que emplea el método de co-ocurrencia de color, encuentran que éste es útil para diferenciar hojas de cítricos bajo diferentes condiciones a partir de la obtención de imágenes RGB, entre las que se encuentran deficiencias de microelementos como son el Fe y Mn. De acuerdo a los resultados que obtienen, se generan tres clasificadores de clasificación tomando en cuenta para el primero de ellos ocho condiciones de la hoja. Para un segundo clasificador toman las mismas condiciones, excepto las hojas jóvenes caedizas, mientras que el clasificador final considera todas las condiciones, excepto las hojas jóvenes y aquellas con manchas moteadas. La precisión en porcentaje de precisión para los clasificadores resulta ser mayor en el tercer clasificador y menor en el primer clasificador (97.3 y 86.7 % respectivamente), el cual incluye todas las condiciones, lo que es explicado como matriz de confusión, en la que el sistema confunde dos clases.

6.3 Elección del clasificador

El clasificador se eligió tomando en cuenta el número de neuronas de la capa interna, el cual fue de los más bajos; también el porcentaje de generalización, el cual, como se ha mencionado ya, hará que el clasificador asigne a alguna clase información que anteriormente no había sido proporcionada. El porcentaje de precisión también fue tomado en cuenta por razones evidentes. La combinación con las mejores características fue el Clasificador 1 (Cuadro 4). En el Cuadro 5 se muestra el resultado del clasificador.

En el Cuadro 5 se observa que el Tratamiento 1 (100% Fe y Mn) aparece clasificado correctamente en un 100 % a diferencia del resto de los tratamientos o clases de salida, los cuales fueron clasificados correctamente con un porcentaje de 75 %. El Tratamiento 4 (0% Fe, 100 % Mn) por ejemplo, fue clasificado en algunos casos como Tratamiento 5 (0% Fe y

0% Mn), así como Tratamiento 6 (100% Fe, 0% Mn), lo cual podría ser explicado debido a que estos dos últimos tratamientos comparten la deficiencia total ya sea de Fe o Mn con el tratamiento que está siendo clasificado.

Cuadro 5. Estadísticas del arreglo matricial (tabla de contingencia) para la combinación de variables R, G, B, L, a, b, C, H, SMA, EN, IN y HoL usando cuatro clases de salida o tratamientos (100 % de Fe y Mn; 0 % Fe, 100 % Mn; 0 % Fe, 0 % Mn; 100 % Fe, 0 % Mn y 100 % Fe, 0 % Mn).

	Actual "1"	Actual "4"	Actual "5"	Actual "6"	Total
Clasificado como "1"	20	2	0	1	23
Clasificado como "4"	0	15	3	2	20
Clasificado como "5"	0	1	15	2	18
Clasificado como "6"	0	2	2	15	19
Total	20	20	20	20	80
Rel. Verd-Pos.	1	0.75	0.75	0.75	
Rel. Fals-Pos.	0.05	0.0833	0.05	0.0667	
Rel. Verd-Neg.	0.95	0.9167	0.95	0.9333	
Rel. Fals-Neg.	0	0.25	0.25	0.25	
Sensitividad	100.00%	75.00%	75.00%	75.00%	
Especificidad	95.00%	91.67%	95.00%	93.33%	

Por otro lado, el Tratamiento 5, de las clasificaciones erróneas, en su mayoría son atribuidas al Tratamiento 4 precisamente, como se mencionó anteriormente, ambos tratamientos tienen en común la deficiencia total del Fe, por lo que es probable que algunas características de color o textura no sean totalmente consistentes para que el clasificador pueda asignarlas a alguna clase. En menor proporción, algunas submuestras del Tratamiento 5 son asignadas al Tratamiento 6, ambos tratamientos tienen en común la deficiencia de Mn, por lo que la explicación podría ser la misma que para el caso anterior donde se confunde con el Tratamiento 4.

A su vez el Tratamiento 6, en las clasificaciones erróneas es confundido con los Tratamientos 4 y 5; mientras que con el Tratamiento 5 tienen en común la ausencia total de

Mn, sin embargo, con el Tratamiento 4 no comparten esta característica por lo que, la información proporcionada por las características de color o textura no fueron lo suficientemente específicas para que el clasificador pudiera asignar correctamente la clase de salida.

En el Cuadro 6 se detalla la información anterior, por lo que puede notarse el porcentaje de error al que fueron asignadas las clases de salida al tratamiento equivocado y al tratamiento en sí mismo. Así, se tiene que para el caso en el que el Tratamiento 4 es asignado al Tratamiento 5, se da en un porcentaje de 50 aproximadamente y en una proporción similar es asignado al tratamiento correcto, es decir, el Tratamiento 4.

Sin embargo, para cuando el Tratamiento 4 es asignado al Tratamiento 6, la equivocación es casi total, ya que el error es del 99% de asignación al tratamiento equivocado e incluso, prácticamente el mismo error es cuando es asignado al Tratamiento 1 con el que no comparte características de deficiencias.

Analizando la clasificación del Tratamiento 6, cuando es confundido con el Tratamiento 5, es en proporción similar en ambas ocasiones. Y el grado de atribución al Tratamiento 6 es inferior con apenas 21% en promedio, e incluso es atribuido al Tratamiento 4 en uno de los casos en mayor proporción que a sí mismo.

Finalmente, el Tratamiento 5 es atribuido erróneamente al Tratamiento 4 casi en su totalidad. Ambos tratamientos coinciden en la ausencia total de Fe, por lo que eso explicaría la confusión. Cuando el Tratamiento 5 es asignado al Tratamiento 6, prácticamente es en proporciones iguales, pudiendo deberse a que ambos tratamientos comparten la deficiencia de Mn.

Cuadro 6. Grado de atribución al tratamiento equivocado para la combinación de variables R, G, B, L, a, b, C, H, SMA, EN, IN y HoL usando cuatro clases de salida o tratamientos (100 % de Fe y Mn; 0 % Fe, 100 % Mn; 0 % Fe, 0 % Mn; 100 % Fe, 0 % Mn y 100 % Fe, 0 % Mn).

Actual	Clasificado	1	4	5	6
5	4	0	0.977	0	0.023
5	4	0	0.997	0.001	0.002
5	4	0	0.5	0	0.5
5	6	0	0.008	0.45	0.542
5	6	0	0	0.015	0.985
6	4	0.008	0.723	0	0.269
6	5	0	0.024	0.791	0.185
6	4	0	0.772	0.033	0.195
6	1	0.957	0.007	0	0.036
6	5	0	0.004	0.745	0.251
4	1	0.983	0	0	0.017
4	6	0	0.006	0.001	0.994
4	5	0.001	0.491	0.509	0
4	6	0	0.001	0	0.999
4	1	0.583	0.18	0	0.236

En experimentos similares llevados a cabo usando clasificadores se han encontrado mejores porcentajes de precisión, tal es el caso del conducido por Burks *et al.* (2000) donde se diferenciaron diversas especies de malezas, y el porcentaje de identificación correcta alcanzó 93 %. Y aún alcanzan porcentajes del 100 cuando la clasificación es entre plantas y suelo. Sin embargo, debe considerarse que en la presente investigación el objetivo fue diferenciar entre submuestras de la misma variedad, lo que justificaría el menor grado de precisión de los clasificadores. En otra investigación, Meyer *et al.* (1998), en un análisis discriminante, encontraron porcentajes de precisión entre la misma especie, que variaron del 30 al 77, mientras que cuando se diferenció al suelo de las plantas, la precisión de la clasificación superó el 97%. Por lo que es evidente que a medida que las muestras son más

cercanas en características texturales, de color o ambas, la precisión tenderá a disminuir o bien, deberán explorarse aún más variables de entrada.

6.4 Análisis estadístico de los análisis de imágenes

Del análisis estadístico de los valores obtenidos de los análisis de imágenes en cuanto a color y textura se observa que para el canal R del espacio de color RGB, se distinguen los tratamientos con ausencia total de Fe y la interacción de ausencia total de Fe y Mn siendo éstos estadísticamente significativos tal como se aprecia en el Cuadro 7.

Cuadro 7. Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para el canal R (rojo).

Tratamiento	Media	
0% Fe, 0% Mn	131.371	a
0% Fe, 100% Mn	118.848	b
100% Fe, 0% Mn	112.154	c
50% Fe, 100% Mn	109.006	cd
100% Fe, 200% Mn	105.695	de
100% Fe, 50% Mn	103.125	de
200% Fe, 100% Mn	100.530	e
100% Fe, 100% Mn	100.491	e

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

De los siguientes tratamientos se puede notar que aunque no existen diferencias estadísticamente significativas, sí existe una tendencia en cuanto al grado de deficiencia y los valores del canal de color R, así, el tratamiento testigo, que cuenta con una nutrición óptima muestra los valores más bajos al igual que el tratamiento con el doble de la dosis de Fe en la solución nutritiva. Debe mencionarse que visualmente, la coloración de las hojas entre ambos tratamientos fue bastante similar. A su vez, mientras disminuye la concentración del elemento Fe en la solución nutritiva, los valores del canal R aumentan su valor.

Respecto al canal de color G (Cuadro 8), las diferencias estadísticas significativas no se dan por tratamientos, sino por grupos de éstos. Así, un primer grupo contiene a los tratamientos dónde la supresión del micronutriente Fe o Mn fue total, o bien, ambos elementos en la misma solución nutritiva. Los valores del canal G son más altos en comparación con el grupo de tratamientos dónde hay un aporte total de Fe o bien un excedente del mismo. El único tratamiento con diferencias estadísticas significativas es cuando hay una supresión parcial del 50% del elemento Fe, lo que hace notar los valores intermedios del canal de color G, tal como puede apreciarse en la Figura 9 donde se observa una tendencia creciente en los valores del canal G a medida que aumenta la concentración de Fe en la solución nutritiva y disminuyen conforme aumenta la concentración de Mn.

Cuadro 8. Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para G (green).

Tratamiento	Media	
0% Fe, 0% Mn	159.312	a
0% Fe, 100% Mn	145.292	a
100% Fe, 0% Mn	139.156	a
50% Fe, 100% Mn	131.591	c
100% Fe, 200% Mn	124.465	cd
100% Fe, 50% Mn	122.203	d
100% Fe, 100% Mn	118.357	d
200% Fe, 100% Mn	117.623	d

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Analizando el tercer canal de color, B, la tendencia observada en la Figura 9 es contraria a los dos canales de color anteriores. Existe una tendencia decreciente al disminuir la concentración de Fe en la solución nutritiva, caso contrario al Mn, que al aumentar éste su concentración en la solución nutritiva, los valores del canal de color B aumentan también. Se puede distinguir que las diferencias estadísticas mostradas en el Cuadro 9 hacen notar que el tratamiento con ausencia total de Fe y Mn en la solución nutritiva es diferente de los tratamientos que muestran la deficiencia total ya sea de Fe o Mn. Finalmente, los tres

tratamientos son estadísticamente diferentes de aquellos que tienen una deficiencia parcial de cualquiera de los dos micronutrientes evaluados.

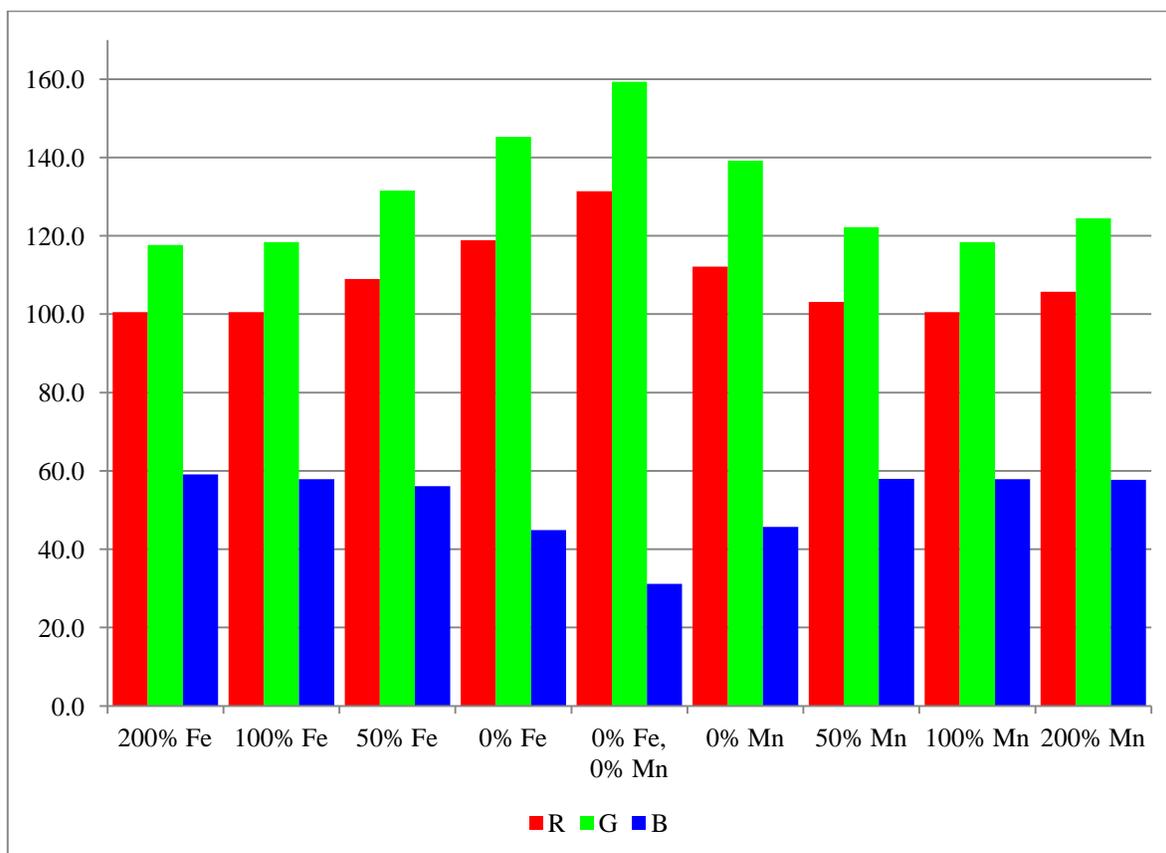


Figura 9. Gráfica de tendencias del espacio de color RGB en función de la concentración de Fe y Mn en la solución nutritiva.

Cuadro 9. Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para B (blue).

Tratamiento	Media	
200% Fe, 100% Mn	59.131	a
100% Fe, 50% Mn	57.929	a
100% Fe, 100% Mn	57.897	a
100% Fe, 200% Mn	57.736	a
50% Fe, 100% Mn	56.096	a
100% Fe, 0% Mn	45.706	b
0% Fe, 100% Mn	44.897	b
0% Fe, 0% Mn	31.154	c

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Evaluando el espacio de color CIELab, y específicamente el canal L, el cual representa la luminosidad en dicho espacio de color, muestra una tendencia similar a los canales de color R y G del espacio de color RGB. La tendencia es mostrar valores más altos a medida que decrece la concentración del elemento Fe o Mn en la solución nutritiva. Esto significa que la coloración será más oscura en plantas con condiciones óptimas de nutrición. Lo dicho puede apreciarse en la Figura 10. Las diferencias estadísticamente significativas sólo aplican para el tratamiento en el cual se suprimieron ambos elementos, Fe y Mn como puede observarse en el Cuadro 10.

Cuadro 10. Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para CIEL.

Tratamiento	Media	
0% Fe, 0% Mn	61.5040	a
0% Fe, 100% Mn	56.4772	b
100% Fe, 0% Mn	54.1679	b
50% Fe, 100% Mn	51.5715	c
100% Fe, 200% Mn	49.3312	cd
100% Fe, 50% Mn	48.4489	d
100% Fe, 100% Mn	47.0585	d
200% Fe, 100% Mn	46.8543	d

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Para el caso de la variable CIEa, en el Cuadro 11 puede notarse que el tratamiento con deficiencia total de Fe y Mn es estadísticamente significativo y muestra los valores más alejados del cero, lo que expresaría visualmente una variación hacia el color verde que se incrementaría en tonalidad al aumentar la concentración de Fe o Mn, pero que estaría en función del canal CIEb, el cual representa una variación de verde a azul y que además estaría afectada por el porcentaje de luminosidad, el cual está dado por el canal CIEL.

Siguiendo con el canal CIEb, los valores más bajos se observan en aquellos tratamientos en los cuales hay presencia de Fe en la solución nutritiva (Cuadro 12). A diferencia del espacio

de color RGB, el espacio de color CIELab no puede explicarse analizando los canales por separado debido a que uno de ellos estaría afectado inmediatamente por los otros dos.

Cuadro 11. Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para CIEa.

Tratamiento	Media	
200% Fe, 100% Mn	-16.4179	a
100% Fe, 100% Mn	-16.9646	ab
100% Fe, 50% Mn	-17.8944	ab
100% Fe, 200% Mn	-18.0069	b
50% Fe, 100% Mn	-19.9521	c
100% Fe, 0% Mn	-23.7900	d
0% Fe, 100% Mn	-23.9693	d
0% Fe, 0% Mn	-26.4180	e

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

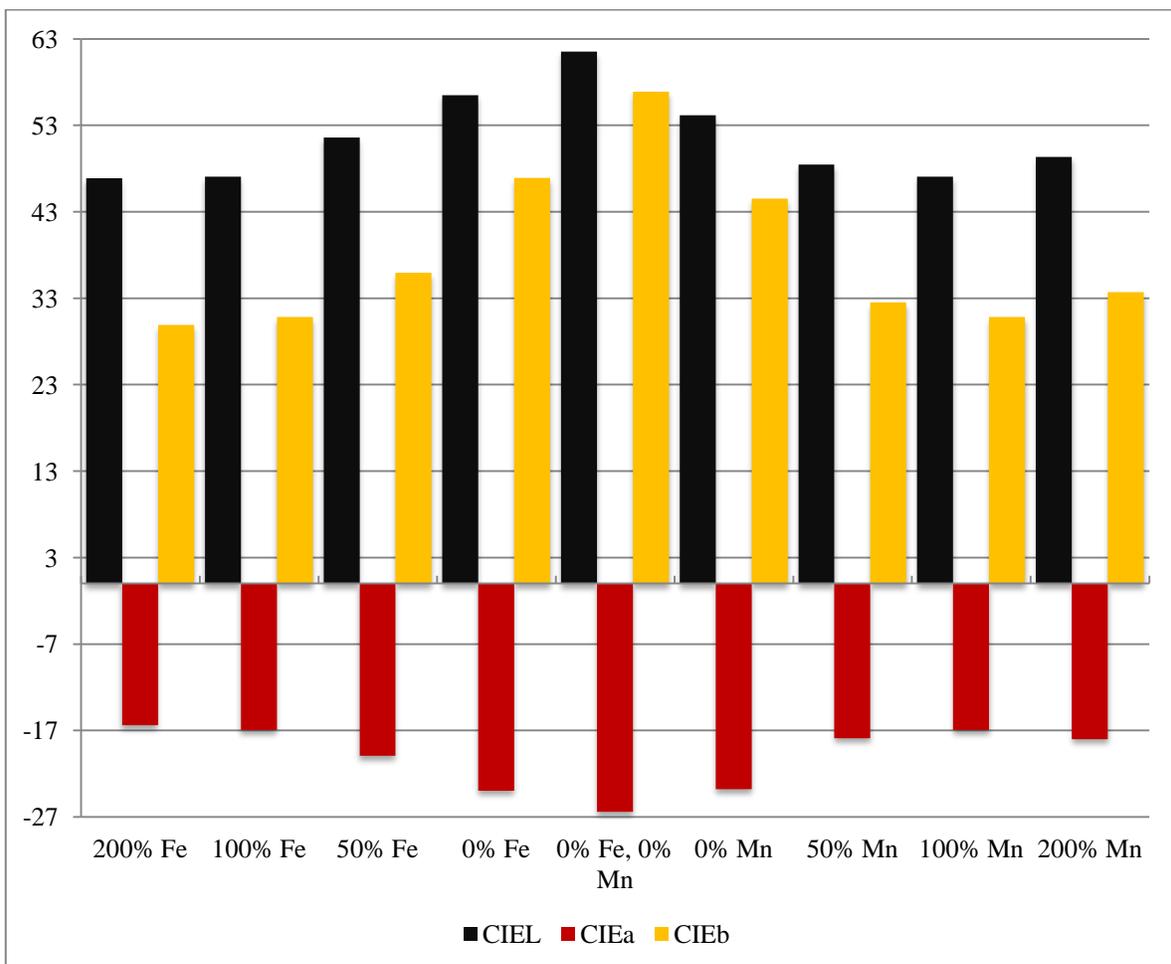


Figura 10. Gráfica de tendencias del espacio de color CIELab en función de la concentración de Fe y Mn en la solución nutritiva.

Cuadro 12. Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para CIEb.

Tratamiento	Media	
0% Fe, 0% Mn	56.880	A
0% Fe, 100% Mn	46.893	B
100% Fe, 0% Mn	44.529	B
50% Fe, 100% Mn	35.939	C
100% Fe, 200% Mn	33.683	Cd
100% Fe, 50% Mn	32.510	Cde
100% Fe, 100% Mn	30.807	De
200% Fe, 100% Mn	29.910	E

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

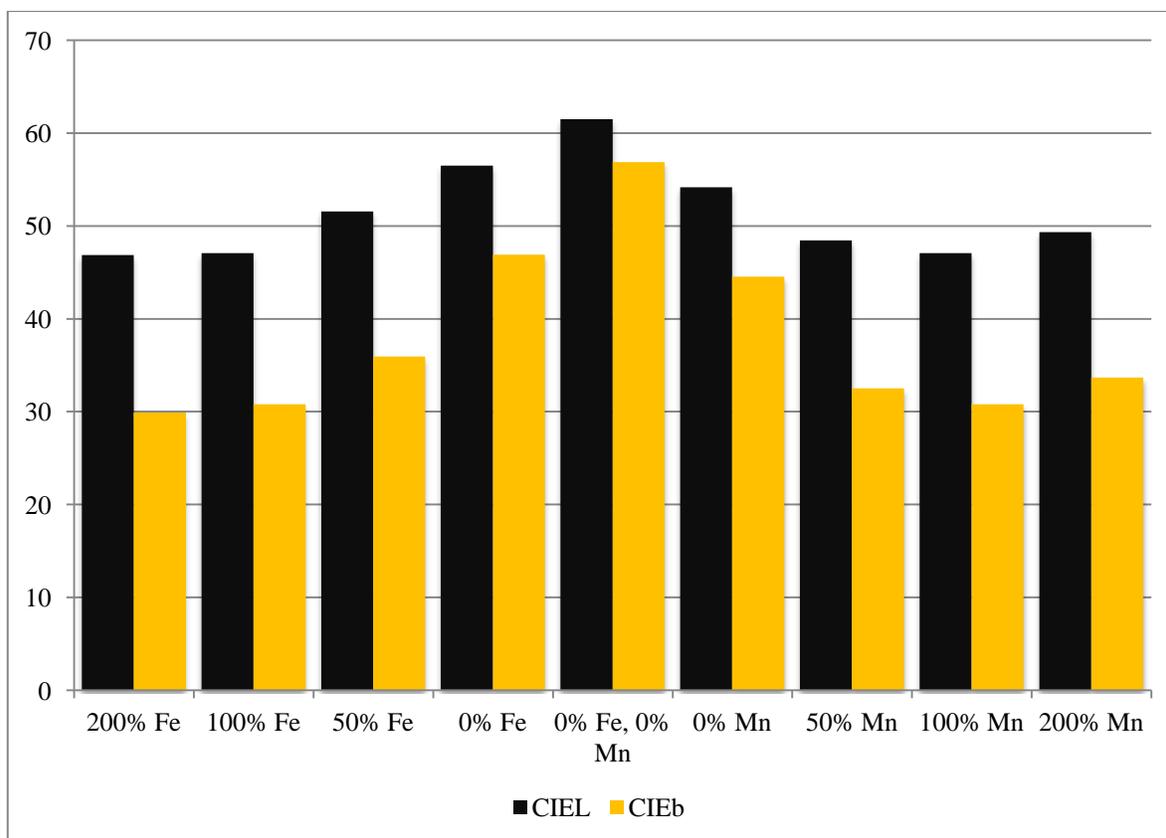


Figura 11. Gráfica de tendencias de los canales L y b del espacio de color CIELab en función de la concentración de Fe y Mn en la solución nutritiva.

También se extrajeron los valores de C y H del análisis de imágenes, siendo las tendencias opuestas comparando ambas variables. Para el C, los valores más altos están dados para el tratamiento que muestra una deficiencia total de los elementos Fe y Mn siendo además

estadísticamente significativos como puede observarse en el Cuadro 13. Valores cercanos pueden obtenerse para los tratamientos con deficiencias totales de Fe o Mn, mientras que los valores más bajos pueden observarse en los tratamientos con dosis completas de Fe e incluso el doble de las mismas como puede notarse en la Figura 12.

Cuadro 13. Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para C (croma).

Tratamiento	Media	
0% Fe, 0% Mn	62.734	a
0% Fe, 100% Mn	52.689	b
100% Fe, 0% Mn	50.514	b
50% Fe, 100% Mn	41.137	c
100% Fe, 200% Mn	38.211	cd
100% Fe, 50% Mn	37.125	de
100% Fe, 100% Mn	35.188	de
200% Fe, 100% Mn	34.136	e

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

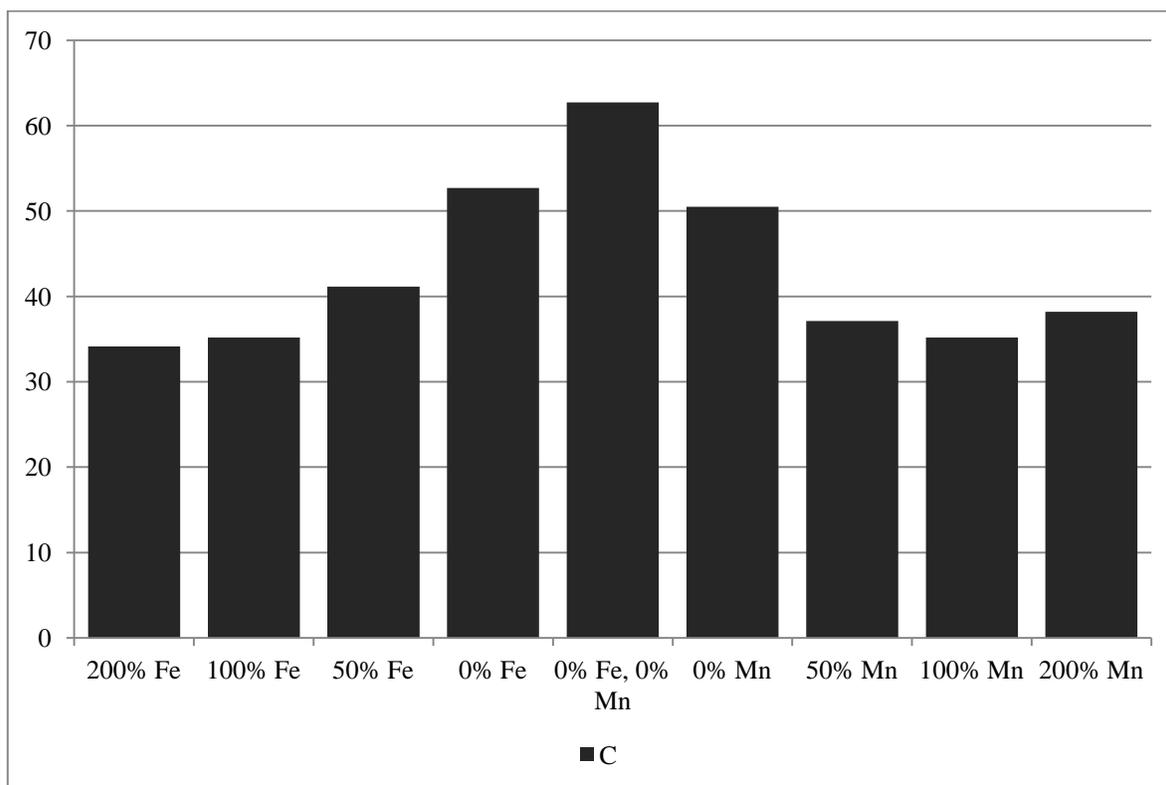


Figura 12. Gráfica de tendencias del C (croma) en función de la concentración de Fe y Mn en la solución nutritiva.

Para el caso del H, la tendencia observada es contraria al C. Así, los tratamientos con deficiencias totales de Fe y Mn o bien las deficiencias totales de uno u otro de estos micronutrientes muestran los valores más bajos como puede notarse en el Cuadro 14 y la Figura 13.

Cuadro 14. Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para H (matiz).

Tratamiento	Media	
50% Fe, 100% Mn	119.3429	a
100% Fe, 50% Mn	118.7867	ab
100% Fe, 100% Mn	118.7690	ab
200% Fe, 100% Mn	118.7197	ab
100% Fe, 0% Mn	118.2233	b
100% Fe, 200% Mn	118.1719	b
0% Fe, 100% Mn	117.3150	c
0% Fe, 0% Mn	115.0036	d

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Sin embargo, debe considerarse que dicha tendencia es menos precisa que para el caso del C. Se observa por ejemplo en la Figura 13, que para el caso del tratamiento con deficiencia parcial de Fe, los valores son más altos, mientras que el valor más bajo está dado en el tratamiento con ausencia total de Fe y Mn.

En cuanto a las características texturales, de acuerdo con el Cuadro 15 puede observarse la tendencia para la variable SMA, los valores más altos están asociados a una deficiencia parcial de Fe o Mn, mientras que el valor más bajo se registra para el tratamiento cuya deficiencia es de ambos micronutrientes, Fe y Mn, así como para el tratamiento con deficiencia total de Mn. Mientras que los valores intermedios están relacionados con el tratamiento testigo, así como aquellos con excedente en la dosis de Fe o Mn; debe mencionarse que visualmente no se encontraron diferencias visuales en estos tres últimos tratamientos y estadísticamente no existen diferencias significativas.

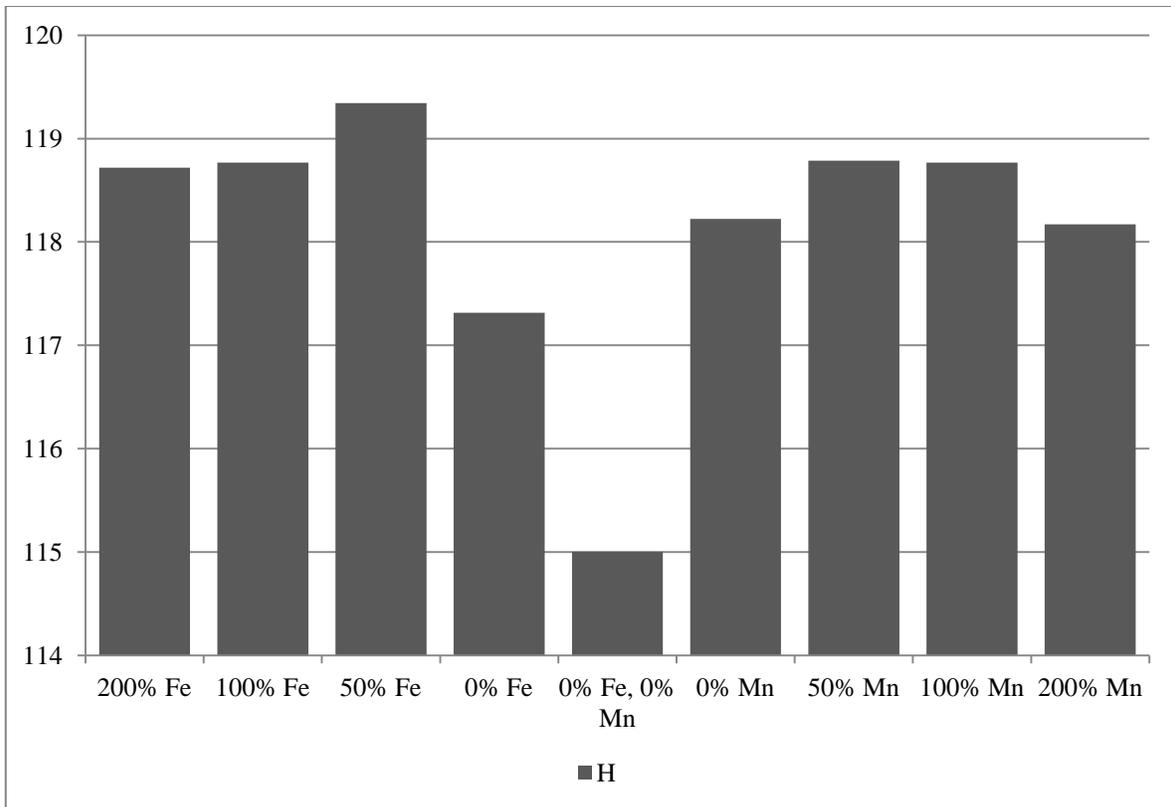


Figura 13. Gráfica de tendencias del H en función de la concentración de Fe y Mn en la solución nutritiva

Cuadro 15. Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para SMA (segundo momento angular).

Tratamiento	Media	
50% Fe, 100% Mn	0.30422	a
100% Fe, 200% Mn	0.27514	ab
100% Fe, 50% Mn	0.26351	abc
0% Fe, 100% Mn	0.25947	abc
200% Fe, 100% Mn	0.24671	abc
100% Fe, 100% Mn	0.23664	bc
100% Fe, 0% Mn	0.21414	bc
0% Fe, 0% Mn	0.20604	c

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Respecto a la característica de textura EN, los valores no muestran una tendencia clara en cuanto a la concentración ya sea de Fe o Mn, además de no mostrar grandes diferencias

estadísticas significativas. No obstante, en la Figura 14 puede observarse que los valores más alejados del cero se encontraron en el tratamiento con ausencia de ambos micronutrientes, Fe y Mn. Estos valores, se acercan más al cero si la deficiencia es únicamente de Fe o Mn; llegando a su nivel más cercano a cero en una deficiencia parcial de Fe. Sin embargo, cuando se llega a la nutrición completa los valores vuelven a alejarse del cero, no así cuando el suministro de Fe o Mn superan sus niveles normales en la concentración de la solución nutritiva.

Cuadro 16. Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para EN (entropía).

Tratamiento	Media	
100% Fe, 200% Mn	-1.71326	a
50% Fe, 100% Mn	-1.71618	a
100% Fe, 50% Mn	-1.76177	ab
0% Fe, 100% Mn	-1.77414	ab
200% Fe, 100% Mn	-1.82322	ab
100% Fe, 100% Mn	-1.86898	ab
100% Fe, 0% Mn	-1.91697	ab
0% Fe, 0% Mn	-1.96280	b

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

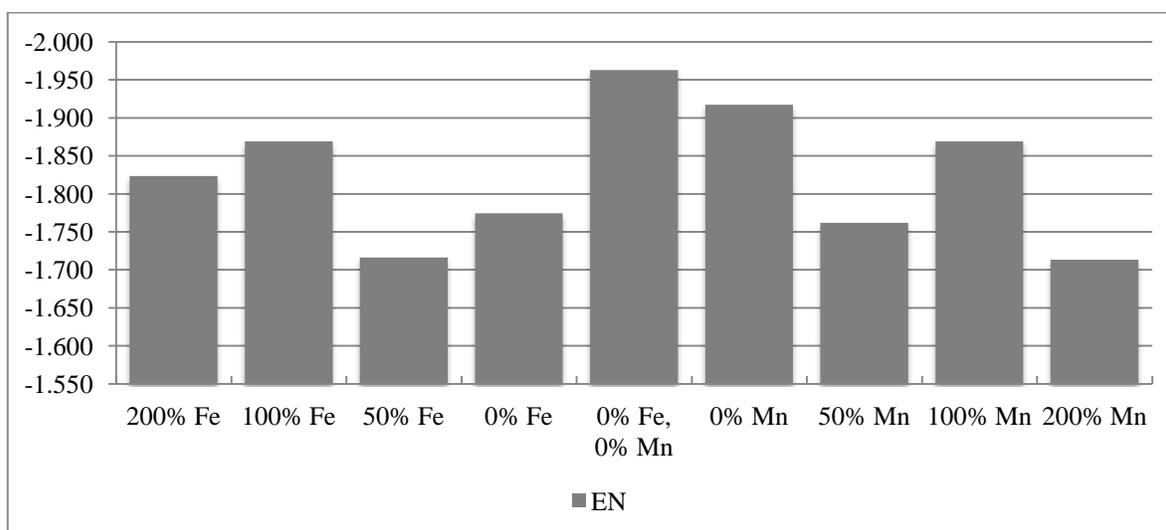


Figura 14. Gráfica de tendencias de la entropía (EN) en función de la concentración de Fe y Mn en la solución nutritiva.

La IN como la tercera variable evaluada, para el caso del micronutriente Fe en la solución nutritiva, tiene una tendencia directamente proporcional con la concentración del elemento en cuestión en la solución nutritiva. Por lo que a menor concentración de Fe en la solución nutritiva, menor será el valor de IN (Figura 15); mientras que los valores aumentan a medida que es mayor la cantidad de Fe en dicha solución.

En cuanto al Mn, la tendencia es bastante similar, excepto para el caso del tratamiento cuya concentración de Mn supera en 200% a la concentración normalmente requerida, en cuyo caso se esperaría un incremento en el valor de la IN, sin embargo hay una disminución respecto al tratamiento cuya concentración de Mn es completa.

Respecto al análisis estadístico, puede observarse en el Cuadro 17 que tanto el tratamiento 2 (200% Fe, 100% Mn) como el 1 (100% Fe, 100% Mn) comparten un mismo grupo, al igual que los tratamientos 4 y 5 (0% Fe, 100% Mn y 0% Fe, 0% Mn respectivamente), lo que explicaría en parte el porqué eran confundidos en algunos clasificadores arriba ya descritos.

Cuadro 17. Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para IN.

Tratamiento	Media	
200% Fe, 100% Mn	0.46502	a
100% Fe, 100% Mn	0.45716	a
50% Fe, 100% Mn	0.42508	ab
100% Fe, 50% Mn	0.41002	ab
100% Fe, 200% Mn	0.39639	ab
100% Fe, 0% Mn	0.38926	ab
0% Fe, 100% Mn	0.36949	b
0% Fe, 0% Mn	0.36611	b

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

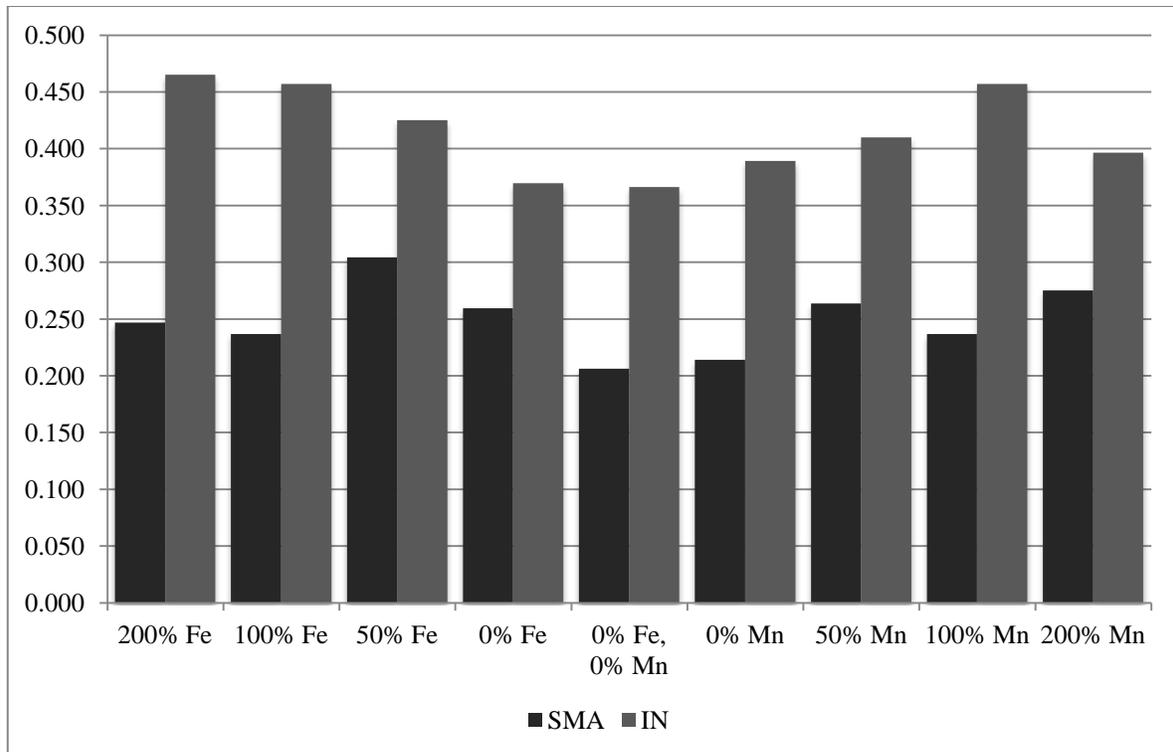


Figura 15. Gráfica de tendencias del segundo momento angular (SMA) e inercia (IN) en función de la concentración de Fe y Mn en la solución nutritiva.

Los valores de la HoL, a diferencia de la IN, son más altos en los tratamientos cuya ausencia del elemento Fe o Mn es total, especialmente cuando existe la combinación de ambas deficiencias. Mientras que los valores más bajos se observan en el tratamiento cuyo suministro de Fe o Mn fue completo, con excepción del tratamiento fue definido por una aportación superior de Fe a la requerida, siendo el valor más bajo de HoL como puede apreciarse en la Figura 16. No obstante, no se observan diferencias estadísticas significativas para los tratamientos en cuestión, tal como se observa en el Cuadro 18.

Cuadro 18. Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para la homogeneidad local (HoL).

Tratamiento	Media	
0% Fe, 100% Mn	0.830880	a
0% Fe, 0% Mn	0.830414	a
100% Fe, 200% Mn	0.824792	ab
100% Fe, 0% Mn	0.821631	ab
50% Fe, 100% Mn	0.820740	ab
100% Fe, 50% Mn	0.819348	ab
100% Fe, 100% Mn	0.806040	ab
200% Fe, 100% Mn	0.802706	b

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

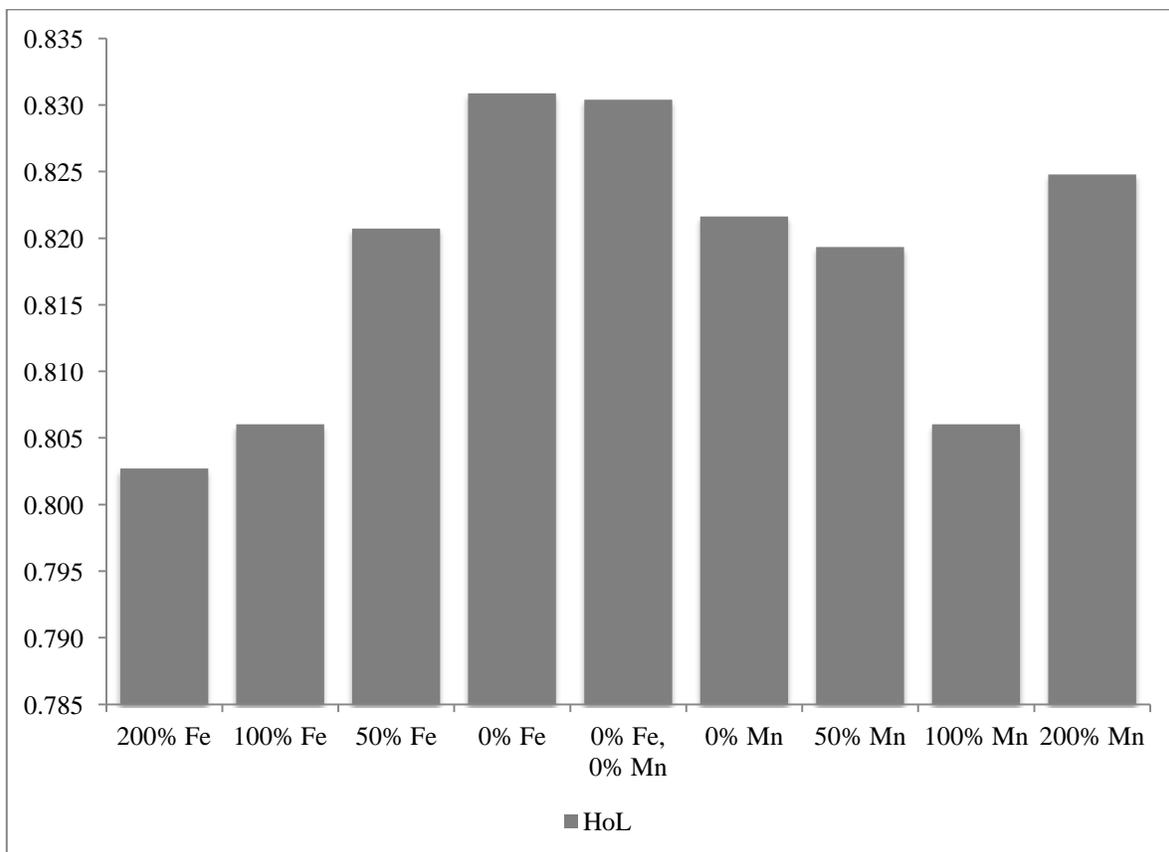


Figura 16. Gráfica de tendencias de la homogeneidad local (HoL) en función de la concentración de Fe y Mn en la solución nutritiva.

En investigaciones anteriores, en un experimento llevado a cabo por Vakilian y Massah (2012) utilizaron dos características texturales de los tres evaluados en este experimento:

entropía (EN) y homogeneidad local (HoL), detectando así que valores altos de EN correspondían a características de hojas maduras, mientras que los valores bajos correspondían a las hojas jóvenes, donde la complejidad de la estructura de la superficie y los valores de la EN eran reducidos esto en el cultivo de jitomate, pepino y berenjena. También encontraron que las hojas maduras eran más coloridas en diferentes tonos de verde mientras que las plantas jóvenes eran más uniformes en el color, por lo que se considerarían homogéneas en el mismo. Meyer *et al.* (1998) encontraron a su vez que los valores de la EN tenían una tendencia a disminuir de acuerdo con la etapa fenológica de la planta, mientras que la HoL tendió a ser independiente de la edad de la planta.

6.5 Análisis estadístico de las concentraciones de micronutrientes en el tejido vegetal

La concentración de Fe soluble en la planta varía de acuerdo a la concentración de Fe en la solución nutritiva como puede observarse en la Figura 17. En el Cuadro 19 pueden distinguirse los tratamientos que estadísticamente muestran diferencias significativas como el Tratamiento 6, el cual presenta una ausencia total de Mn, y que presenta el valor más alto encontrado en el tejido vegetal, lo que podría interpretarse como una acumulación del Fe favorecida por la ausencia de Mn. Debe observarse que, aún con una dosis parcial de Mn en la solución nutritiva, el efecto de acumulación puede volver a presentarse. En contraparte, el Tratamiento 4, el cual tiene una deficiencia total de Fe pero la dosis completa de Mn, es el que muestra la concentración más baja de Fe soluble en el tejido vegetal.

Cuadro 19. Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para Fe²⁺ (mg·kg⁻¹).

Tratamiento	Media*	
100% Fe, 0% Mn	59.450	a
100% Fe, 50% Mn	58.600	a
200% Fe, 100% Mn	54.450	ab
100% Fe, 200% Mn	52.100	ab
100% Fe, 100% Mn	49.100	ab
50% Fe, 100% Mn	31.300	bc
0% Fe, 0% Mn	22.800	c
0% Fe, 100% Mn	18.500	c

*Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

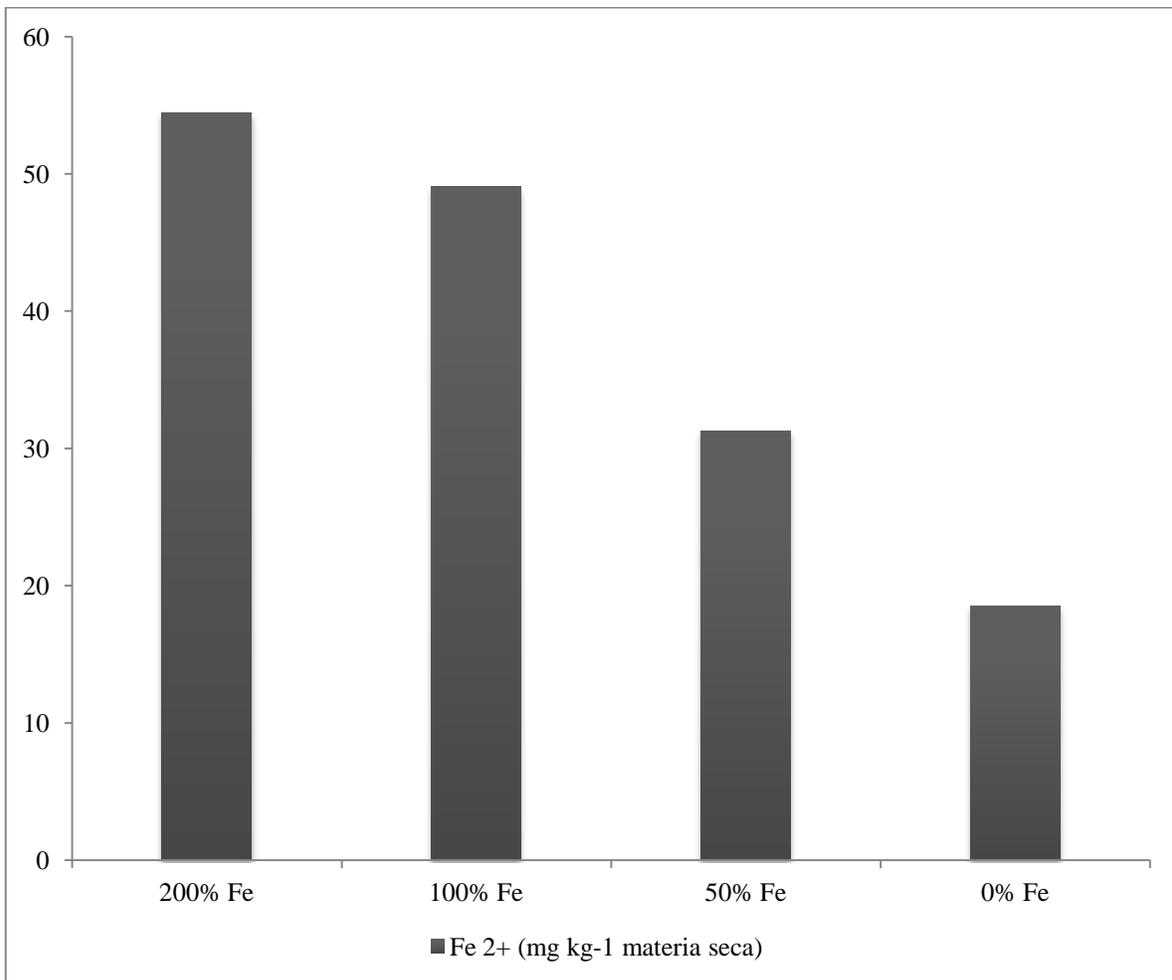


Figura 17. Tendencia de la concentración de Fe²⁺ (mg kg⁻¹ materia seca) en el tejido vegetal en función de la concentración de Fe en la solución nutritiva.

En cuanto al Fe total, en la Figura 18 se puede notar que la tendencia es un tanto diferente al Fe soluble ya que, si bien, el Tratamiento 2, el cual se caracteriza por el suministro en exceso del micronutriente Fe tiene la concentración más alta en el tejido vegetal (Cuadro 20), y posteriormente el Tratamiento 1, el cual tiene la dosis completa de Fe en la solución nutritiva tiene una concentración más baja en el tejido vegetal respecto al tratamiento anterior; el Tratamiento 3 (50 % Fe, 100 % Mn) no muestra una concentración más baja respecto al tratamiento anterior, por lo contrario, hay un aumento en la concentración.

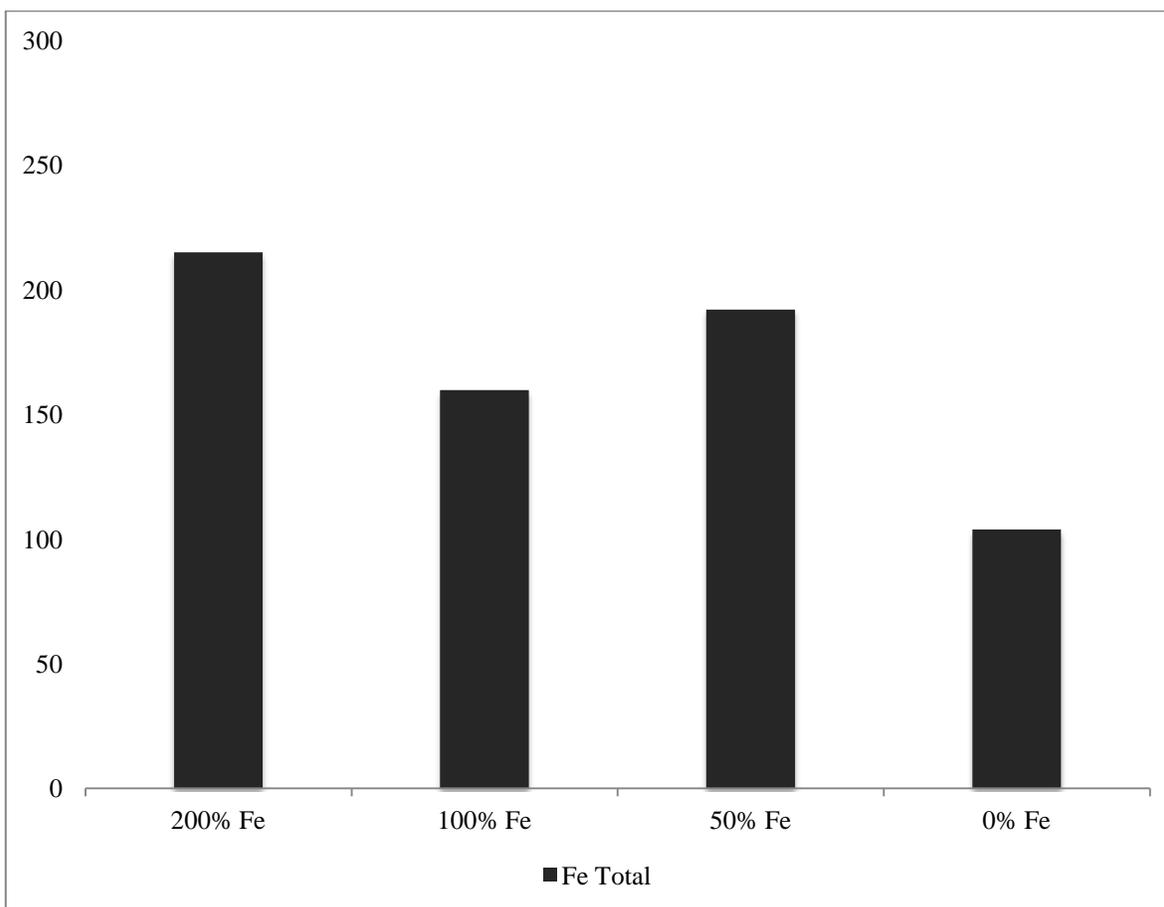


Figura 18. Gráfica de tendencias de la concentración de Fe total (mg kg^{-1} peso seco) en el tejido vegetal en función de la concentración de Fe en la solución nutritiva.

Cuadro 20. Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para Fe total (mg·kg⁻¹).

Tratamiento	Media*	
100% Fe, 50% Mn	289.05	a
100% Fe, 0% Mn	218.45	ab
200% Fe, 100% Mn	214.85	ab
100% Fe, 200% Mn	207.15	ab
50% Fe, 100% Mn	191.95	bc
100% Fe, 100% Mn	159.70	bc
0% Fe, 0% Mn	142.60	bc
0% Fe, 100% Mn	103.75	c

*Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

De acuerdo a la relación Fe-Mn, debe haber un balance entre las concentraciones de ambos micronutrientes en el tejido vegetal, sin embargo, al haber un desequilibrio a favor del Mn, éste podría ocasionar la oxidación del Fe debido al potencial de oxidación, por lo que el Fe suministrado cambiaría su estado de forma ferrosa a férrica, es decir, a una forma insoluble. Por lo tanto, aunque exista Fe en el tejido vegetal, no puede ser aprovechado por la planta, por lo que hay una acumulación en el tejido. Lo anterior puede ser corroborado con lo que Somers y Shive (1942) establecen, que existe la teoría que el Mn al estar en desbalance con el Fe y en mayor concentración relativa, oxida al Fe y lo inactiva. De esta forma, el Fe en la planta pasa de la forma ferrosa a férrica, y se convierte en insoluble e inasimilable por la planta. Los mismos autores afirman que, resultados experimentales muestran que un incremento en el Mn trae como consecuencia un decremento en el Fe soluble (Fe²⁺) e incrementa el porcentaje de Fe insoluble (Fe³⁺) en la planta lo que explicaría el por qué la concentración de Fe es mayor en el tratamiento en el que existe un desbalance de Fe-Mn a favor del Mn. Esto indica que Mn con su alto potencial de oxidación es responsable de la oxidación del Fe en forma ferrosa y causa por lo tanto su precipitación.

De aquí la importancia de conocer la concentración de Fe soluble en el tejido vegetal para conocer la concentración de Fe aprovechable en la planta. Finalmente, el tratamiento con ausencia de Fe muestra la concentración más baja como podría esperarse. En la Figura 19 puede hacerse una comparación de las concentraciones de Fe soluble e Fe total en el tejido vegetal y su variación de acuerdo a la concentración de este micronutriente en la solución nutritiva además del efecto cuando hay variaciones en las concentraciones de Mn. En este último caso puede notarse el efecto del Mn sobre la concentración de Fe y la proporción Fe total – Fe soluble. Una ausencia total o parcial de Mn provoca una acumulación de Fe en el tejido vegetal, el cual, como puede notarse en la Figura, es en su mayoría como Fe total. A medida que aumenta la concentración de Mn en la solución nutritiva en el efecto de acumulación del Fe es menor, sin embargo, la concentración de Fe soluble disminuye ligeramente.

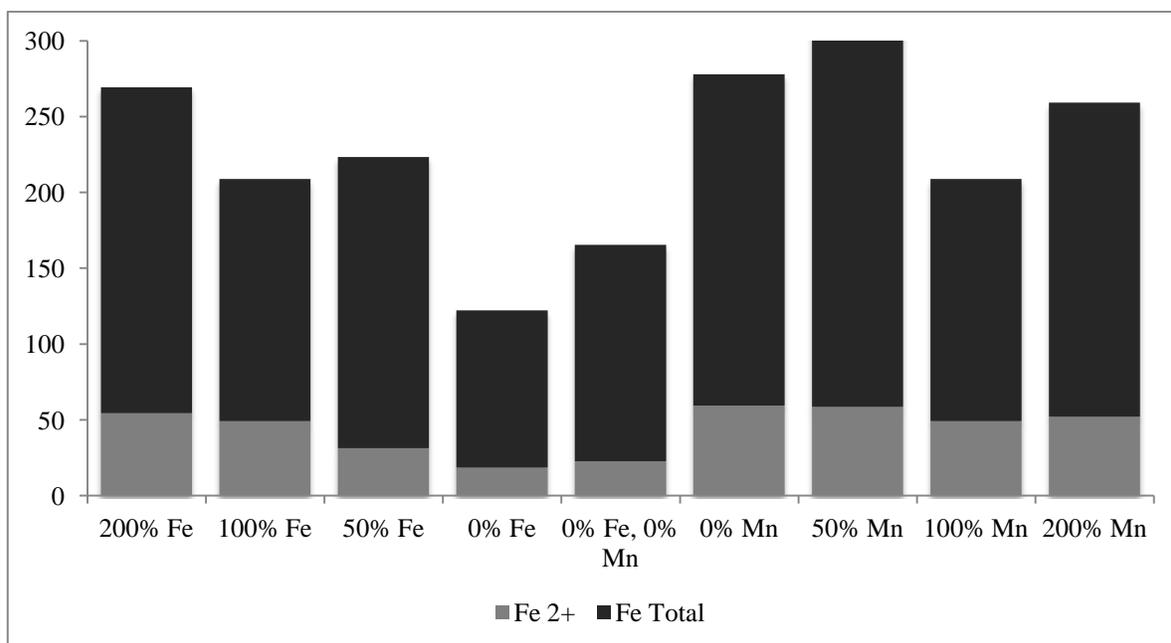


Figura 19. Gráfica de comparación de las concentraciones de Fe²⁺ e Fe soluble (mg kg⁻¹ eso seco) en el tejido vegetal.

Anteriormente, Twyman (1951) estableció que el potencial de oxidación del Mn es superior al del Fe como ya antes se ha mencionado pero agrega que esta reacción ocurre a nivel intracelular. El Fe férrico absorbido por las plantas es reducido a la forma ferrosa a menos que esta reacción sea prevenida por un reactante marcador. Si dicho marcador no está presente en la planta entonces una pequeña cantidad de Fe ferroso podría ser un agente tóxico poderoso, causando síntomas de toxicidad, los cuales son idénticos con los de la deficiencia de Mn. En el caso del Mn, en la Figura 20 se observa la variación en la concentración en el tejido vegetal es proporcional con la concentración en la solución nutritiva. De acuerdo con el Cuadro 21, puede distinguirse que el tratamiento 8 (100% Fe, 200% Mn) tiene la concentración más alta, junto con el Tratamiento 4 (0% Fe, 100% Mn), lo que sugeriría que la ausencia de un micronutriente como el Fe podría provocar una acumulación de Mn y viceversa, como en el tratamiento 6 (100% Fe, 0% Mn) de acuerdo al Cuadro 20. La concentración de Mn más baja se encuentra precisamente en este tratamiento.

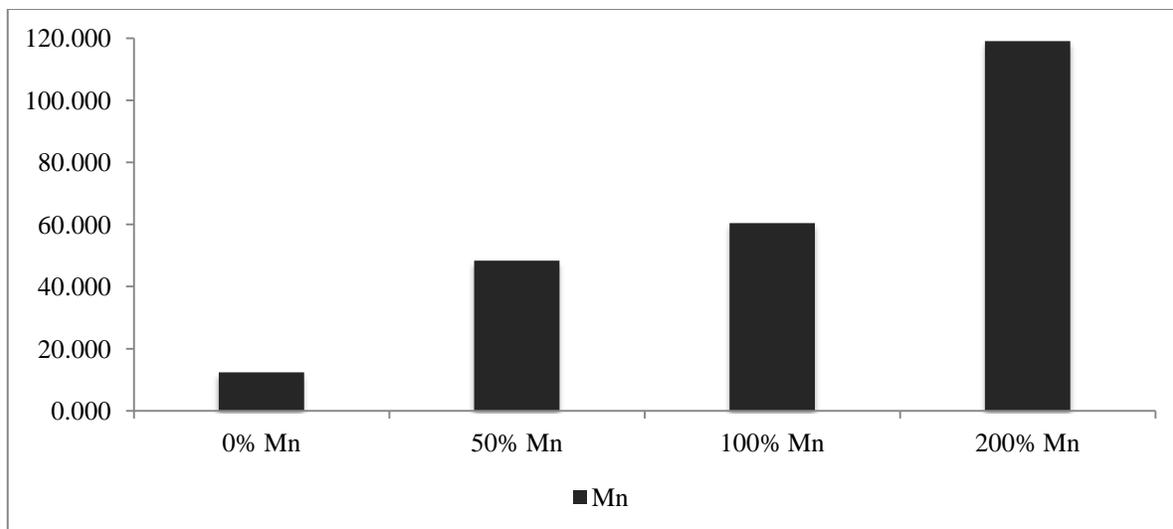


Figura 20. Tendencia de la concentración de Mn en el tejido vegetal (mg kg^{-1} peso seco) en función de la concentración del mismo micronutriente en la solución nutritiva.

Cuadro 21. Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para Mn ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$).

Tratamiento	Media*	
100% Fe, 200% Mn	119.06	a
0% Fe, 100% Mn	101.82	a
100% Fe, 100% Mn	60.41	b
200% Fe, 100% Mn	57.59	b
50% Fe, 100% Mn	49.42	bc
100% Fe, 50% Mn	48.31	bc
0% Fe, 0% Mn	32.38	bc
100% Fe, 0% Mn	12.33	c

*Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

En la Figura 21, pueden observarse en conjunto las concentraciones en el tejido vegetal de Fe total, Fe soluble y Mn y la variación de éstas de acuerdo a dosis cambiantes de Fe y Mn en la solución nutritiva. Así, la concentración más alta de Fe total está en el Tratamiento 7 (100% Fe, 50% Mn) y la más baja en el tratamiento 4 (0% Fe, 100% Mn).

En el caso del Mn, éste se ve afectado por las dosis de Fe en la solución nutritiva, ya que la ausencia de Fe provoca un aumento en la concentración de Mn y ocurre lo mismo en el caso contrario, al haber ausencia de Mn, hay un aumento en la concentración de Mn. Sin embargo, si consideramos los extremos, dónde hay un suministro en exceso de Fe o Mn; en el primer caso, hay una disminución en la concentración de Mn respecto a tratamiento testigo.

En el segundo caso, al haber un exceso de Mn, no hay un descenso en la concentración de Fe total, por el contrario, hay una hiperacumulación que, como se ha explicado antes, puede ser atribuida al alto potencial de oxidación del micronutriente Mn.

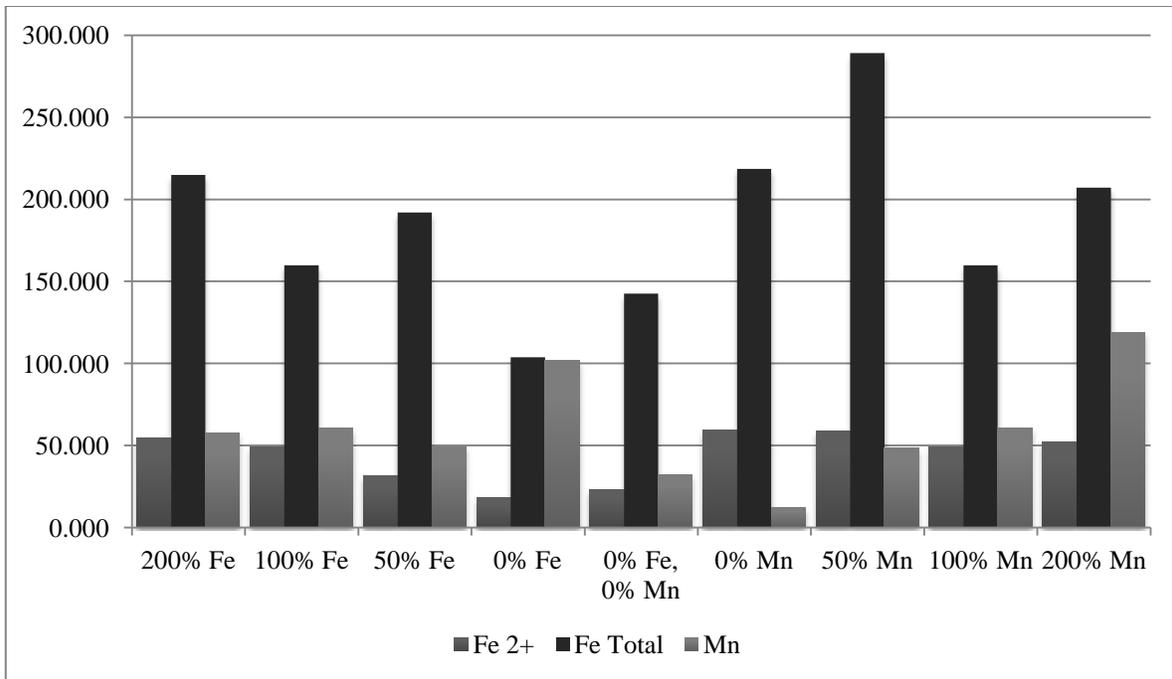


Figura 21. Tendencias de la concentración de Fe soluble y total y Mn en el tejido vegetal (mg kg^{-1} peso seco) en función de la concentración de Fe y Mn en la solución nutritiva.

Finalmente se calculó la relación Fe-Mn, la cual varía en un rango de 1 a 18 aproximadamente; el tratamiento testigo a su vez tiene una relación Fe-Mn de 2.6, la cual se considera dentro del rango óptimo en el que existe un balance entre ambos micronutrientes que es favorable para la planta; la relación fue obtenida al dividir la concentración de Fe entre la de Mn. Dicho valor coincide con los resultados de Leach y Taper (1954) que establecen que esta relación puede estar ubicada en el rango de 1.5 a 3.0. Sin embargo, Twyman (1951) menciona también que la relación Fe-Mn variará con el cultivo. En el Cuadro 22 se nota que existen diferencias estadísticas significativas para el tratamiento 6 (100% Fe, 0% Mn), mientras que pueden agruparse los Tratamientos 1, 8 y 4 (100% Fe, 100% Mn; 100% Fe, 200% Mn y 0% Fe, 100% Mn respectivamente) en un mismo conjunto.

Cuadro 22. Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para la relación Fe-Mn.

Tratamiento	Media*	
100% Fe, 0% Mn	18.148	a
0% Fe, 0% Mn	9.045	b
100% Fe, 50% Mn	5.983	bc
50% Fe, 100% Mn	4.046	bc
200% Fe, 100% Mn	3.879	bc
100% Fe, 100% Mn	2.677	c
100% Fe, 200% Mn	1.770	c
0% Fe, 100% Mn	1.023	c

*Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

VII. CONCLUSIONES

Se concluye a partir de los resultados obtenidos que:

- Se corrobora la hipótesis en la cual los valores de los canales del espacio de color RGB, CIELab, Cromo y Matiz, así como las características texturales; están asociados con el grado de deficiencia de los micronutrientes Fe y Mn.
- El análisis digital de imágenes puede ser usado como herramienta de diagnóstico de deficiencias nutrimentales de Fe y Mn pero con limitaciones.
- La combinación de variables usadas en la generación de clasificadores puede aumentar o disminuir la eficiencia del mismo debido a la interacción de dichas variables.
- El uso de redes neuronales constituye un método adecuado de clasificación de las características de color y textura que difícilmente podrían explicarse por separado debido a la tendencia no lineal de los datos.
- Se corrobora la correlación de las características de color y texturales en su conjunto con la concentración de los micronutrientes.

VIII. LITERATURA CITADA

- Alcántar G. G. y M. Sandoval V. 1999. Manual de Análisis Químico de Tejido Vegetal. Publicación Especial No. 10. SMCS. Chapingo, México. 150 p.
- Apoys y Servicios a la Comercialización Agropecuaria (ASERCA). 1997. Frijol. Claridades Agropecuarias, No. 44. México, D.F.
- Barbazán, M. 1998. Análisis de plantas y síntomas visuales de deficiencias. Facultad de Agronomía. Universidad de la República. Montevideo, Uruguay.
- Burks, T. F.; Shearer, S. A. Y Payne, F. A. 2000. Classification of weed species using color texture features and discriminant analysis. American Society of Agricultural Engineers 43(2): 441-448.
- Caudill, M. y C. Butler. 1992. Understanding Neural Networks. The MIT Press; Spi Pap/Di Ed. USA. 309 pp.
- Chen, C. H.; L. F. Pau y P. S. P. Wang. 1998. Texture Analysis *in* The Handbook of Pattern Recognition and Computer Vision (2nd Edition). World Scientific Publishing Co. USA. 207-248 pp.
- Clark, R. B. 1991. Iron: unlocking agronomic potential. Solutions 35: 24-28.
- Ebrahimian, E. and A. Bybordi. 2011. Effect of iron foliar fertilization on growth, seed and oil yield of sunflower grown under different irrigation regimes. Middle-East Journal of Scientific Research 9 (5): 621-627.
- Gonzalez, R. C. and R. E. Woods. 2002. Digital Image Processing. Prentice-Hall. 793 p.

- Hansen, N. C., B. G. Hopkins, J. W. Ellsworth, and V. D. Jolley. 2006. Iron nutrition in field crops. *In: Iron Nutrition in Plants and Rhizospheric Microorganisms*. Springer Netherlands. pp: 23-59.
- Haralick, R. M., Shanmugan, K., and Dinstein, I. 1973. Textural features for images classification. *IEEE Transactions on systems, man and cybernetics* 3(6):610 – 621.
- Haralick, R.M. 1979. Statistical and structural approaches to texture. *Proceedings of the IEEE*. 67: 786-804.
- Haykin, S. 1994. *Neural Networks: A Comprehensive Foundation*. New York: MacMillan Publishing Company, USA. 768 pp.
- Jensen, J. R. 2006. *Introductory digital image processing: A remote sensing perspective*. Prentice Hall. Englewood Cliffs, NJ, USA. 608 pp.
- Jiménez, G., J. C. y Acosta, G., J. A. 2013. Efecto de la densidad de cosecha en rendimiento de frijol Pinto Saltillo de riego en Chihuahua, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 4(2): 243-257.
- Jones, J.B., B. Wolf, and H.A. Mills. 1991. *Plant analysis handbook: a practical sampling, preparation, analysis, and interpretation guide*. Macro-Micro Publ., Athens, GA, USA.
- Julesz, B., E. N.; Gilbert, L. A.; Shepp, and H. L. Frisch. 1973. Inability of humans to discriminate between visual textures that agree in second-order statistics. *Revisited Perception* 2:391-405.

- Kim, D. G.; Burks, T. F.; Schumann, A. W.; Zekri, M.; Zhao, X. and Quin, J. 2009. Detection of citrus greening using microscopic imaging. *Agricultural Engineering International: the CIGR Ejournal*. Manuscript 1194, Vol. XI. Florida, USA.
- McGuire, R. G. 1992: Reporting of objective color measurements. *HortScience* 27: 1254-1255. USA
- Mendoza, F., P. Dejmek, and L. Aguilera. 2006. Calibrated color measurements of agricultural foods using image analysis, *Postharvest Biol. Technol.* 41 (3): 285-295.
- Mengel, K. and Kirkby, E. A. 1987. *Principles of plant nutrition*. Fifth ed. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, the Netherlands. 849 pp.
- Meyer, G.E., T. Mehta, M.F. Kocher, D.A. Mortensen y A. Samal. 1998. Textural imaging and discriminant analysis for distinguishing weeds for spot spraying. *Transactions of the ASAE* 41(4): 1189-1197.
- Murakami, P. F., Turner, M. R., van den Berg, A. K. and Schaberg, P. G. 2005. An instructional guide for leaf color analysis using digital imaging software. United States Department of Agriculture. USA.
- Oserkowsky, J. 1933. Quantitative relation between chlorophyll and iron in green and chlorotic leaves. *Plant Physiol.* 8: 449 – 468. Berkeley, California.
- Schulte, E. E. and Kelling, K. A. 1999. *Soil and applied manganese*. Publication A2526. Wisconsin county Extension office. University of Wisconsin. WI, USA.
- Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural (SAGAR). 1998. *Situación actual y perspectiva de la producción de frijol en México 1990 – 1998*. México, D.F.

Secretaría de Agricultura Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA).

2010. Anuarios Estadísticos de la Producción Agrícola. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). D. F., México. URL: <http://www.siap.sagarpa.gob.mx>

Somers, I. I. and J. W. Shive. 1942. The iron manganese relation in plant metabolism. *Plant Physiol.* 17: 582 – 602.

Twyman, E. S. 1951. The iron – manganese balance and its effect on the growth and development of plants. *New Phytologist* 45: 1469-8137.

Vakilian, K. A. y J. Massah. 2012. Non-linear growth modeling of greenhouse crops with image textural features analysis. *International Research Journal of Applied and Basic Sciences*. Vol., 3 (1), 197-202, 2012. Tehran, Iran

Weinstein, L. H. and W. R. Robbins. 1954. The effect of different iron and manganese nutrient levels on the catalase and cytochrome oxidase activities of green and albino sunflowers leaf tissues. *Plant Physiol.* 29: 398–399.

Wertheimer, M. 1938. Laws of organization in perceptual forms (partial translation). In *A Sourcebook of Gestalt Psychology*, W. Ellis (Ed.). Harcourt Brace and Company, pp. 71–88.

Yáñez R., J. N. 2002. Nutrición y regulación del crecimiento en hortalizas y frutales. *Tecnología, Comercio y Servicios Agrícolas Mundiales*. Universidad Agraria Antonio Narro. Saltillo, México.

Zucker, S. W. and K. Kant. 1981. Multiple-level representations for texture discrimination. Proceedings of the IEEE Conference on Pattern Recognition and Image Processing, pp. 609-614, Dallas, TX. USA.