



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD

GENÉTICA

INFLUENCIA DEL ALUMINIO Y EL FÓSFORO EN LA BIOSÍNTESIS DE ANTOCIANINAS Y CALIDAD EN HORTENSIA (*Hydrangea macrophylla*)

MARÍA DE JESÚS IBÁÑEZ BARBOZA

T E S I S
PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO DE MÉXICO

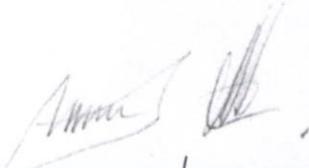
2020

La presente tesis titulada: **Influencia del aluminio y el fósforo en la biosíntesis de antocianinas y calidad en hortensia (*Hydrangea macrophylla*)** realizada por la alumna: **María de Jesús Ibáñez Barboza** bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS
RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD
GENÉTICA

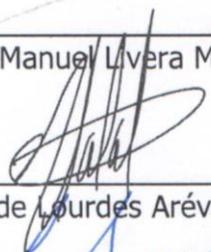
CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO



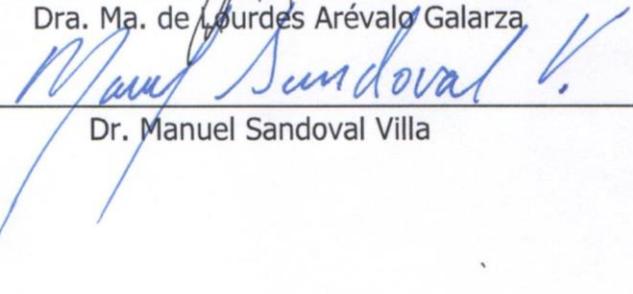
Dr. Manuel Livera Muñoz

ASESORA



Dra. Ma. de Lourdes Arévalo Galarza

ASESOR



Dr. Manuel Sandoval Villa

Montecillo, Texcoco, Estado de México, junio de 2020

INFLUENCIA DEL ALUMINIO Y EL FÓSFORO EN LA BIOSÍNTESIS DE ANTOCIANINAS Y CALIDAD EN HORTENSIA (*Hydrangea macrophylla*)

María de Jesús Ibáñez Barboza, M.C.
Colegio de Postgraduados, 2020

RESUMEN

La tendencia mundial en producción de *Hydrangea macrophylla* está orientada a la diversidad en colores y forma de sépalos, adaptación climática o condiciones de cultivo, a fin de cumplir los estándares de calidad. La uniformidad y estabilidad del color, tamaño y forma de la inflorescencia, periodo de floración largo con cambios marcados de pigmentación son atributos de calidad deseables en hortensia de maceta. El color de los floretes de hortensia es altamente sensible a variaciones en el pH y al contenido de elementos como Al y P en el suelo. Para determinar la influencia de la asimilación del Al y el P y algunos factores del microclima en la fenología, pigmentación y calidad de la inflorescencia en *Hydrangea macrophylla* se estableció un diseño en parcelas divididas completamente al azar con dos pH's, dos estados de floración, dos cultivares y 4 dosis de sulfato de aluminio. Como variables fisiológicas se obtuvieron: asimilación de CO₂, inicio, duración y estados de floración, perfil de antocianinas, contenido total de flavonoides y 5 rasgos de la inflorescencia; mientras que la variación del color y su asociación a variables fisiológicas y asimilación de Al se estimó a partir del análisis de imágenes con un clasificador creado con redes neuronales artificiales (RNA). Se obtuvieron inflorescencias en la categoría "Select" (15-17 cm), en color violeta púrpura y verde amarillento en el cultivar TolA₁, y rojo púrpura y naranja grisáceo en TolR₁ para estado Fresh y Antique respectivamente. El período de floración fue de 5 meses con dos fechas de inicio de floración con cambios en la formación de botones florales y la relación área foliar·inflorescencia producto de cambios en la temperatura y humedad relativa. La duración de las etapas de floración dependió principalmente del cultivar. La tasa más alta de asimilación de CO₂ se observó en TolR₁ estado Antique (9.65 μmol CO₂ m² s⁻¹). El contenido total de flavonoides fue dos veces mayor en TolR₁ (55.05 mgQE/g PF) que en TolA₁; y este último superó 4 veces a TolR₁ en contenido de delfinidina (380.09 mg/g).

Palabras clave: *Hydrangea macrophylla*, asimilación de CO₂, asimilación de Al, antocianinas, flavonoides, etapas de floración, redes neuronales artificiales (RNA), variables de color.

INFLUENCE OF ALUMINUM AND PHOSPHORUS ON THE BIOSYNTHESIS OF ANTOCIANINS AND QUALITY IN (*Hydrangea macrophylla*)

María de Jesús Ibáñez Barboza, M.C.
Colegio de Postgraduados, 2020

ABSTRACT

The worldwide trend in *Hydrangea macrophylla* production is oriented towards diversity in sepal colors and shape, climatic adaptation or growing conditions, in order to meet quality standards. Color intensity and uniformity, inflorescence shape and size, long flowering period with marked pigmentation changes are desirable quality attributes in potted hydrangea. Color is one of the highly sensitive quality factors in hydrangeas since it can be manipulated through variations in pH, with elements such as Al and P. To determine the influence of Al and P assimilation and some microclimate factors on the quality and biosynthesis of anthocyanins in *Hydrangea macrophylla*, a completely randomly split plot design was established with ; 2 cultivars (TolA₁(blue), TolR₁(pink)), two pH values (4.5, 6.0), two flowering stages (Fresh, Antique) and 4 doses of aluminum sulfate (T0: 0 g L⁻¹, T1: 0.250 g L⁻¹, T2: 0.500 g L⁻¹ and T3: 1g L⁻¹) as factors. The variables obtained were assimilation of CO₂, blooming initiation and duration of flowering stages, decorative florets color, anthocyanin profile and total flavonoid content and 5 inflorescence features. Inflorescences in “Select” size category (15-17 cm) and 1.12 sphericity index were obtained, in violet purple and green yellowish colors in TolA₁, and red purple and orange grayish in TolR₁ for fresh and antique stages respectively, with a 5 months flowering period and two flowering initiation dates (June and August), where a decrease of 1.1 °C and an increase of 5.9% relative humidity (RH) stopped the formation of flower buds in July and changed the foliar area·inflorescence ratio of 5% of the plants. The flowering stages duration depended on blooming beginning dates and showed marked pigmentation changes between stages. The highest assimilation of CO₂ was observed in antique stage in TolR₁ (9.65 μmol CO₂ m² s⁻¹). Total flavonoid content was twice as high in TolR₁ (55.05 mgQE/g FW) than in TolA₁; and TolA₁ exceeded 4 times TolR₁ in delphinidin content (380.09 mg STD/ DW).

Key words: *Hydrangea macrophylla*, assimilation of CO₂, assimilation of Al, anthocyanins, flavonoids, blooming stages.

Cree en ti mismo y luego vive de tal manera
que puedas lograr aquello de lo que eres capaz

Thomas S. Monson

De todas las cosas que hagas en la vida,
sólo serán memorables las que hiciste con el corazón

DEDICATORIAS

Agradezco infinitamente haber crecido en nuestro hogar, ustedes me dieron alas y me dieron raíces, me enseñaron a creer que podía conseguir mis metas, así, sin la menor duda, y me ayudaron a comprender que para conseguir las se planifica y se trabaja cada día con el corazón contento.

Los valores cardinales de mi vida, incluso mi vocación por la Agronomía, el amor por las flores y el respeto a la naturaleza se los debo a ustedes.

Recordar los momentos que compartimos y sus enseñanzas me hace sonreír y reafirma mi compromiso por la constante búsqueda de la excelencia y el servicio a los demás.

En memoria de papá y mamá

Para mis hermanos y sobrinos... llevo su corazón en el mío, los llevo en mi corazón.

Amor

Me siento tan afortunada de que ames la naturaleza tanto o más que yo y de que compartamos los mismos sueños. Muchas gracias por brindarme tu apoyo incondicional y acompañarme en alcanzar esta meta y caminar de mi mano en los desafíos que hubo en el camino; has sembrado en mi corazón grandes momentos.

A Gina, Garde, Lore, Ely, Dalía, Eve, Lupita, Yaz, Ulises, Pizano, Paty, Caro, Vicky, Paulina, Sandra y todos los amigos y compañeros con quién tuve la fortuna de compartir este periodo de mi vida.

AGRADECIMIENTOS

A Dios

Contigo todo es posible

Al Colegio de Postgraduados

Por permitirme ser parte de la Comunidad Colpos reconocida por su excelencia y compromiso con el Sector Agrícola Mexicano.

Dr. Manuel Livera Muñoz

Por enseñarme la importancia de acercarse a la ciencia desde una visión integral, su confianza y su siempre amable e ingeniosa guía para la realización de esta investigación.

Dra. Ma. de Lourdes Arévalo Galarza

Por su apoyo incondicional e interés mostrado en la realización de esta investigación; si más mujeres emuláramos su ética profesional y calidad humana crearíamos una sociedad diferente; mejor.

Dr. Manuel Sandoval Villa

Por su colaboración en la realización de esta investigación y hacer del quehacer científico algo divertido.

Dr. Alfredo Carrillo Salazar

Por su colaboración en la realización de esta investigación, su paciencia y su siempre amable guía.

Mc. Cecilia García Osorio

Por su apoyo incondicional para llevar a cabo esta investigación y permitirme ver su serena dedicación a la ciencia y a sus métodos.

Mc. Roberto Flores Almaráz

Por su invaluable apoyo para llevar a cabo esta investigación, su sagacidad y su siempre alegre compañía.

Pedro Romero Miranda

Por su apoyo en la fase de campo.

A todos aquellos con quién tuve oportunidad de trabajar y me brindaron amablemente las facilidades para realizar esta investigación: Dr. Cresenciano Saucedo Veloz, Mc. David Jean Contreras, Dr. R. Marcos Soto Hernández, Mc. Rubén San Miguel Chavez, Dr. Víctor Manuel Ordáz Chaparro, Dr. Gabriel Otero Colina, Mc. Ivan Ramírez Ramírez, Sra. Isidra.

A todos catedráticos y compañeros del programa de Genética

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología(CONACYT)

Que Dios los bendiga siempre

CONTENIDO

RESUMEN.....	iii
ABSTRACT.....	iv
LISTA DE CUADROS.....	xi
LISTA DE FIGURAS.....	xii
INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
CAPÍTULO 1. INFLUENCIA DEL ALUMINIO Y EL FÓSFORO EN LA BIOSÍNTESIS DE ANTOCIANINAS Y CALIDAD EN HORTENSIA	5
1.1. RESUMEN	5
1.2. ABSTRACT	6
1.3. INTRODUCCIÓN	7
1.4. MATERIALES Y MÉTODOS	10
1.4.1 Establecimiento del experimento	10
1.4.2 Variables fisiológicas	11
1.4.3 Variables ambientales	13
1.5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	14
1.5.1 Asimilación de CO₂	14
1.5.2 Período de floración	16
1.5.3 Asimilación de Al y color	20
1.5.4 Contenido total de flavonoides	26
1.5.5 Perfil de antocianinas	28
1.5.6 Características de la inflorescencia	30
1.6. CONCLUSIONES	31
1.7. REFERENCIAS	33
CAPÍTULO 2. ALUMINIO, PH Y ESTADO FENOLÓGICO EN LA COLORACIÓN DE FLORETES DE (<i>Hydrangea macrophylla</i>) MEDIDA CON ANÁLISIS DE IMÁGENES	39
2.1 RESUMEN	39
2.2 ABSTRACT	40
2.3 INTRODUCCIÓN	41

2.4 MATERIALES Y MÉTODOS	43
2.4.1 Imágenes digitales.....	44
2.4.2 Segmentador de imágenes.....	44
2.4.3 Determinación de color de floretes decorativos	46
2.4.4 Indicadores de calidad en hortensia.....	47
2.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	48
2.5.1 Desempeño del clasificador de color RNA.....	48
2.5.2 Criterios de calidad en Hortensia.....	49
2.5.2.1 Superficie cubierta por clase.....	49
2.5.2.2 Grupo de color dominante	52
2.5.2.3 CIE-L y C.....	54
2.6 CONCLUSIONES	58
2.6.1 INVESTIGACIÓN FUTURA	59
2.7 REFERENCIAS.....	60
CONCLUSIONES GENERALES.....	66

LISTA DE CUADROS

Cuadro	Título	Página
1	Solución nutritiva Steiner y fuentes de fertilización usadas durante la fase	10
2	Fechas de inicio por factor evaluado y valor medio de T° y HR e imagen del efecto de su variación en relación area foliar·tamaño de inflorescencia	17
3	Indicadores de calidad del color en floretes decorativos de hortensia cultivar TolA ₁ y su variación por asimilación de Al.	22
4	Indicadores de calidad del color en floretes decorativos de hortensia cultivar TolR ₁ de floración temprana y su variación por asimilación de Al.	24
5	Indicadores de calidad del color en floretes decorativos de hortensia cultivar TolR ₁ de floración tardía y su variación por asimilación de Al	26
6	Contenido total de flavonoides en <i>Hydrangea macrophylla</i> por cultivar, pH y estado de floración expresados en mg QE/g sépalo PS.	27
7	Contenido de antocianinas en floretes sépalos de <i>Hydrangea macrophylla</i> por cultivar, pH, estado de floración y dosis de Al ₂ (SO ₄) ₃ expresado en mg de STD/ g sépalo PS .	29
8	Media(\bar{x}), desviación estándar(SD) y coeficiente de variación(CV)(n=10) para el escenario de clasificación con RGB como canal de entrada y salida multiclase (rosa, azul, café y verde).	49
9	Efecto de los tratamientos en el porcentaje de superficie cubierta (SCC) por clase (rosa, azul, café, verde).	51
10	Efecto de los tratamientos en la frecuencia del grupo de color dominante(FCD) por tratamientos para las superficies de color dominante (SCC).	54
11	Variación de los valores de CIE-L y C inducida por los tratamientos en la superficie del florete.	56

LISTA DE FIGURAS

Figura	Título	Página
1	Comportamiento de la Tasa de asimilación de CO ₂ en <i>Hydrangea macrophylla</i> durante la floración por cultivar, organo y estado de floración. TolA ₁ (azul), TolR ₁ (rosa).	14
2	Etapas de floración en <i>Hydrangea macrophylla</i> con duración por inicio de floración e imagen ilustrativa de la apariencia de color por florete decorativo e inflorescencia.	20
3	Ejemplos de muestras de 30x30 píxeles de las clases de color, azul (a), verde (b), rosa (c) y café (d) obtenidos de hortensia en las etapas fenológicas “Fresh” y “Antique” que fueron utilizadas en la generación del clasificador con RNA.	44
4	Ejemplos visuales de la aplicación de la metodología para la segmentación de imágenes de floretes decorativos de hortensia usando un clasificador con RNA.	48

INTRODUCCIÓN GENERAL

El nombre “*Hydrangea*” fue acuñado en latín moderno por Carlos Lineo compuesto del griego “*hydr*”, tallo de agua + “*angeion*” vaso o cápsula, haciendo referencia a la forma de recipiente de sus semillas (Diccionario de Etimología, 2019); mientras que “Hortensia” uno de sus nombres comunes fue reportado por primera vez en 1771 atribuido al botánico francés Philibert Commerson (Hydrangeaworld.com, 2019). También conocida como hortensia francesa, la hortensia de los floristas y hortensia de hoja grande; la hortensia es una planta de importancia ornamental perteneciente al género *Hydrangea*. De acuerdo con la Unión para la Protección de Obtenciones Vegetales (UPOV, 2020) dentro de este género, “*macrophylla*” es la especie de mayor importancia comercial seguida de *paniculata*, *quercifolia*, *arborescens* e *híbrida*. A nivel mundial la especie *Hydrangea macrophylla* se produce y comercializa como planta para jardín, maceta y flor de corte.

En EEUU, en 2014 fue el segundo arbusto con mayor producción con 10M de plantas vendidas (\$91.2 millones de dólares) (Fulcher *et al.*, 2016). En 2016 en países europeos, fue el segundo producto ornamental con mejor precio (2.53 dólares por pieza), superado únicamente por *Phalaenopsis* (4.27 dólares por pieza)(AIPH, 2016) mientras que en México, su producción en maceta lidera el grupo de cultivos con mayor rendimiento por hectárea sembrada (Agroméxico, 2018) con un valor de la producción de 1.623 millones de dólares en una superficie sembrada de 2.5 ha cultivadas principalmente en el municipio de Atlacomulco, Estado de México (SIAP, 2018).

Debe su atractivo comercial a que presenta inflorescencias de hasta 40 cm de diámetro (Gardening express, 2020), comercializadas en dos formas; “mopheads” y “lacecaps”(Uemachi y Nishio, 2000) y en colores blanco, azul, morado, rosa y rojo que florecen desde principios de primavera hasta finales de otoño, con cambios marcados de pigmentación que permiten su venta

en las etapas “Fresh” y “Antique”(Kitamura *et al.*, 2018) y a que puede adaptarse como planta de maceta, jardín y flor de corte.

Como señala Soren Schroll (2015) “El mercado de las Hortensias está finalmente orientando hacía la calidad; ya que durante mucho tiempo los mejoradores proveyeron las mismas variedades a los productores pudiendo competir únicamente en precio, ofreciendo sus plantas al menor costo”; actualmente se liberan al mercado nuevas variedades “a la medida” del cliente con especificaciones que van desde el color y forma de sépalos, hasta adaptación a un microclima o contenedor determinado (Schroll, 2015; Gardeners’World Magazine, 2018) .

Ya que en un mercado orientado a la calidad el cumplimiento de estándares permite la inclusión de productores a mercados internacionales; el presente trabajo se dividió en dos capítulos: El primero orientado al análisis de los factores nutrimentales y de microclima que influyen en la calidad de *Hydrangea macrophylla*; y el segundo enfocado al análisis de calidad del color de las inflorescencias y su variación:

El primer capítulo: “Influencia del Al y P en la biosíntesis de antocianinas y calidad de la inflorescencia en *Hydrangea macrophylla*” tuvo como objetivo evaluar la influencia de la asimilación del Al y el P; y de factores del microclima en la biosíntesis de antocianinas y calidad en *Hydrangea macrophylla*; así como obtener la dosis de sulfato de aluminio óptima por grupo de color para cada cultivar y evitar fitotoxicidad potencial a plantas vecinas. Las hipótesis fueron 1) que bajo las condiciones de manejo nutrimental y microclima establecidos existe una combinación $\text{pH} \cdot \text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ que promueve la mejor calidad del color de las inflorescencias y 2) que resultará un comportamiento diferenciado por factor en los criterios de calidad evaluados.

El segundo capítulo: “Edad fenológica, pH y coloración de floretes de hortensia (*Hydrangea macrophylla*) medida con análisis de imágenes” tuvo como objetivo identificar patrones de color

asociados a **criterios de calidad** (Superficie por clase de color, Grupo de color dominante e Intensidad) en floretes decorativos de hortensia a través del análisis de imágenes con un clasificador RNA y proponer el uso del clasificador RNA como herramienta en la clasificación de color en especies ornamentales. La hipótesis fue que es posible evaluar los criterios de calidad y su variación por cultivar (TolA₁, TolR₁), estado de floración (fresh, antique), pH (4.5, 6.0) y adiciones de Al₂(SO₄)₃; así como la interacción de factores con un Clasificador de color RNA.

CAPÍTULO 1. INFLUENCIA DEL ALUMINIO Y EL FÓSFORO EN LA BIOSÍNTESIS DE ANTOCIANINAS Y CALIDAD EN HORTENSIA

1.1. RESUMEN

La tendencia mundial en producción de *Hydrangea macrophylla* está orientada a la diversidad en colores y forma de sépalos, adaptación climática o condiciones de cultivo, a fin de cumplir los estándares de calidad. La Intensidad y uniformidad del color, tamaño y forma de la inflorescencia, periodo de floración largo con cambios marcados de pigmentación son atributos de calidad deseables en hortensia de maceta. El color es uno de los factores de calidad altamente sensibles en hortensias, ya que se puede manipular a través de variaciones en el pH, con elementos como Al y P. Para determinar la influencia de la asimilación del Al y el P y algunos factores del microclima en la calidad y biosíntesis de antocianinas en *Hydrangea macrophylla* se estableció un diseño en parcelas divididas completamente al azar; 2 cultivares (TolA₁(azul), TolR₁ (rosa)), dos pH's (4.5, 6.0), dos estados de floración (Fresh, Antique) y 4 dosis de sulfato de aluminio (T0: 0 g L⁻¹, T1: 0.250 g L⁻¹, T2: 0.500 g L⁻¹ y T3: 1g L⁻¹) como factores. Las variables obtenidas fueron asimilación de CO₂, inicio, duración y estados de floración, color de floretes decorativos, perfil de antocianinas, contenido total de flavonoides y 5 rasgos de la inflorescencia. Se obtuvieron inflorescencias en la categoría "Select"(15-17 cm) con índice de esfericidad de 1.12, en colores violeta púrpura y verde amarillento para cultivar el cultivar TolA₁, y rojo púrpura y naranja grisáceo en el cultivar TolR₁ para estado fresh y antique respectivamente con un período de floración de 5 meses y dos fechas de inicio de floración (junio y agosto), donde una disminución de 1.1 °C y un incremento de 5.9% en la humedad relativa(HR) frenó la formación de botones florales en julio y cambió la relación área foliar·inflorescencia del 5% de las plantas. La duración de las etapas de floración dependió de la fecha de inicio de floración y presentó cambios marcados de pigmentación. La tasa más alta de asimilación de CO₂ se observó en TolR₁ estado Antique (9.65 μmol CO₂ m² s⁻¹). El contenido total de flavonoides fue dos veces mayor en TolR₁ (55.05 mgQE/g PF) que en TolA₁; y este último superó 4 veces a TolR₁ en contenido de delphinidina (380.09 mg/g).

Palabras clave: *Hydrangea macrophylla*, asimilación de CO₂, asimilación de Al, antocianinas, flavonoides, etapas de floración.

1.2. ABSTRACT

The worldwide trend in *Hydrangea macrophylla* production is oriented towards diversity in sepal colors and shape, climatic adaptation or growing conditions, in order to meet quality standards. Color uniformity and stability, inflorescence shape and size, long flowering period with marked pigmentation changes are desirable quality attributes in potted hydrangea. Color of hydrangea florets is highly sensitive to variations in pH and elements such as Al and P in the soil. To determine the influence of Al and P assimilation and some microclimate factors on the phenology, biosynthesis of anthocyanins and inflorescence quality in *Hydrangea macrophylla*, a completely randomly split plot design was established with two cultivars, two pH values, two flowering stages and 4 doses of aluminum sulfate as factors. The physiological variables obtained were assimilation of CO₂, blooming initiation and duration of flowering stages, anthocyanin profile and total flavonoid content and 5 inflorescence features; while florets color variation and its association to physiological variables and Al assimilation was estimated from image analysis with a classifier created with artificial neural networks (ANN). Inflorescences in “Select” size category (15-17 cm) were obtained, in violet purple and green yellowish colors in TolA₁, and red purple and orange grayish in TolR₁ for fresh and antique stages respectively. The flowering period was 5 months with two blooming beginning dates with changes in the formation of flower buds and the foliar area·inflorescence due to temperature and relative humidity changes. Blooming season was mainly influenced by cultivar. The highest assimilation of CO₂ was observed in antique stage in TolR₁ (9.65 μmol CO₂ m² s⁻¹). Total flavonoid content was twice as high in TolR₁ (55.05 mgQE/g FW) than in TolA₁; and TolA₁ exceeded 4 times TolR₁ in delphinidin content (380.09 mg STD/ DW).

Key words: *Hydrangea macrophylla*, assimilation of CO₂, assimilation of Al, anthocyanins, flavonoids, blooming stages.

1.3. INTRODUCCIÓN

La tendencia mundial en producción de *Hydrangea macrophylla* está orientada a la “personalización” con especificaciones que van desde el color y forma de sépalos hasta la adaptación a un microclima o contenedor específicos (Schroll, 2015, Gardeners’World Magazine, 2018). En hortensia de maceta la intensidad y homogeneidad del color en floretes, el tamaño y forma de la inflorescencia, la fecha de inicio y duración del período de floración y la presencia de cambios marcados de color en inflorescencias conforme avanza la madurez son atributos importantes al determinar calidad (Heritage hydrangeas, 2018).

El inicio y duración del período de floración dependen de la capacidad remontante de la especie o cultivar (Adkins *et al.*, 2003), la temperatura y el fotoperiodo (Nordli *et al.*, 2011, Eid *et al.*, 2016). La hortensia es una planta de clima templado, con temperaturas óptimas diurnas entre 18 y 20 °C; y nocturnas entre 11 y 15 °C. Bajo estas condiciones produce tallos largos, follaje vigoroso e inflorescencias grandes (Arredondo-Urrego *et al.*, 2017). Temperaturas altas aceleran el desarrollo de follaje y la floración (12.8 a 15.6 °C día/ 18.3 a 23.9 °C noche); pero sin son muy elevadas reducen la calidad de la planta; mientras que las temperaturas más frescas promueven colores más profundos en las inflorescencias (Richardson y Shoellhorn, 2005). Usualmente se cultiva bajo sombreado parcial (30 – 85%). Esta práctica permite reducir el efecto negativo de las altas temperaturas en el desarrollo del cultivo, disminuye la lámina de riego requerida, favorece la intensidad del color en las inflorescencias y reduce la incidencia de enfermedades ocasionadas por hongos (O’meara *et al.*, 2013, Mmbaga *et al.*, 2012). La forma de la inflorescencia es un factor hereditario (Uemachi y Okumura, 2012) y su tamaño obedece al tamaño del contenedor y prácticas culturales como podas y defoliación (Yeh y Chiang, 2001).

El color y su variación durante el período de floración en cultivares inestables depende de la biodisponibilidad del ion Al^{3+} y se controla con ajustes del valor de pH, adiciones de Al y regulación del P y K (Fulcher *et al.*, 2016). Valores de pH de 4.5 a 5.5 (Fulcher *et al.*, 2016), aplicaciones de $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$, baja concentración de P (2-5 ppm), alta de K (150-200 ppm) y regulación del pH con ácido sulfúrico se utilizan para obtener ejemplares azules (Whipker y Landis, 2017); y pH de 5.8 a 6.5 (Whipker y Landis, 2017; Kodama *et al.*, 2016) con aplicaciones de P (10-20 ppm) y tasas bajas de K (100-150 ppm) para tonos rosas (Whipker y Landis, 2017) con ácido fosfórico como regulador del pH.

La biodisponibilidad de Al y su concentración como ión Al^{3+} en las vacuolas de los sépalos determina no sólo la formación del color sino también su intensidad. Yoshida *et al.* (2003) encontraron una correlación directa entre saturación del color y el contenido de Al^{3+} en sépalos de hortensia con concentraciones mayores a 100 mg kg^{-1} en tonos azules y menores a 50 en ejemplares rojos.

En las vacuolas interaccionan los compuestos que pueden desarrollar todos los colores de sépalos reportados para *Hydrangea macrophylla*: 3-o-glucosildelfinidina como única y principal antocianina, y tres copigmentos; ácido 5-O-cafeoilquínico, ácido 5-O-p-cumarolquínico y ácido 3-O-cafeoilquínico; estos interaccionan en radios estequiométricos para cada clase de color asociados a iones metal y pH's específicos (Ito *et al.*, 2019). En hortensias azules, el Al^{3+} como complejo reacciona con las antocianinas residentes en las vacuolas para formar el "Complejo hortensia azul" que consiste de 3-o-glucosildelfinidina, Al^{3+} , y ácido 5-O-cafeoilquínico o ácido 5-O-p-cumarolquínico en radio 1:1:1 (Ito *et al.*, 2018); en ejemplares rosas al no estar el Al^{3+} presente en la concentración necesaria no se forma el complejo, no se produce el cambio batocrómico y por lo tanto el sépalo permanece del mismo color (Schreiber *et al.*, 2010). Si bien los pigmentos y

copigmentos que interfieren en la formación de color se han identificado por modelos químicos para algunos colores (Schreiber *et al.*, 2010) y observación por mapeo directo en tejidos de sépalos de hortensias azules (Ito *et al.*, 2019) aún se desconoce en que magnitud las aplicaciones de Al o el control de su biodisponibilidad interviene en la acumulación de antocianinas y su efecto en los cambios de color en muchos cultivares; así como el efecto de ese control en otras características de la planta importantes para su comercialización.

El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto del Al y el P, y algunos factores del microclima en la biosíntesis de antocianinas y calidad de la inflorescencia y comportamiento fisiológico y fenológico en *Hydrangea macrophylla*; así como obtener la dosis de sulfato de aluminio óptima por grupo de color para cada cultivar y evitar fitotoxicidad potencial a plantas vecinas. Las hipótesis fueron que bajo las condiciones de manejo nutrimental y microclima establecidos existe una combinación $\text{pH} \cdot \text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ que promueve mejor la calidad del color de las inflorescencias y que habrá un comportamiento diferenciado por factor en los criterios de calidad evaluados.

1.4. MATERIALES Y MÉTODOS

1.4.1 Establecimiento del experimento

El experimento se estableció en el Colegio de Posgraduados Campus Montecillo, Texcoco, Estado de México, México; localizado a 19° 29' LN y 98° 51' LO a 2250 m de altitud con clima C (W₀)(W)_b (i')_g (García, 1998), en el período mayo a octubre 2019. Las plantas de hortensia se obtuvieron en San Lorenzo Tlacotepec, Atlacomulco, Estado de México y se utilizaron 96 macetas por cultivar en diseño en parcelas divididas completamente al azar con el pH como parcela grande y los siguientes factores completamente al azar; 2 cultivares (TolA₁(azul), TolR₁(rosa)), dos estados de floración (Fresh, Antique) y 4 dosis de Al₂(SO₄)₃ (T0: 0 g L⁻¹, T1: 0.250 g L⁻¹, T2: 0.500 g L⁻¹ y T3: 1 g L⁻¹).

Las hortensias fueron cultivadas bajo condiciones de invernadero y sombreado (PAR 143 a 160 μmol·m⁻²·s; LI-6400 Sistema Portátil de fotosíntesis®), en macetas de 20 cm con sustrato alcalino (pH 6, mezcla tepojal/tierra negra/tierra de hoja; en proporción 1:1:2) y lámina de riego ± 400 mL/planta/día con la nutrición señalada en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Solución nutritiva Steiner y fuentes de fertilización usadas durante la fase experimental.

Fuente	Sol. Steiner meq/L	PE	g/1000 L			
			H ₂ O	50 (%)	35 (%)	25 (%)
Ca(NO ₃) ₂ 4H ₂ O	9	118	1062	477.9	334.53	238.95
KNO ₃	1	101	101	45.45	31.815	22.725
K ₂ SO ₄	5	87	435	195.75	137.025	97.875
KH ₂ PO ₄	1	136	136	61.2	42.84	30.6
NH ₄ SO ₄	2	37	74	33.3	23.31	16.65
Mg SO ₄ 7H ₂ O	4	123	492	221.4	154.98	110.7
Micros			40	36	25.2	18

Para ajustar el valor de pH se utilizaron ácido fosfórico (floración temprana) y ácido sulfúrico (floración tardía, cultivar rosa). A principio del experimento se mantuvo Solución Steiner al 25% (8 días), se incremento al 50% (32 días) y después se mantuvo al 35%.

1.4.2 Variables fisiológicas

1.4.2.1 Asimilación de CO₂ y respiración

Variabes como asimilación de CO₂, respiración, transpiración y radiación fotosintéticamente activa se midieron con un Sistema Portátil de fotosíntesis (LI-6400 ®, LI-COR, EE.UU.) de acuerdo al avance de la floración en tres fechas; 27 junio 2019 (Inicio de floración, hoja madura e inflorescencia en estado Fresh, 21 plantas), 19 de agosto (Floración, Inflorescencias en estado Fresh y Antique, 46 plantas) y 10 de octubre (Floración tardía, Inflorescencias en estado Fresh y Antique, 44 plantas).

1.4.2.2 Período de floración e inflorescencia

Se dió seguimiento a la floración registrando el inició y los días por etapa de floración siguiendo la clasificación de Kitamura *et al.* (2018) modificada. Se registró altura, grosor de tallo, diámetro polar (Dp) y ecuatorial (De) de inflorescencias(cm); y se calculó Índice de esfericidad ($E=(De \times Dp \times T)^{1/3} / De$, Loghavi *et al.*, 2011).

1.4.2.3 Color

Los criterios de calidad se agruparon en cuatro clases de color (rosa, azul, café, verde); creadas después de muestrear los colores aparentes de las inflorescencias de hortensia en dos estados de floración (Fresh y Antique). Superficie (%), Grupo de color dominante e Intensidad (Luminosidad (CIE·L) y Cromo (CIE·c)) se identificaron y analizaron con el uso de un clasificador de color con RNA de acuerdo a la metodología descrita en el segundo capítulo de este escrito y retomados para

analizar el efecto de la asimilación de P y Al en calidad del color únicamente en las clases de color dominantes por estado de floración.

1.4.2.4 Contenido total de flavonoides

La cuantificación del contenido total de flavonoides se realizó siguiendo el método modificado de Abu-Bakar *et al.* (2009). En un tubo de ensayo se colocaron 0.3 mL de extracto (0.250 g PF sépalos/10 mL agua desionizada) más 2.25 mL de agua desionizada, luego se agregaron 0.15 mL de NaNO₂ al 5% y se dejó en reposo por 6 min, después se agregaron 0.3 mL de AlCl₃·6H₂O y se dejaron reposar 5 min más; para finalmente agregar 1.0 mL de NaOH 1M. Se colocó papel parafilm en cada muestra, se agitaron durante un minuto, se protegieron de la degradación por luz con tela oscura y se leyó absorbancia a 510 nm en un espectrofotómetro (UV-visible serie Génesis 10). Se utilizaron soluciones de quercitina (QE) entre 53.29 y 532.9 (µg/mL) para construir la curva de calibración ($r^2=0.9886$) a 510 nm. La solución madre a partir de la cual se tomaron los volúmenes de la curva se realizó con 0.0073 gQE·10 mL de solución 50/50 de etanol al 99.90% y agua desionizada. Se eligió la quercitina sobre la rutina como estándar después de una prueba previa donde presentó mayor solubilidad; así como el agua desionizada como solvente del extracto. La obtención del extracto y el protocolo completo de cuantificación se realizaron el mismo día. Los resultados se reportaron como mg de equivalentes de quercitina en 1 g de materia fresca (mg QE/g). Para esta prueba se realizaron 3 repeticiones por tratamiento.

1.4.2.5 Perfil de antocianinas

El perfil de antocianinas se realizó mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) siguiendo el método modificado de Abdel_Aal *et al.* (2006). Por cada muestra en un frasco ámbar se pesó 0.500 g sépalos de hortensias (PS) y se agregó 5mL de metanol acidificado (1.0N HCL

85:15 V/V) (Abdel_Aal *et al.*, 2006). Para su análisis las muestras fueron filtradas y almacenadas a -4 °C por 4 días.

La cuantificación de antocianinas se realizó en un HPLC (Agilent Technologies Mod. 1100) con una columna Hypersyl ODS, 125 x 4 mm HP® y tamaño de partícula de 5 µm de diámetro, en un análisis de gradiente, usando como fase móvil: **Solución A** 90%, ácido fórmico: agua (10:90) y **Solución B** 10%, ácido fórmico: metanol: agua (10:40:50); con temperatura de 25 °C, un volumen de inyección de 10 µL, un flujo de 1.2 mL min⁻¹ y λ: 520 nm.

Como estándares químicos para las curvas de calibración se utilizaron cloruros de cianidina (1 mg/mL), malvidina (2 mg/mL), petunidina (1 mg/mL) y delphinidina (4 mg/mL); cuyos tiempos de retención y máximos de absorbancia fueron 11.81 min y 520 nm, 13.1 min y 544 nm, 13.44 min y 520 nm, 14.54 min y 535 nm, respectivamente. Los resultados se reportaron como µg de la antocianina en 50 µL (µg/50 µL). Se analizaron 46 muestras compuestas.

1.4.3 Variables ambientales

1.4.3.1 Temperatura y Humedad relativa

Se colectó información de humedad relativa (%) y temperatura (°C) cada 15 minutos durante el período de duración del experimento con un WatchDog A-Series Datalogger®.

Con los datos paramétricos obtenidos se realizó un ANOVA y comparación de medias con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) con el programa SAS versión 8.1 (SAS Institute Inc., 1999-2000) usando como diseño experimental un modelo factorial 2x2x2x4. Con los datos no paramétricos se realizó un análisis de frecuencia con un Test Binomial ($p \leq 0.05$) con el programa JASP versión 0.12.1 (JASP TEAM, 2020) BibTeX. Los resultados se muestran a continuación por variable evaluada por cultivar (ToI_{A1}, ToI_{R1}), estado de floración, pH (4.5, 6.0) y dosis de Al₂(SO₄)₃.

1.5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1.5.1 Asimilación de CO₂

La tasa de fotosíntesis, respiración, transpiración, contenido de vapor de agua y radiación fotosintéticamente activa se registraron y analizaron de acuerdo al avance de la floración para identificar aquellas que tuvieran algún efecto en la calidad de color o inflorescencias de *Hydrangea macrophylla*; en la Figura 1 se presentan los resultados obtenidos para la tasa de asimilación de CO₂.

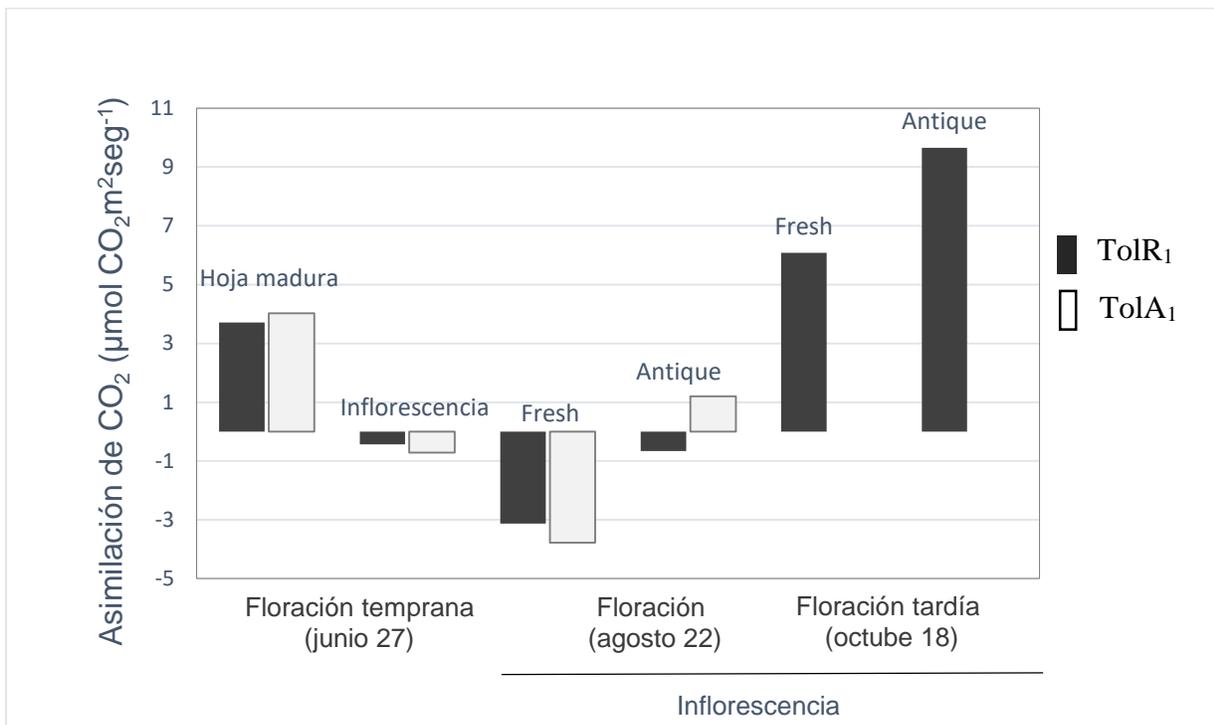


Figura 1. Comportamiento de la Tasa de asimilación de CO₂ en *Hydrangea macrophylla* durante la floración por cultivar, organo y estado de floración.

Al inicio de floración *Hydrangea macrophylla* muestra el comportamiento típico de plantas superiores donde las hojas maduras son la principal fuente de carbono con una tasa de fotosíntesis $3.87 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$; comparado con $-0.58 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ obtenido en inflorescencias en estado de floración Fresh. Cuando el mayor porcentaje de plantas se encuentran en floración (90%,

agosto) la tasa de fotosíntesis disminuye hasta -3.45 ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$) en estado Fresh; debido a que el proceso de expansión de floretes decorativos y la activación de la síntesis y acumulación de antocianinas por acción de la luz y el transporte de electrones fotosintéticos convierten a los órganos de la inflorescencia en sitios de gran demanda de fotoasimilados (Muñoz y Munné-Bosch, 2018); demanda que disminuye cuando alcanza el estado Antique; 0.27 ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$). Sin embargo, en octubre donde sólo fue posible observar inflorescencias en estados de floración avanzados (Fresh a Antique) en su mayoría del cultivar TolR₁ y presencia de defoliación natural (septiembre); se observaron los valores más altos de fotosíntesis en inflorescencias; 6.08 y 9.65 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ para estado Fresh y Antique respectivamente; Muñoz y Munné-Bosch (2018) sugieren un papel de la transición cloroplasto-cromoplasto en la activación de síntesis y acumulación de antocianinas que al iniciar la senescencia por acumulación de especies reactivas de oxígeno (ROS) y degradación de las antocianinas permiten reanudar la función de los cloroplastos en órganos florales; ya que como señalan Brazel y Ó'Maoléidigh (2019) en algunas especies órganos reproductivos incluyendo órganos florales individuales, son capaces de producir una cantidad significativa de fotoasimilados y de permanecer activos cuando las hojas empiezan a senescer o bien en condiciones de desarrollo subóptimo; lo que coincide con el hallazgo de Kitamura *et al.* (2018) quienes al someter a periodos de pulverización sépalos de hortensia en estado fresh y antique descubrieron que en estado Antique las venas del sépalo permanecían sin afectación, sugiriendo la existencia de un reforzamiento del tejido vascular; que Landa (2008) atribuye a la vía apoplasto de absorción del Al y a una mayor capacidad de unión a pectinas que el calcio en paredes celulares ocasionando su rigidización; estas adaptaciones son esenciales en especies como *Hydrangea macrophylla* que presentan dormancia invernal donde los

fotoasimilados producidos en la etapa final de floración serán necesarios para la formación en verano de yemas florales (Pagter y Williams, 2011).

1.5.2 Período de floración

Durante el periodo de experimentación se registró un rango de temperaturas de 18 a 20 °C, el periodo de floración fue de 5 meses para el TolR₁ (junio-octubre) y 4 meses para el TolA₁ (junio-septiembre) con dos fechas de inicio de floración (junio y agosto), la primera con duración de 90 días y la segunda de 71. La floración temprana estuvo conformada por 90% TolA₁ y 64% TolR₁ y la segunda o tardía por 13% cultivar TolA₁ y 30% de TolR₁. Como se observa en el Cuadro 2 donde se presentan los valores medios de temperatura y humedad relativa registrados así como las fechas de inicio de floración; en julio no se registró presencia de botones florales, comportamiento que coincidió con un descenso de temperatura (1.1 °C) un incremento de HR (5.9%); así como presencia en 5% de plantas de un incremento en superficie de hojas de pares superiores (Cuadro 2 Imagen). Ya que la temperatura es la señal ambiental más importante que marca el inicio de la floración (Nordi *et al.*, 2011) es posible que el efecto combinado de descenso de la temperatura e incremento de HR durante la floración haya frenado el flujo de fotosintatos a zonas generativas y lo haya redirigido a yemas vegetativas. Codarin *et al.* (2006) encontraron que la HR en *Hydrangea macrophylla* no afecta la iniciación o liberación de nuevos pares de hojas, pero sí el tamaño de la planta y el área foliar total con efecto en el desarrollo floral. Xie *et al.* (2019) señalan que el efecto del estrés por bajas temperaturas en el crecimiento y desarrollo de flores varía dependiendo de la especie, ubicación geográfica, grado y modo de stress y los mecanismos fisiológicos de resistencia se muestran en la respuesta fotosintética, regulación osmótica, eliminación de especies reactivas de oxígeno, cambios ultraestructurales en hojas, etc. Aunque en agosto-septiembre también se

presentó una disminución de T° y HR no favoreció el desarrollo vegetativo por que coincidió con el inicio de defoliación natural de la planta.

Cuadro 2. Fechas de inicio de floración por factor evaluado y valor medio de T° y HR e imagen del efecto de su variación en relación area foliar·tamaño de inflorescencia.

Cultivar	pH	Al ₂ (SO ₄) ₃	Inicio de Floración (%)				NF	Variable ambiental				
			jun		ago	sep		mes	T (°C)	T _{máx} (°C)	T _{mín} (°C)	HR (%)
			3-17	24	9-14	4						
TolA ₁	4.5	T0	90 _a	10 _a				jun	20.2	37.2	8.6	70.9
		T1	60 _d		16 _b		24 _a	jul	18.9	35.5	8.6	76.8
		T2	83 _b	7 _b		10 _a		ago	20.1	38.2	7.0	72.5
		T3	90 _a		2 _c		8 _b	sep	18.7	34.9	6.8	66.6
	6.0	T0	88 _a	12 _a								
		T1	80 _b		10 _b		10 _b					
		T2	70 _c	10 _a			20 _a					
		T3	77 _c		23 _a							
TolR ₁	4.5	T0	67 _a		25 _c		8 _a					
		T1	61 _b		39 _a							
		T2	67 _a		33 _b							
		T3	59 _c		25 _c	16 _a						
	6.0	T0	67 _a		25 _c		8 _a					
		T1	67 _a		33 _b							
		T2	55 _c		40 _a		5 _b					
		T3	67 _a		33 _b							



Medias con letras iguales no son estadísticamente diferentes (Tukey, 0.05). NF: Porcentaje de plantas que no presentaron floración. La imagen corresponde al cultivar azul·pH 6.0·Fresh·0.500 g L⁻¹.

En el cultivar TolA₁ a diferencia del tratamiento control donde el 100% de las plantas presentaron botones florales en junio sin diferencia significativa por pH, la adición de Al₂(SO₄)₃ bajo pH 4.5 retrasó 2 meses la floración de plantas para T1(16%) y T3(2%); con 24 y 8 % de plantas sin floración respectivamente, mientras que en T2 el 10% de las plantas presentó un retraso de 3 meses en iniciar floración y en el 100% de las plantas se presentó floración. Bajo pH 6.0 T2 no presentó retraso de floración, pero el 20% de las plantas no florecieron; mientras que T1 y T3 iniciaron floración con dos meses de retraso con el 10 y 23% respectivamente; pero sólo T1 presentó plantas

sin floración (10%). En el cultivar TolR₁ donde el tratamiento control presentó inicio de floración en junio y septiembre sin diferencia por pH y con 8% de plantas sin floración; la adición de Al₂(SO₄)₃ no modificó el inicio de floración con excepción de T3 bajo pH 4.5 y estimuló la inducción floral en todas las dosis reduciendo el número de plantas sin floración en todas las dosis con excepción de T2 bajo pH 6.0.

La aplicación de Al₂(SO₄)₃ tuvo un efecto diferenciado por cultivar; mientras que en TolA₁ indujo un retraso en inicio de floración y presencia de plantas sin flores; en el cultivar TolR₁ no afectó el inicio de la floración y estimuló la inducción floral reduciendo considerablemente el número de plantas sin flores. Ya que las interacciones que promovieron mayor número de inflorescencias por fecha de inicio de floración y menor número de plantas sin floración fueron T3·pH 4.5 para el cultivar TolA₁, y T1 sin diferencia de pH para el cultivar TolR₁; y a que se han reportado concentraciones de Al 20 o 40 veces mayores en sépalos de hortensias azules que en hortensias rosas (Schreiber *et al.*, 2011, Ito *et al.*, 2019) donde cultivares de la misma especie muestran concentraciones similares (Schreiber *et al.*, 2011) se sugiere que la interferencia del aluminio en la señalización ambiental en la respuesta a inducción floral y la magnitud del efecto dependen de la capacidad de absorción y acumulación de Al del genotipo y al déficit o exceso de Al que con respecto a esta capacidad haya en el medio de cultivo; lo que concuerda con Eid *et al.* (2015) quienes encontraron que en algunos cultivares de *Hydrangea macrophylla* aplicaciones mayores a 50 mg/l de Al₂(SO₄)₃ pueden inducir un decremento en el contenido de Clorofila a, b y carotenoides en hojas de hortensia, pero también inducir mayor concentración de antocianinas. Dado que *Hydrangea macrophylla* es una especie acumuladora facultativa de aluminio (Pollard *et al.*, 201) y se han reportado hasta 500 µg g⁻¹ Peso Fresco (PF) en sépalos azules (Schreiber *et al.*, 2011); y no existen reportes por fitotoxicidad por adiciones de Al₂(SO₄)₃ en la especie, el número

de plantas que no desarrollaron inflorescencias se atribuyó a un efecto del microclima y el genotipo.

1.5.2.1 Etapas de floración

No se presentó diferencia significativa por efecto de manejo nutrimental en días por estado de floración; esta obedeció a la fecha de inicio de floración inducida principalmente por la temperatura ambiental (Nordi *et al.*, 2011). Se observó diferencia significativa únicamente en dos etapas; Antique Inicial y Antique, donde el número de días en floración tardía (agosto) disminuyeron un 54% y 44% respectivamente comparados con floración temprana (junio) (Figura 1). La pigmentación de floretes decorativos en ambos cultivares ofreció 5 etapas de interés con cambios marcados de color con el avance de la floración con apariencia bicolor en floretes decorativos en las etapas Fresh Inicial y Antique Inicial; además de la presencia de inflorescencias con diferentes estados de floración en la misma planta.

20/17	14/14	17/16	23/13	30/20
Botón Floral De botón floral hasta apertura del 50% de floretes decorativos con pigmentación incipiente	Fresh Inicial Apertura >60% de floretes decorativos, pigmentación parcial y apertura incipiente de flores verdaderas (<30%)	Fresh Apertura y pigmentación >90% de floretes decorativos y apertura >40% de flores verdaderas	Antique Inicial Floretes decorativos con matiz verde o rojizo (<50%) y apertura mayor al 40% de flores verdaderas.	Antique Floretes decorativos con matiz verde o rojizo(>80%) y apertura mayor del 40% de flores verdaderas
TolA ₁ azul				
				
TolR ₁ rosa				
				

Figura 2. Etapas de floración en *Hydrangea macrophylla* con duración por inicio de floración e imagen ilustrativa de la apariencia de color por florete decorativo e inflorescencia.

1.5.3 Asimilación de Al y color

a) Cultivar TolA₁

Como se observa en el Cuadro 3 la superficie de floretes decorativos en TolA₁ estuvo cubierta en mayor porcentaje por la clase rosa en estado Fresh y por la clase verde en estado Antique. En la clase rosa se obtuvieron superficies medias de 87% y 79% para pH 4.5 y 6.0 respectivamente siendo T3 la dosis que promovió mayor superficie y mayor frecuencia del grupo de color dominante en ambos pH's. Las inflorescencias bajo el tratamiento control (T0: 0 g L⁻¹) presentaron

como grupo de color predominante al púrpura violeta en ambos pH's, atribuido al alto contenido de P en la solución nutritiva (KH_2PO_4 y H_3PO_4) en su forma divalente HPO_4^{-2} cuya absorción y transporte a las vacuolas de los sépalos favoreció concentración predominante de la delfinidina-3-glucosido en su forma más estable, el catión flavilio (AH^+) de color rojo intenso que contribuye con colores rojos y morados (Castañeda *et al.*, 2009, Yoshida *et al.*, 2003); concentración que fue modulada por la acumulación de Al en las vacuolas de los sépalos dependiente del pH. Bajo pH 4.5 donde la biodisponibilidad del Al^{3+} es mayor, la concentración del catión decrece observándose floretes decorativos en grupo de color **violeta** de mayor proximidad al azul nativo del cultivar; mientras que bajo pH 6.0 al disminuir la biodisponibilidad del Al el pH vacuolar disminuye, la concentración del catión flavilio aumenta (Castañeda *et al.*, 2009) hasta observar como grupo de color predominante al **rojo púrpura**. Este comportamiento se observó también en Estado Antique, donde al tener el pigmento una mayor degradación natural cercana a la senescencia de la inflorescencia coexisten formas de la antocianina más inestables y el cambio del grupo de color dependió de la biodisponibilidad del aluminio, bajo pH 4.5 el grupo de color predominante cambió de verde amarillento al marrón grisáceo y bajo pH 6.0 del verde grisáceo al verde amarillento.

En estado Antique la superficie presentó una media en la clase verde de 78% para pH 4.5 y 74% para pH 6.0; con T0 como las dosis de $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ que promovió mayor superficie y mayor frecuencia del grupo de color dominante para pH 4.5 y T2 para pH 6.0.

Los valores de Luminosidad y Croma que determinan la Intensidad del color en floretes decorativos de hortensias no se modificaron por aplicación de $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ ni manejo de pH; pero cambian dentro del mismo florete por la presencia de diferentes clase de color y sus grupos de color dominantes correspondientes; los valores medios de Luminosidad y Croma fueron 83 y 34

bajo pH 4.5 y de 81 y 35 para pH 6.0 para clase rosa en Estado Fresh; para la clase verde en Estado Antique fueron respectivamente 75 y 46 para pH 4.5; y 73 y 46 para pH 6.0.

Estos resultados concuerdan con lo reportado por Schreiber *et al.*, (2011b) quienes señalan que los sépalos de un cultivar en particular muestran la misma intensidad del color o bien contenido de antocianinas a pesar de tener inflorescencias rojas, moradas o azules; donde existe una relación directa entre el valor de Intensidad y el Contenido de antocianinas en los sépalos; la que está en función de un umbral de contenido de aluminio dependiente del genotipo (Schreiber *et al.*, (2011); por lo tanto al tratarse de un mismo cultivar el rango de valores de intensidad obtenidos fue consecuencia de la baja disponibilidad de Al debida a las fuentes de P presentes en el medio.

Cuadro 3. Indicadores de calidad del color en floretes decorativos de hortensia en Tola₁ y su variación por asimilación de Al

pH	Edo	Superficie(%)		Grupo de color dominante				CIE·L (\bar{x})		CIE·c (\bar{x})		
		Al ₂ (SO ₄) ₃	rosa verde	rosa	F(%)	verde	F(%)	rosa	verde	rosa	verde	
4.5	Fresh	T0	86b	PV	56b			89a		34b		
		T1	86b	PV	44c			80b		32b		
		T2	91a	PV,P	33c			76b		32b		
		T3	87b	PV	89a			86a		38a		
	Antique	T0		84a			YG	67a		68c		41b
		T1		82a			YG	56b		75b	3	39b
		T2		68c			YG	67a		85a		74a
		T3		76b			GB	56b		70c		30b
6.0	Fresh	T0	86a	PV	44c			69b		32c		
		T1	66c	PV	89a			82a		35b		
		T2	79b	PV	67b			89a		38a		
		T3	84a	RP	56b			86a		36b		
	Antique	T0		62c			GG	44b		75b		28b
		T1		71b			YG	56b		82a		62a
		T2		100a			YG	100a		69c		63a
		T3		63c			YG	44b		64c		32b

Medias con letras iguales no son estadísticamente diferentes (Tukey, 0.05). Grupos de color (GC): OR: rojo anaranjado, R: rojo, RP: rojo púrpura, P: púrpura, PV: Violeta púrpura, V: violeta, VB: azul violáceo, YG: verde amarillento, GO: naranja grisáceo, GR: rojo grisáceo, GP:púrpura grisáceo, GG: verde grisáceo GB: marrón grisáceo, B: Marrón, G: gris.

b) Cultivar TolR₁

a. Floración temprana

Como se observa en el Cuadro 4 la superficie de floretes decorativos en estado Fresh estuvo cubierta únicamente por la clase rosa con una media de 98% sin presentar diferencia significativa por dosis de Al₂(SO₄)₃ o pH; y en estado Antique, la clase café con una media de 77% fue la clase dominante; donde T2 y T0 para pH 4.5 y T0 y T3 para pH 6.0, en estado Fresh y Antique respectivamente fueron las dosis que promovieron mayor superficie y frecuencia del grupo de color dominante. A diferencia del cultivar TolA₁ donde se presentaron cambios en los grupos de color dependientes de la biodisponibilidad del Al y su efecto en la concentración del catión flavilio; en TolR₁ las dosis aplicadas de Al₂(SO₄)₃ solamente modificaron los grupos de color en estado Antique bajo pH 6.0 donde la disminución de la biodisponibilidad del aluminio se manifestó en el cambio de marrón grisáceo a naranja grisáceo; promovido por una mayor acumulación de P y su efecto en disminución del pH vacuolar y el cambio de forma del pigmento; mientras que en estado Fresh sin diferencia por pH y en estado Antique bajo pH 4.5 los grupos dominantes Rojo púrpura y naranja grisáceo respectivamente permanecieron sin cambios. Este comportamiento sugiere que en el cultivar rosa la acumulación de P en las vacuolas de los sépalos favorecida por la nutrición y el genotipo promovieron un umbral de concentración del catión flavilio cuya estabilidad no fue modificada por las dosis de Al₂(SO₄)₃ administradas; pero disminuyó ligeramente con la degradación natural del pigmento por inicio de senescencia de la inflorescencia. Los valores medios de Cromo y Luminosidad fueron 63 y 70 bajo pH 4.5 y 61 y 72 bajo pH 6.0 para la clase rosa en Estado Fresh y para la clase café en estado Antique fueron respectivamente 54 y 37 bajo pH 4.5; y 57 y 41 para pH 6.0 sin presentar cambios con diferencia significativa por valor de pH o dosis de Al₂(SO₄)₃.

Cuadro 4. Indicadores de calidad del color en floretes decorativos de hortensia de TolR₁ de floración temprana y su variación por asimilación de Al

pH	Edo	Al ₂ (SO ₄) ₃	Superficie(%)		Grupo de color dominante			CIE·L(\bar{x})		CIE·c(\bar{x})		
			rosa	café	rosa	F(%)	café	F(%)	rosa	café	rosa	café
4.5	Fresh	T0	98a		RP	78b			63a		69b	
		T1	98a		RP	67c			63a		66b	
		T2	97a		RP	100a			63a		74a	
		T3	98a		RP	78b			62a		70a	
	Antique	T0		84a			GO	67c		59a		45a
		T1		84a			GO	100a		50b		33b
		T2		86a			GO	78b		49b		33b
		T3		61b			GO	67c		57a		36b
6.0	Fresh	T0	99a		RP	100a			59b		71b	
		T1	98a		RP	100a			62a		78a	
		T2	98a		RP	100a			62a		75a	
		T3	99a		RP	67b			63a		66c	
	Antique	T0		59d			GB	67b		62a		45a
		T1		77b			GO	78a		53b		37b
		T2		64c			GO	50c		60a		39b
		T3		98a			GO	78a		54b		44a

Medias con letras iguales no son estadísticamente diferentes (Tukey, 0.05). Grupos de color (GC): OR: rojo anaranjado, R: rojo, RP: rojo púrpura, P: púrpura, PV: Violeta púrpura, V: violeta, VB: azul violáceo, YG: verde amarillento, GO: naranja grisáceo, GR: rojo grisáceo, GP: púrpura grisáceo, GG: verde grisáceo GB: marrón grisáceo, B: Marrón, G: gris.

b. Floración tardía

Como se muestra en el Cuadro 5, la clase rosa cubrió mayor superficie del florete en estado Fresh con 96% bajo pH 4.5 y 73% bajo pH 6.0 mientras que en estado Antique bajo pH 4.5 la clase dominante fue la verde con 62% y bajo pH 6.0 la clase café con 69%. Las dosis de Al₂(SO₄)₃ que promovieron mayor superficie cubierta por clase y mayor frecuencia del grupo de color dominante fueron; para la clase rosa fueron T3 para pH 4.5 y T1 para pH 6.0 en estado Fresh; y en estado Antique en la clase verde bajo pH 4.5; T0; y T1 bajo pH 6.0 para la clase café. A diferencia de floración temprana, en floración tardía la fuente de acidificación de la Solución Steiner se cambió de ácido fosfórico a ácido sulfúrico, incrementando la concentración de Al³⁺ disponible para las

plantas y disminuyendo la biodisponibilidad del P; bajo pH 4.5 donde la biodisponibilidad de Al^{3+} es mayor, la concentración del catión flavilio aumenta al cambiar de púrpura grisáceo a rojo púrpura con la aplicación de $Al_2(SO_4)_3$; mientras que bajo pH 6.0 con el decremento en la biodisponibilidad de Al^{3+} el color rojo púrpura se degrada a púrpura grisáceo y en estado antique no se observó influencia directa de la aplicación de $Al_2(SO_4)_3$ en los cambios de grupos de color dominantes con el marrón grisáceo y naranja grisáceo para pH 4.5 y pH 6.0 respectivamente; sin embargo el grupo de color gris anaranjado más cercano a tonos rojizos sugiere mayor concentración del catión flavilio debida a mayor disponibilidad de Al^{3+} . Ya que la biodisponibilidad de Al^{3+} y su concentración en las vacuolas de los sépalos produce un decremento y no un aumento en la concentración del catión flavilio y la migración de rojo intenso a colores morados o azules con el cambio a base quinoidal (Castañeda *et al.*, 2009) este comportamiento se atribuyó a un cambio en el patrón de distribución del Al^{3+} en los órganos de la hortensia al acercarse la senescencia de la planta donde disminuye su transporte y acumulación a inflorescencias; lo que concuerda con Yoshida *et al.*, (2003) quienes encontraron que en sépalos rojos el nivel de Al se mantiene en el mismo nivel en la madurez de la inflorescencia.

Cuadro 5. Indicadores de calidad del color en floretes decorativos de hortensia cultivar TolR₁ floración tardía y su variación por asimilación de Al

pH	Edo	Al	Superficie(%)			Grupo de color dominante (F)				CIE-L(\bar{x})			CIE-c(\bar{x})				
			rosa	café	verde	rosa (%)	café (%)	verde (%)	rosa	café	verde	rosa	café	verde			
4.5	F	T0	93b			GP	56				65a			60b			
		T1	100a			RP	56				66a			58c			
		T2	90b			RP	56				66a			63a			
		T3	100a			RP	78				67a			60b			
	A	T0			73a				GB	67				57b		42b	
		T1			72a				YG	56				55b		41b	
		T2			64b				GB	89				56b		36c	
		T3			37c				GB	8				60a		47a	
		6.0	F	T0	94a			RP	56				66a			60a	
				T1	89			GP	78				65a			55b	
T2	61b					GP	78				66a			55b			
T3	50c					GP	78				65a			55b			
A	T0			79b					GO	67				63a		39b	
	T1			92a					GO	89				58b		33c	
	T2		46d					GB	67				57b		42a		
	T3		58c					GO	67				56b		38b		

Medias con letras iguales no son estadísticamente diferentes (Tukey, 0.05). Edo: Estado Fenológico F: Fresh, A: Antique. Al: Dosis de Al₂(SO₄)₃. Grupos de color (GC): OR: rojo anaranjado, R: rojo, RP: rojo púrpura, P: púrpura, PV: Violeta púrpura, V: violeta, VB: azul violáceo, YG: verde amarillento, GO: naranja grisáceo, GR: rojo grisáceo, GP: púrpura grisáceo, GG: verde grisáceo GB: marrón grisáceo, B: Marrón, G: gris. Edo; Estado, F: Fresh, A: Antique.

1.5.4 Contenido total de flavonoides

Los flavonoides y sus compuestos de clase de color, las antocianinas, son los principales contribuyentes al color de las flores (Tanaka *et al.*, 2010). En *Hydrangea macrophylla* se ha cuantificado el contenido de flavonoides en semillas, hojas y flores con variación en sus concentraciones. En el presente estudio el contenido total de flavonoides presentó diferencia significativa por cultivar con concentración dos veces mayor en TolR₁ que en TolA₁; con media de 55.05 y 27.17 mgQE/g sépalo PF, respectivamente. También se observó un mayor contenido en inflorescencias rosas con floración tardía (60.23 mg/g QE).

Como se muestra en el Cuadro 6 conforme incrementa el pH se presenta mayor variación en contenido de flavonoides por cultivar y estado de floración; hortensias cultivadas con Solución Steiner a pH 4.5 presentan diferencia significativa por estado de floración con decremento en la etapa antique únicamente en el cultivar rosa; mientras que las hortensias cultivadas bajo pH 6.0 presentaron diferencia significativa por etapa de floración con cambios en la etapa antique; TolA₁ con incremento del 27% y TolR₁ con decremento del 51%.

Cuadro 6. Contenido total de flavonoides en *Hydrangea macrophylla* por cultivar, pH y estado de floración expresados en mg QE/g sépalo PS.

pH	Edo	Al ₂ (SO ₄) ₃	Contenido (mgQE/g PF)		
			TolA ₁	TolR ₁	TolR ₁ *
4.5	Fresh	T0	39.0 a	78.2 a	56.4 b
		T1	17.1 c	59.9 b	70.4 a
		T2	21.4 c	54.2 b	53.3 c
		T3	27.6 b	45.8 c	60.8 b
	Antique	T0	32.3 a	24.8 c	31.3 c
		T1	29.6 a	47.3 a	46.5 b
		T2	21.1 b	24.1 c	59.6 a
		T3	23.2 b	33.6 b	59.9 a
6	Fresh	T0	26.5 b	64.6 c	62.4 b
		T1	31.2 a	101.4 a	54.2 c
		T2	23.6 c	80.3 b	49.1 d
		T3	24.5 c	88.5 b	73.4 a
	Antique	T0	21.7 b	37.0 b	63.1 a
		T1	35.3 a	22.9 d	64.9 a
		T2	20.4 b	43.0 a	54.2 b
		T3	33.4 a	31.6 c	46.8 c

Medias con letras iguales no son estadísticamente diferentes (Tukey, 0.05); la comparación se presenta en columnas por dosis de Al₂(SO₄)₃ por cultivar y pH. QE: Quercitina. notación para TolR₁: floración temprana, TolR₁*: floración tardía.

La adición de $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ provocó mayor contenido de flavonoides a concentraciones bajas principalmente. En el cultivar TolA₁ TO bajo pH 4.5 y T1 bajo pH 6.0 fueron las dosis que promovieron mayor concentración de flavonoides totales en ambos estados de floración.

En el cultivar TolR₁ en pH 4.5; T0 y T1 y para pH 6.0; T1 y T2 promovieron mayor contenido de flavonoides totales para los estados de floración Fresh y Antique respectivamente; mientras que para hortensias de TolR₁* cultivadas con Solución Steiner con pH 4.5 el mayor contenido del flavonoides se atribuyó a T1 y T2 y T3 en estado Fresh y Antique respectivamente; y bajo pH 6.0 en estado Fresh el contenido más alto de flavonoides se alcanzó con la dosis más alta (1 g L⁻¹) y en el estado Antique a las dosis más bajas (0 g L⁻¹, 0.250 g L⁻¹).

1.5.5 Perfil de antocianinas

Si bien en *Hydrangea macrophylla* todos los sépalos con color contienen la misma antocianina; delphinidina 3-glucosido (Yoshida *et al.*, 2003); como se muestra en el Cuadro 7 en el presente trabajo se identificaron cuatro antocianinas: cianidina, petunidina, malvidina y delphinidina; para observar el comportamiento de dichos pigmentos con los factores evaluados. De las cuatro antocianinas evaluadas, en Cianidina se obtuvo la concentración más baja con una media de 0.004 mg ST/g sépalos PS sin diferencia significativa por cultivar, estado de floración ni pH; con excepción del efecto por dosis de $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ donde se obtuvieron las concentraciones más altas; 0.013 y 0.006 mg STD/g PS para TolA₁ (T1) y TolR₁ (T3) respectivamente. El contenido de petunidina fue casi el doble en TolA₁ que en TolR₁, con mayor concentración en pH 4,5 y estado de floración Fresh; mientras que el efecto de dosis de $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ en el cultivar TolA₁ fue mayor en T2 y en el cultivar TolR₁ no presentó diferencia significativa. El contenido de malvidina presentó diferencia significativa por cultivar, estado de floración y dosis de $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$; en sépalos de TolR₁

fue hasta 6 veces mayor que en TolA₁; hasta 5 veces mayor en estado Fresh que en Antique y por efecto de dosis de Al₂(SO₄)₃ en TolA₁ se obtuvo la mayor concentración con las dosis T1 y T2 y en TolR₁ con las dosis T1 y T3.

Cuadro 7. Contenido de antocianinas en floretes sépalos de *Hydrangea macrophylla* por cultivar, pH, estado de floración y dosis de Al₂(SO₄)₃ expresado en mg de STD/ g sépalo PS .

Factor		Contenido (mg STD/g sépalo PS)			
		Cianidina	Petunidina	Malvidina	Delfinidina
Cultivar	TolA ₁	0.005 a	0.021 a	9.33 c	380.09 a
	TolR ₁	0.002 a	0.013 b	71.21 a	97.64 b
	TolR ₁ *	0.004 a	0.013 b	26.26 b	0.56 c
pH	4.5	0.004 a	0.018 a	25.82 a	378.13 a
	6	0.003 a	0.013 b	32.30 a	67.89 b
Edo	Fresh	0.004 a	0.019 a	40.90 a	416.39 a
	Antique	0.003 a	0.012 b	8.60 b	116.76 b
TolA ₁	T0	0.002 b	0.006 b	1.38 b	
	T1	0.013 a	0.008 b	16.01 a	
	T2	0.004 b	0.042 a	11.04 a	1156.89 a
	T3	0.004 b	0.014 b	0.05 b	121.16 b
TolR ₁	T0	0.001 b	0.013 a	32.95 b	97.64 a
	T1	0.002 b	0.011 a	73.54 a	0.56 b
	T2	0.002 b	0.014 a	23.21 b	
	T3	0.006 a	0.011 a	68.58 a	

Medias con letras iguales no son estadísticamente diferentes (Tukey, 0.05); la comparación se presenta en columnas por dosis de Al₂(SO₄)₃ por cultivar y pH. QE: Quercitina. TolR₁: floración temprana, TolR₁*: floración tardía.

A diferencia de la cuantificación de flavonoides totales donde el cultivar TolR₁ presentó concentraciones medias 2 veces mayores a TolA₁ y la diferencia por efecto de pH no fué tan marcada; la concentración de delfinidina en TolA₁, con 380.09 mg/ g superó 4 veces la de TolR₁,

el valor de pH 4.5 donde existe mayor biodisponibilidad de Al se obtuvo una media casi 6 veces mayor de delphinidina que en pH 6.0 y su concentración en etapa Antique bajó casi 4 veces a comparación con Fresh; lo que concuerda con Schreiber *et al.* (2011_b) quienes encontraron que el contenido de delphinidina incrementa rápidamente conforme se acerca el pico de floración y después disminuye; y que la biodisponibilidad del Al incrementa la Intensidad del color dentro de rangos dependientes del cultivar pues el contenido de antocianinas en el mismo cultivar es similar independientemente de si los sépalos son rojos, morados o azules; resultados similares a Ito *et al.*, (2019) quienes reportaron 0.48 y 0.50 (mg/g PF) de delphinidina-3-glucosido en sépalos azules y rojos respectivamente, de *Hydrangea macrophylla* cv. Narumi. En el presente estudio en el cultivar TolA₁ las dosis más altas de Al₂(SO₄)₃ incrementaron el contenido de delphinidina mientras que en TolR₁ lo hacen las dosis más bajas.

1.5.6 Características de la inflorescencia

Se obtuvieron inflorescencias ligeramente oblongas con un índice de esfericidad de 1.12, 9.81 cm de altura, 17 cm de, 15.33 cm Dp, espesor de tallo de 0.76 cm variables que no presentaron diferencia por cultivar, pH, estado de floración o dosis de Al₂(SO₄)₃. El tamaño obtenido corresponde al grado “Select” (15-17 cm) para hortensia de corte en mercados europeos, donde ± 18 cm es el tamaño de mayor demanda de acuerdo con el CBI del Ministerio de Asuntos Exteriores Neerlandés (2016).

1.6. CONCLUSIONES

La asimilación de CO₂ más alta se observó en cultivar TolR₁ de floración tardía asociada a procesos fisiológicos previos a la dormancia invernal; la cual es modulada por el microclima (T°). El periodo de floración se vió afectado por la T°, HR y la dosis de Al₂(SO₄)₃. Una disminución de 1.1 °C y de 5.9% en HR interrumpió la producción de botones florales en julio y cambio la relación tamaño de inflorescencia·área foliar en 5% de las plantas. La aplicación de sulfato de aluminio en TolA₁ incrementó a 3 las fechas con presencia de botones florales mientras que en TolR₁ no se presentó modificación con excepción del T3 pH 4.5 pero estimuló el desarrollo de botones florales al disminuir el número de plantas sin floración. La duración de los estados de floración dependió de las fechas de inicio de floración y presentaron cambios de pigmentación marcada. El color obtenido en las inflorescencias dependió en primera instancia de la diferencia en biodisponibilidad P·Al que influye en la forma de antocianina presente en el medio vacuolar y conforme avanza la floración el microclima modula su estabilidad y degradación. El contenido total de flavonoides fue dos veces mayor en TolR₁ y alcanzó su valor máximo en floración tardía y su concentración es más alta y estable en pH ácido. La adición de Al₂(SO₄)₃ promovió mayor contenido de flavonoides a concentraciones bajas para ambos cultivares. La delphinidina y petunidina tienen un comportamiento similar en *Hydrangea macrophylla* con mayor concentración en TolA₁·pH 4.5·estado Fresh.

Las interacciones que promovieron mayor calidad por color en las inflorescencias para TolA₁ fueron; T3 en estado Fresh con los grupos de color PV (pH 4.5) y RP (pH 6.0), en estado Antique T0 (pH 4.5) y T2 (pH 6.0) ambos con YG como color dominante. Para TolR₁ de floración temprana bajo pH 4.5 en floración temprana T2 en estado Fresh con RP como grupo de color dominante y T1 en estado Antique con el grupo de color naranja grisáceo como dominante; bajo pH 6.0; T0 y

T3 para estado Fresh y Antique respectivamente y degradación de los grupos de color RP a GO. En floración tardía bajo pH 4.5 T3 y TO, con RP y GB en estado Fresh y Antique respectivamente y bajo pH 6.0 T1 en ambos estados de floración con GP y GO como grupos dominantes. Los atributos de la inflorescencia: altura, espesor de tallo, Dp, De e Índice de esfericidad en *Hydrangea macrophylla* no se vieron afectados por el microclima ni los factores evaluados. Las condiciones de nutrición y microclima indujeron mayor calidad en el cultivar TolR₁ que en TolA₁

1.7. REFERENCIAS

- Abdel-Aal E-SM, Young JC. and I. Rabalski (2006).** Anthocyanin composition in black, blue, pink, purple, and red cereal grains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54: 4696-4704.
- Abu-Bakar, M., Mohamed, M., Rahmat, A., and J. Fry (2009).** Phytochemicals and antioxidant activity of different parts of bambangan (*Mangifera pajang*) and tarap (*Artocarpus odoratissimus*). *Food Chemistry* 113: 479–483.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.07.08>
- Adkins, J.A and M. Dirr (2003)** Remontant flowering potential of ten *Hydrangea macrophylla* (Thunb.) Ser.cultivars. *HortScience*. 38: 1337-1340.
- Arredondo-Urrego, J., Mejía-Restrepo, L., Jarillo, Gil, W., Osorio-Soto, G., Vásquez-Martínez, J., Villa-Castro, J., and J. Restrepo-Ospina, J (2017).** Manual del cultivo de hortensias de exportación bajo buenas prácticas agrícolas.
<http://sipco.ica.gov.co:8080/myspace/> (5 agosto 2018)
- Brazel, A. J., and D.S.O. Maoiléidigh (2019)** Photosynthetic activity of reproductive organs. *Journal of Experimental Botany*, 70: 1737-1754, doi:10.1093/jxb/erz033.
- Castañeda-Ovando, A., Pacheco-Hernández, M., Páez-Hernández, M., Rodríguez, J., and Galán-Vidal, C. (2009).** Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry*, 113:859–871. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.001>

CBI, Centre of promotion of import from developing countries (2016). European buyer requirement for Hortensia. Netherlands Ministry of Foreign Affairs, Netherlands. <http://www.cbi.eu/> (12 de agosto 2019).

Codarin, S., and G. Galopin (2006). Effect of air humidity on the growth and morphology of *Hydrangea macrophylla* L. *Scientia Horticulturae*, 108:303–309. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2006.01.036>

Eid G.M., Albatal N and S. Haddad (2015). Effect of aluminum sulfate on the chlorophyll a, chlorophyll b, carotenoids and anthocyanin content in some cultivars of hydrangea (*Hydrangea macrophylla*), *International Journal of Horticulture*, 5: 1-8 (doi: 10.5376/ijh.2015.05.0009)

Eid G.M., Albatal N., and S. Haddad (2016). Effect of photoperiod on the flowering of some cultivars of Hydrangea (*Hydrangea macrophylla*), *International Journal of Horticulture*, 6:1-7, doi: 10.5376/ijh.2016.06.0009.

Fulcher, A., Owen, J., and A. LeBude (2016). Hydrangea production: Species-specific production guide. Technical report. University of Tennessee Institute of Agriculture and University of Tennessee. Report number:1840-B: 12 pp. <https://extension.tennessee.edu/publications/Documents/PB1840-B.pdf>

García, E. (1998) Modificaciones al sistema de clasificaion climática de Koppen 4ª Edición. Instituto de Geografía. U.N.A.M. México, D.F. 245 pp.

Gardeners' world magazine (2018). Nine of the best hydrangeas to grow
<https://www.gardenersworld.com/plants/nine-of-the-best-hydrangeas-to-grow/> (12 enero
2020)

Heritage hydrangeas. 2018. Great plant picks: Awards. Award winning collection.
<https://www.heritagehydrangeas.com/awards/> (13 de agosto 2019).

Ito, T., Aoki, D., Fukushima, K., and K. Yoshida (2019). Direct mapping of hydrangea blue
complex in sepal tissues of *Hydrangea macrophylla*. *Scientific Reports*. 3:1–9.
<https://doi.org/10.1038/s41598-019-41968-7>

Kitamura, Y., Ueno, S., Aizawa, H., and W. Teoh (2018). Differences in vase lives of cut
hydrangea flowers harvested at different developmental stages. *The Horticultural Journal*.
87: 274–280. <https://doi.org/10.2503/hortj.OKD-111>

Kodama, M., Tanabe, Y., and M. Nakayama, M (2016) Analyses of coloration-related
components in hydrangea sepals causing color variability according to soil conditions.
Horticulture Journal. 85: 372–379. doi: 10.2503/hortj.MI-131

Loghavi M, Sourì S and F. Khorsandi (2011) Physical and mechanical properties of almond
(*Prunus dulcis l. cv. 7 Shahrood*). Annual International Meeting ASABE 2011, Louisville,
Kentucky. DOI: 10.13031/2013.37425

Mmbaga, MT., Kim, MS., MacKasmìel, L., and Y. Li 2012. Evaluation of *Hydrangea*
macrophylla for resistance to leaf-spot diseases. *Journal of Phytopathology*, 160: 88–97.
<https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2011.01862.x>

- Muñoz, P., and S. Munné-Bosch (2018).** Photo-oxidative stress during leaf, flower and fruit development. *Plant Physiology*, 176: 1004–1014. <https://doi.org/10.1104/pp.17.01127>
- Nordli, F. E., Strøm, M., and S. Torre (2011).** Temperature and photoperiod control of morphology and flowering time in two greenhouse grown *Hydrangea macrophylla* cultivars. *Scientia Horticulturae*, 127: 372–377. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2010.09.019>.
- O’Meara, L., Van Iersel, MW., and MR. Chappel (2013).** Modeling daily water use of *Hydrangea macrophylla* and *Gardenia jasminoides* as affected by environmental conditions. *HortScience*, 48:1040–1046.
- Pagter, M., Lefèvre, I., Arora, R., and J. Hausman (2011).** Quantitative and qualitative changes in carbohydrates associated with spring deacclimation in contrasting *Hydrangea* species. *Environmental and Experimental Botany*, 72:358–367. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2011.02.019>
- Pollard, AJ., Reeves, RD. and AJ., Baker (2013)** Facultative hyperaccumulation of heavy metals and metalloids. *Plant Science: an International Journal of Experimental Plant Biology*, 22: 8–17.
- Richardson, AA., and R. Shoellhorn. 2005.** Warm climate production guidelines for japanese hydrangeas. Univeristy of Florida. IAS Extension, pp 1–4.
- Schreiber, HD., Swink, AM., and TD. Godsey (2010).** The chemical mechanism for Al³⁺ complexing with delphinidin: A model for the bluing of hydrangea sepals. *Journal of Inorganic Biochemistry*. 104: 732–739. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2010.03.006>

- Schreiber, H. D., Jones, A. H., Lariviere, C. M., Mayhew, K. M., and J.B. Cain (2011).** Role of aluminum in red-to-blue color changes in *Hydrangea macrophylla* sepals. *Biometals*, 24, 1005–1015. <https://doi.org/10.1007/s10534-011-9458-x>
- Schreiber, H. D., Wade, S. E., Mayhew, K. M., and J.A. Cobb (2011).** Characterization of *Hydrangea macrophylla* cultivars by the anthocyanin content in their sepals. *Journal of Environmental Horticulture*, 29: 131–136.
- Schroll, S. (2015)** Hydrangea market finally develop in a more quality oriented direction. Floraldaily: global flower news. <https://www.floraldaily.com/article/9001794/hydrangea-market-finally-develops-in-a-more-quality-oriented-direction/> (28 de marzo 2019)
- Tanaka, Y., Brugliera, F., Kalc, G., Senior, M., Dyson, B., Nakamura, N., Chandler, S. (2010).** Flower color modification by engineering of the flavonoid biosynthetic pathway : practical perspectives. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry Journal*, 74:1760–1769. <https://doi.org/10.1271/bbb.100358>
- Uemachi, T., and A. Okumura (2012).** The inheritance of inflorescence types in *Hydrangea macrophylla*. *Japanese Society for Horticultural Science*, 81:263–268.
- Yeh, D., and H. Chiang, H. (2001).** Growth and flower initiation in hydrangea as affected by root restriction and defoliation. *Scientia Horticulturae*, 91: 123–132. [https://doi.org/10.1016/S0304-4238\(01\)00238-2](https://doi.org/10.1016/S0304-4238(01)00238-2)

Yoshida, K., Toyama-kato, Y., Kameda, K., and T. Kondo (2003). Sepal color variation of *Hydrangea macrophylla* and vacuolar pH measured with a proton-selective microelectrode. *Plant Cell Physiology*. 44: 262–268.

Xie, P., Yang, S., and Q. Xiaoli (2020). Research status and countermeasures on cold resistance and photosynthetic physiological response of flowers. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 446(032050). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/446/3/032050>

Whipker, B., Henry, J., and H. Landis (2017) Hydrangea Nutrition: Upper Leaf Tip Necrosis - Water Stress or Calcium ?. *E-Grow Alert*, 6:1–5.

CAPÍTULO 2. ALUMINIO, PH Y ESTADO FENOLÓGICO EN LA COLORACIÓN DE FLORETES DE (*Hydrangea macrophylla*) MEDIDA CON ANÁLISIS DE IMÁGENES

2.1 RESUMEN

El color en floretes de *Hydrangea macrophylla* es sensible al pH y contenido de elementos como el Al y el P del suelo; y su variación temporal y espacial puede ser determinada mediante análisis de imágenes que permita generar variables de calidad de color útiles en su producción comercial así como su asociación a procesos fisiológicos. El objetivo de esta investigación fue evaluar, mediante análisis de imágenes, la variación del color inducida en floretes de *Hydrangea macrophylla* por el pH, estado fenológico y dosis de $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ en dos cultivares; uno azul y otro rosa. Para el análisis de imágenes se segmentaron 432 imágenes de floretes con un clasificador creado con redes neuronales artificiales (RNA) con precisión global (OA) de 99.3% y área bajo la curva (ROC) mayor a 0.99, usando los canales del espacio de color RGB como variables de entrada y cuatro clases de color (azul, rosa, café y verde) como variables de salida. Después se calcularon las variables: superficie por clase de color (**SCC**, %), frecuencia del grupo de color dominante (**FCD**, %), luminosidad (**CIE L**) y croma (**C**). La superficie rosa fue la clase dominante en ambos cultivares en estado Fresh con 8.5% (pH 4.5) y 13% (pH 6.0) mayor superficie en TolR₁ que en TolA₁, mientras que las clases verde (TolA₁) y café (TolR₁) obtuvieron la mayor superficie (85%) en los floretes en estado Antique sin diferencia por dosis de Al o pH. Al aplicar 1 g L⁻¹ de $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ en TolA₁, el grupo de color (carta RHS) con mayor **FCD** cambió de púrpura-violeta al rojo-púrpura bajo pH 6.0 en estado Fresh y de verde amarillento a marrón-grisáceo bajo pH 4.5 en estado Antique. CIE·L y C fueron afectados por el cultivar, el estado fenológico, y la interacción estado fenológico y cultivar. El análisis de imágenes permitió identificar cuantitativamente la variación en color de floretes atribuida principalmente al cultivar y estado fenológico.

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

2.2 ABSTRACT

Florets color in *Hydrangea macrophylla* varies accordingly to pH value and content of elements such as Al and P in the soil. Temporal and spatial color variation of hydrangea florets can be measured by image analysis that generates color quality variables useful in hydrangea commercial production as well as its association with physiological processes. The objective of this research was to determine, by image analysis, the color variation induced in *Hydrangea macrophylla* florets by pH, phenological stage and dosage of $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ in two cultivars; one pink and one blue. For the image analysis 432 floret images were segmented with artificial neural networks (ANN) with global precision (GP) of 99.3% and area under the curve (AUC) greater than 0.99 using the RGB color space channels as inputs and four color classes (blue, pink, brown, green) as outputs. After, the following variables were calculated: color class surface (CCS, %), dominant color group frequency (DCF, %), lightness (CIE L) and chroma (C). The pink surface was the dominant class in both cultivars in Fresh stage with 8.5% (pH 4.5) and 13% (pH 6.0) higher surface in TolR₁ than in TolA₁; while the green (TolA₁) and brown (TolR₁) classes obtained the highest surface area (85%) in Antique state without difference by Al dose or pH effect. With the application of 1 g L^{-1} of $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ in TolA₁, the color group (RHS chart) corresponding to the highest DCF changed from purple-violet to red-purple under pH 6.0 in Fresh stage, and from yellow-green to greyed-brown under pH 4.5 in Antique stage. CIE·L y C were affected by the cultivar, phenological stage and its interaction with the same significance level ($P \leq 0.0001$). Image analysis allowed to quantitatively identify the variation in florets color mainly attributed to the cultivar and phenological stage.

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

2.3 INTRODUCCIÓN

La hortensia (*Hydrangea spp*) es una planta de importancia ornamental y la especie *macrophylla* es la de mayor interés comercial, seguida de *paniculata*, *quercifolia*, *arborescens* e *híbrida* (UPOV, 2020). A nivel mundial *H. macrophylla* se comercializa como planta para jardín, maceta y flor de corte. En 2014 fue el segundo arbusto con mayor producción en los E.E.U.U. con 10 millones de plantas vendidas (91.2 millones de dólares) (Fulcher *et al.*, 2016). En 2016 en la Unión Europea fue el segundo producto ornamental con mejor precio (2.53 dólares por pieza), superado únicamente por *Phalaenopsis* (4.27 dólares por pieza) (AIPH, 2016). En México, su producción en maceta lidera el grupo de cultivos con mayor rentabilidad (Agroméxico, 2018) ya que el valor de la producción en una superficie de 2.5 ha fue de 1.62 millones de dólares (SIAP, 2020).

Debe su atractivo comercial a sus inflorescencias de hasta 40 cm de diámetro comercializadas en dos formas de acuerdo a la posición de los floretes decorativos en la inflorescencia “mopheads” y “lacecaps”; (Uemachi y Nishio, 2000) en colores blanco, azul, morado, rosa y rojo que florecen desde principios de primavera hasta finales de otoño, con cambios marcados de pigmentación que permiten su venta en los estado “Fresh” (cuando las inflorescencias presentan más del 90% de pigmentación en los floretes decorativos y apertura mayor al 40% de flores verdaderas) y “Antique” o “Vintage” (inflorescencias con floretes decorativos que presentan más del 80% de superficie con matiz verde o rojizo y apertura mayor del 40% en flores verdaderas) (Kitamura *et al.*, 2018) como planta de maceta, jardín y flor de corte .

En ornamentales, el color es uno de los principales atributos que definen la calidad e influye en la aceptación del producto por el consumidor y su valor en el mercado. En *Hydrangea macrophylla* la pigmentación de los floretes depende del genotipo, el pH del suelo que determina la biodisponibilidad de elementos como el aluminio y el fósforo; y la capacidad del cultivar para

absorberlos (Fulcher *et al.*, 2016); mientras que en suelos ácidos con disponibilidad de Al se obtienen inflorescencias azules, en suelos alcalinos se presentan tonos rosas.

Aspectos como las características intrínsecas del objeto, la fuente de iluminación y el receptor de la radiación reflejada por el objeto, determinan la percepción del color. El uso de clasificadores de color con redes neuronales artificiales (RNA) es una opción accesible que permite identificar el color con precisión con base en estándares de color (Carrillo-Salazar, *et al.*, 2019) y permite su análisis espacial y temporal (Liu *et al.*, 2019).

En análisis de imágenes de plantas el clasificador con RNA segmenta las imágenes y con el uso de diferentes algoritmos se pueden obtener variables fenotípicas como color, textura, forma, información espacial, contorno (Siraj *et al.*, 2010) y venación (Kulkarni *et al.*, 2013); que en conjunto con variables fisiológicas y ambientales pueden ser usadas como variables de entrada para modelos de predicción de vida poscosecha (In *et al.*, 2009) entre otras aplicaciones. En ornamentales las RNA se han aplicado en identificación de especies con base en el reconocimiento de pétalos (Tan *et al.*, 2012) y flores (Cibuk *et al.*, 2019); en clasificación de variedades de crisantemos (Wu *et al.*, 2018) y orquídeas de los géneros *Dendrobium*, *Phalaenopsis*, *Vanda* (Sabri *et al.*, 2019) y *Paphiopedilum* (Arwatchananukul *et al.*, 2015); en la creación de sistemas de reconocimiento automático de flores (Shi *et al.*, 2019), determinación de parámetros de calidad en petunia (*Petunia multiflora*) (Carrillo-Salazar *et al.*, 2019), en el género *Gloxinia* (Sun *et al.*, 2017) y en cala (*Zantedeschia aethiopica*) (Steidle-Neto *et al.*, 2009); en la detección temprana de enfermedades en *Phalaenopsis* (Huang, 2007) y predicción de vida en florero en rosa (In *et al.*, 2009); así como estudios de asociación de patrones de color y textura de pétalos con polinizadores (Hung *et al.*, 2019).

El objetivo de esta investigación fue analizar la variación de color en floretes decorativos de hortensia por efecto del estado fenológico, el pH y dosis de $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ en dos cultivares contrastantes en el color de los floretes mediante variables de color obtenidas con análisis de imágenes, para lo cual se creó un segmentador de imágenes con redes neuronales artificiales (RNA).

2.4 MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se estableció en el Campus Montecillo del Colegio de Posgraduados ubicado en Texcoco, Estado de México, México; a 2250 m de altitud bajo condiciones de invernadero con temperatura y HR medias de 19.5°C y 72% respectivamente; en el período mayo a octubre de 2019. Las plantas de *Hydrangea macrophylla* se cultivaron en macetas de 20 cm en combinación de sustratos tepojal/tierra negra/tierra de hoja en proporción 1:1:2. En el experimento se usó un diseño experimental en parcelas divididas con pH(4.5, 6.0) como parcela grande y los siguientes factores completamente al azar: cultivar (TolA₁(inflorescencias azules), TolR₁(inflorescencias rosas)), pH (4.5, 6.0), estado de floración (Fresh, Antique) y dosis de $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ (T0: 0 g L⁻¹, T1: 0.250 g L⁻¹, T2: 0.500 g L⁻¹ y T3: 1 g L⁻¹); con 3 repeticiones cada uno donde la unidad experimental fue una planta en una maceta. Para la colecta de floretes decorativos se siguió la clasificación modificada de Kitamura *et al.* (2018) considerando el “Estado Fresh” cuando las inflorescencias presentaban más del 90% de pigmentación de floretes decorativos y apertura mayor al 40% de flores verdaderas, y el “Estado Antique” o “Vintage” a inflorescencias con floretes decorativos que presentaban más del 80% de superficie con matiz verde o rojizo y apertura mayor del 40% en flores verdaderas.

2.4.1 Imágenes digitales

Se recolectaron floretes decorativos en los estados “Fresh” y “Antique” a los 383 y 494 días después de esqueje; en cada fecha de muestreo se recolectaron 9 floretes por tratamiento con un total de 288 floretes que fueron digitalizados en un escaner HP Scanjet® a 600 dpi en formato JPEG; después las imágenes individuales de los floretes se recortaron a 100 x 100 píxeles y se almacenaron. Para facilitar la segmentación, se eliminó en las imágenes la flor verdadera con la autoforma círculo, y se eliminaron el fondo de la imagen y la sombra alrededor de los floretes con la herramienta llamada “borrador mágico” del programa Adobe® Photoshop® versión 7.0.

2.4.2 Segmentador de imágenes

Se obtuvieron los valores de los canales del espacio de color RGB (rojo, verde, azul) de 40, 22, 39, y 29 submuestras de 30 x 30 píxeles de cuatro áreas clasificadas visualmente de color “azul”, “café”, “rosa”, o “verde” mediante muestreo dirigido de las imágenes de floretes. Con los valores de los canales del espacio de color RGB y su respectiva clase objetivo (cuatro clases) asociada a cada registro se generó una base de datos de 56,309 registros en una hoja de cálculo en formato delimitado por comas(Figura 1).

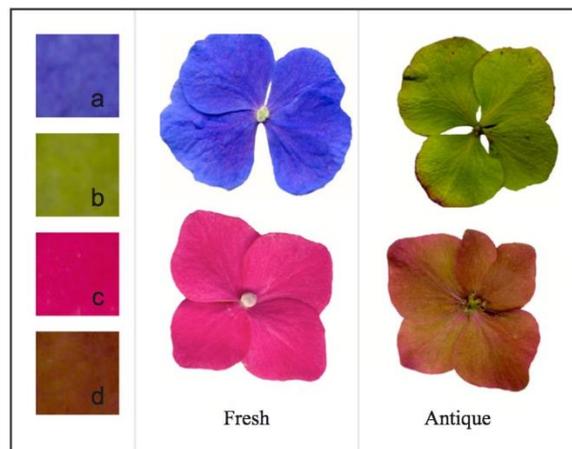


Figura 1. Ejemplos de muestras de 30x30 píxeles de las clases de color, azul (a), verde (b), rosa (c) y café (d) obtenidos de hortensia en las etapas fenológicas “Fresh” y “Antique” que fueron utilizadas en la generación del clasificador con RNA.

La RN se creó y entrenó con el programa Neuroshell Classifier® de AI Trilogy (Ward Systems Group, Inc.) con la estrategia de entrenamiento neuronal que incluye el algoritmo de correlación en cascada, propuesto por Fahlman y Lebiere (1991). Para crear el clasificador, se usaron los canales de espacio de color RGB como variables de entrada y 4 posibles clases o categorías de salida (píxel correspondiente a cada clase: “azul”, “café”, “rosa” y “verde”); y un número máximo de 150 neuronas en la capa oculta. El escenario de entrada se repitió 10 veces con particiones aleatorias del 90% de la base de datos para el entrenamiento y 10% para la prueba. Para evaluar el desempeño en predicción del clasificador se usaron cuatro criterios: **la precisión global (OA)** que se define como el número de individuos clasificados correctamente en cada clase entre el número total de individuos, **el área bajo la curva (AUC)** la cual se calcula al integrar, en diferentes umbrales, el área de la curva (ROC) definida por la relación entre las tasas de positivos verdaderos (sensibilidad) y las tasas de positivos falsos (AI Trilogy™, 2020), **la sensibilidad (positivos verdaderos)** definida como el número de positivos verdaderos dividido por la suma de positivos verdaderos más negativos falsos, y **especificidad (negativos verdaderos)** que es el número de negativos verdaderos dividido entre la suma de los negativos verdaderos y positivos falsos (Florkowski, 2008).

Se accedió al mejor clasificador (RNA) mediante una biblioteca dinámica en un programa escrito en Visual Basic 6.0, y ejecutado en una computadora de escritorio equipada con procesador Intel Core Duo a 2.33 Ghz y 4.0 GB de RAM para analizar las 288 imágenes digitales en secuencia y almacenar los resultados siguientes en una hoja de cálculo: superficie en porcentaje y centímetros cuadrados y la media de los valores R, G y B para cada clase de color por florete. Previo a la segmentación, las imágenes se escalaron a 200 dpi y se les aplicó un filtro de mediana con una

matriz convolutiva de 3 x 3 para eliminar ruido aleatorio (“sal y pimienta”) y exponencial negativo (González y Woods, 2002).

2.4.3 Determinación de color de floretes decorativos

Se digitalizaron las 920 cartas de color de la Royal Horticultural Society (5^{ta} edición) a 600 dpi con el mismo escáner HP Scanjet[®] usado para obtener las imágenes de los floretes, y se almacenaron en formato JPEG. Después, se tomó una muestra de 100 x 100 píxeles en la parte central de cada carta, se obtuvieron los valores promedio de los canales del espacio de color RGB de esas superficies con un programa escrito en Microsoft Visual Basic 6.0 y se almacenaron en una hoja de cálculo junto con la descripción de la nomenclatura de la carta RHS.

Para determinar la carta RHS representante del color promedio de la superficie de cada clase de color en los floretes (cuatro clases), se seleccionó la carta que minimizó la siguiente función en un programa en VBA (Visual Basic para aplicaciones) en Microsoft[®] Excel[®]:

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

Donde:

R_i , G_i , y B_i son los valores promedio de los canales del modelo de color RGB de los píxeles de la superficie de una determinada clase de color en las imágenes de los floretes.

R_c , G_c , y B_c son los valores promedio de los canales del modelo de color RGB de los píxeles de una muestra de la superficie de una determinada carta RHS.

En las cartas seleccionadas a partir de aplicar Ec.1 se obtuvieron los valores de CIE- L, CIE-a, CIE-b, croma (C) y matiz (H) con un colorímetro portátil de alta precisión NR20XE (3nh) de 45°/0° de 20 mm de apertura; lo que sirvió para describir el color de los floretes.

2.4.4 Indicadores de calidad en hortensia

Para evaluar la variación del color en floretes decorativos de hortensia se determinaron las siguientes cuatro variables: **1.** Superficie por clase de color (**SCC**, %); para lo cual se dividió el número de píxeles de cada clase de color sobre el número de píxeles totales de la superficie del florete y se multiplicó por 100. **2.** Frecuencia del grupo de color dominante (**FCD**, %). Con las cartas RHS obtenidas con la **Ec.1** por tratamiento se obtuvo el grupo de color (descrito en las cartas RHS) con la frecuencia más alta o dominante por clase; en este caso valor más alto de FCD indica mayor estabilidad del color. **3.** Luminosidad (**CIE L**) y **4.** Croma (**C**). Se obtuvieron los promedios de CIE-L y C obtenidos con el colorímetro descrito anteriormente de la superficie del florete por tratamiento.

Con los datos paramétricos obtenidos se realizó un ANOVA y comparación de medias con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) con el programa SAS versión 8.1 (SAS Institute Inc., 1999-2000); así como un análisis de conglomerados con Partición de Medoides (PAM) con el programa R versión 3.6.3 (R Foundation for Statistical Computing, 2006). A los datos no paramétricos (variable FCD) se les aplicó el análisis de frecuencia con una prueba binomial ($p \leq 0.05$) con el software JASP versión 0.12.1 (JASP TEAM, 2020) BibTeX.

2.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

2.5.1 Desempeño del clasificador de color RNA

En las Figuras 2e a 2h se muestra un ejemplo de la segmentación de floretes por clase de color con la superficie en pseudocolor, mientras que en las Figuras 2a a 2d se muestran las imágenes en los colores originales.

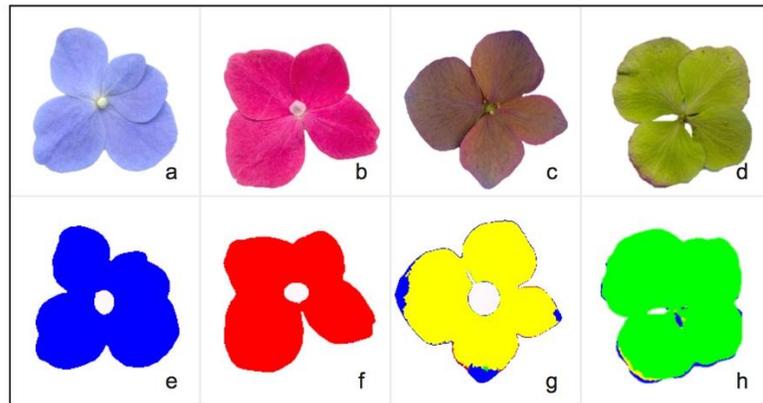


Figura 2. Ejemplos visuales de la aplicación de la metodología para la segmentación de imágenes de floretes decorativos de hortensia usando un clasificador con RNA. En la hilera superior se muestra el florete original y en la hilera inferior se muestra el florete segmentado en cuatro posibles clases: a) azul (en pseudocolor azul), b) rosa (en pseudocolor rojo) c) café (en pseudocolor amarillo) y d) verde (en pseudocolor verde).

El clasificador entrenado con los canales de color RGB como variables de entrada presentó OA de 99.36% mientras que ROC, sensibilidad y especificidad fueron mayores a 0.97 en cada clase (Cuadro 1); indicando alto desempeño en la clasificación de píxeles. En la tabla de contingencia (datos no presentados) se observa que en promedio de 10 repeticiones durante la prueba, 0.83% de los píxeles de la clase rosa fueron clasificados en la clase azul; 1.03% de los píxeles de la clase azul y 1.52% de la clase café fueron clasificados en la clase rosa, mientras que sólo 0.05% de los píxeles de la clase verde fueron clasificados en la clase café.

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

Clase	ROC			Índice de desempeño					
				Sensibilidad			Especificidad		
	\bar{X}	SD	CV (%)	\bar{X}	SD	CV(%)	\bar{X}	SD	CV(%)
rosa	0.999 _a	0.012	0.012	0.982 _a	0.699	0.711	0.992 _a	1.021	1.028
azul	0.999 _a	0.009	0.009	0.987 _a	0.538	0.545	0.996 _a	0.429	0.431
café	0.999 _a	0.007	0.007	0.976 _a	7.482	7.669	0.995 _a	0.170	0.171
verde	1.000 _a	0.007	0.007	0.995 _a	0.972	0.976	0.996 _a	1.217	1.222

Medias con letras iguales no son estadísticamente diferentes (Tukey, 0.05) ROC: Área bajo la curva

El espacio de color RGB se ha utilizado ampliamente en análisis de imágenes de diferentes especies ornamentales. Lootens *et al.* (2007) encontraron este espacio de color con mayor poder discriminante que HSV (“Hue”, “Saturation”, “Value”) al determinar la variación varietal del color en tépalos de begonia, mientras que Yoshioka *et al.* (2006) usaron el espacio de color RGB para binarizar imágenes con análisis de aptitud combinatoria, y poder determinar la forma de sépalos en viola (*Viola × wittrockiana* Gams). También se ha utilizado este espacio de color junto con HS para hacer análisis de cluster multivariado y agrupar genotipos de gerbera por variación de color en las lígulas (Singh *et al.*, 2011); y De Keyser *et al.* (2013) usaron este modelo para fenotipar rasgos de color y forma en azalea mediante análisis de imágenes con 98% de precisión.

2.5.2 Criterios de calidad en Hortensia

2.5.2.1 Superficie cubierta por clase

Las fuentes de variación en la clase rosa se atribuyeron principalmente al cultivar ($P \leq 0.0001$), estado fenológico ($P \leq 0.0001$) y sus interacciones ($P \leq 0.0001$) sin mostrar diferencias estadísticamente significativas en SCC por efecto de la dosis de $Al_2(SO_4)_3$ con excepción de T1

(0.250 g L⁻¹) bajo pH 6.0 en estado Fresh que fue un 25% mayor en TolR₁ que en TolA₁. A diferencia de las clases de color dominantes, en la clase azul con medias en SCC de 11% en TolA₁ y 1.6% en TolR₁ se observó variación inducida por el cultivar ($P \leq 0.0001$) y las interacciones estado fenológico, pH, dosis de Al₂(SO₄)₃ y por tratamiento ($P \leq 0.0037$), que promovieron un SCC 11% mayor en TolA₁ que en TolR₁ y donde bajo pH 4.5 en estado Fresh en el cultivar TolA₁ no se requirió aplicación de Al₂(SO₄)₃ para obtener un mayor SCC a diferencia del estado Antique donde T3 promovió mayor SCC y bajo pH 6.0 sin aplicación de Al₂(SO₄)₃ se obtuvo mayor SCC. En la clase café las variaciones en SCC se atribuyeron a todas las fuentes de variación e interacciones con excepción de las interacciones cultivar y dosis de Al₂(SO₄)₃ ($P > 0.2783$), y cultivar, estado fenológico y dosis de Al₂(SO₄)₃ ($P > 0.1925$); aunque en la prueba de medias de Tukey sólo se observaron diferencias entre medias por cultivar y estado fenológico; en TolR₁ en estado Fresh independientemente del pH, SCC presentó valores cercanos a cero mismos que incrementaron a medias de 88.5% (pH 4.5) y 82.3% (pH 6.0) en estado Antique como efecto del avance de la floración con la cual la superficie dominante cambió de la clase rosa a la café en TolR₁ y de la clase rosa a verde en TolA₁. En SCC de la clase verde las mayores significancias ($P \leq 0.0001$) se obtuvieron por cultivar y estado fenológico, en particular en el cultivar TolR₁ bajo pH 6.0 que presentó mayor superficie verde sin la aplicación de Al; en cambio, no se presentó variación en SCC por efecto del pH ($P > 0.2066$), pH, estado fenológico ($P > 0.2066$), cultivar, dosis de Al₂(SO₄)₃ ($P > 0.3740$), ni en cultivar, estado fenológico, y dosis de Al₂(SO₄)₃ ($P > 0.3740$).

Las clases de color con mayor superficie en los floretes de TolA₁ fueron la rosa (87%) y verde (85%), y para TolR₁ la rosa (98%) y café (85%), para los estados Fresh y Antique respectivamente por lo que se determinaron como clases de color dominantes (**SSC**) (Cuadro 2). La superficie rosa

fue la clase dominante en ambos cultivares en estado Fresh como resultado de un alto contenido de P en la solución nutritiva (KH_2PO_4 y H_3PO_4), que favoreció la formación de la antocianina delfinidina-3-glucosido en su forma de catión flavilio (AH^+) de color rojo intenso que contribuye a la coloración roja y morada de flores (Castañeda *et al.*, 2009, Yoshida *et al.*, 2003); y por tanto disminuyó la superficie con coloración azul inclusive en el cultivar de inflorescencias originalmente azules (TolA₁).

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

pH	Estado fenológico	Dosis de $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$	Cultivar							
			TolA ₁				TolR ₁			
			rosa	azul	café	verde	rosa	azul	café	verde
4.5	“Fresh”	T0	86ab	14a	0c	0c	98a	1b	1c	0c
		T1	85ab	15a	0c	0c	98a	1b	1c	0c
		T2	93a	7b	0c	0c	97a	1b	2c	0c
		T3	93a	7b	0c	0c	98a	1b	1c	0c
	“Antique”	T0	1c	2b	1c	95a	4c	2b	93a	1c
		T1	1c	7b	3c	88a	2c	2b	94a	2c
		T2	6c	9b	1c	85a	1c	4b	92a	3c
		T3	2c	11a	1c	86a	4c	4b	84a	8c
6.0	“Fresh”	T0	89a	11a	0c	0c	99a	1b	0c	0c
		T1	73b	27a	0c	0c	98a	1b	0c	0c
		T2	87a	13a	0c	0c	98a	2b	0c	0c
		T3	93a	7b	0c	0c	99a	1b	0c	0c
	“Antique”	T0	4c	22a	2c	72a	1c	1b	66ab	32b
		T1	6c	2b	7c	85a	2c	1b	91a	5c
		T2	0c	2b	0c	98a	2c	2b	66ab	30bc
		T3	1c	23a	1c	74a	2c	1b	97a	0c

Medias con letras iguales no son estadísticamente diferentes (Tukey, 0.05). Dosis de $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ T0: 0.0 gL^{-1} , T1: 0.250 gL^{-1} , T2: 0.500 gL^{-1} , T3: 1.00 gL^{-1} . Estados fenológicos (Edo); Fresh: Inflorescencias con más del 90 % de pigmentación en los floretes decorativos y apertura mayor al 40 % de flores verdaderas Antique: Floretes decorativos de las inflorescencias con más del 80 % de superficie con matiz verde o rojizo y apertura mayor del 40 % de flores verdaderas.

2.5.2.2 Grupo de color dominante

La variación de color en los sépalos es determinada por el tipo de pigmentos presentes que afectan el matiz o longitud de onda reflejada predominantemente (Narbona *et al.*, 2014); en nuestra investigación se determinó un indicador de estabilidad (**FCD**, %) que calcula cuál es el grupo de color de las cartas RHS de mayor frecuencia observado en las SCC dominantes (Cuadro 3). En este cuadro se observan únicamente los valores de FCD correspondientes a las clases dominantes con superficies medias mayores a 3%, y se aprecian 7 grupos de color con mayor FCD: púrpura violeta (PV) y rojo púrpura (RP) para la clase rosa en estado Fresh; naranja grisáceo (GO) y marrón grisáceo (GB) para la clase café y el verde amarillento (YG), verde grisáceo (GG) y marrón grisáceo (GB) para la clase verde, correspondientes al estado Antique.

En TolA₁ en estado de floración Fresh la mayor FCD (89%) se obtuvo para PV en ambos niveles de pH; bajo pH 4.5 en estado Fresh, PV obtuvo mayor FCD bajo todas las dosis de Al₂(SO₄)₃ con el valor máximo en T3 y disminuyó a 11% con el avance de la floración; mientras que en estado Antique se obtuvieron dos grupos con mayor FCD, YG de colores vívidos con las dosis T0 a T2 y GB de colores opacos con T3 ya que obtuvieron valores similares de *CIE-L* 76.62 (YG), 73.98(GB) pero con marcada diferencia en *C* valores de 64.24(YG) y 31.67(GB) respectivamente.

Bajo pH 6.0 en TolA₁, PV de violetas pálidos mostró mayor FCD en estado Fresh bajo las dosis 0 a 0.5 g L⁻¹ de Al₂(SO₄)₃ alcanzando el FCD máximo con T1, mientras que con la dosis más alta de Al₂(SO₄)₃ se obtuvo RP como el grupo de color con mayor FCD, el cual es similar a los tonos vívidos de RP obtenidos en TolR₁ en estado Fresh. Como efecto de la interacción de la dosis de Al₂(SO₄)₃, el pH y el estado fenológico el cambio en la carta de mayor FCD de PV a RP aumentó *CIE-L* de 66.30 a 86.01; pero disminuyó *C* de 68.36 a 36.6 de la superficie de los floretes.

En estado Antique con la aplicación $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ el grupo de color con mayor FCD fue YG que alcanzó el 100% en T2 y fue 22 % mayor con respecto al estado Fresh; sin aplicación, GG fue el grupo de color con mayor FCD caracterizado por presentar menor C (20.5) que en YG (58.6).

El cultivar TolR₁ tuvo mayor FCD en estado Fresh con 25.3% (pH 4.5) y 27.8% (pH 6.0), y en estado Antique con 16.5% (pH 4.5) y 7.3% (pH 6.0) que TolA₁, lo cual implica que TolR₁ tiene mayor estabilidad en el color de los floretes en las SCC dominantes. En estado Fresh en la clase rosa, RP obtuvo mayor FCD independientemente del pH, con los máximos valores bajo pH 4.5 en T2 y a pH 6.0 con las dosis 0 a 0.5 g L⁻¹; mientras que en estado Antique en la clase café bajo pH 4.5, GO obtuvo mayor FCD independientemente de la dosis de Al aplicada con el máximo FCD en T1; mientras que bajo pH 6.0 la aplicación de $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ cambió el grupo de color de mayor FCD de GB a GO con valores similares de $CIE-L$ y C . TolR₁ presentó menor variación en el número de grupo de colores y mayores valores de FCD que TolA₁; indicando mayor estabilidad y uniformidad en el color de floretes decorativos de hortensia por efecto de los tratamientos aplicados.

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

pH	Estado fenológico	Dosis de Al ₂ (SO ₄) ₃	Cultivar						
			TolA1	%		TolR1	%		
			rosa	verde		rosa	café		
4.5	Fresh	T0	PV	56		RP	78		
		T1	PV	44		RP	67		
		T2	PV	33		RP	100		
		T3	PV	89		RP	78		
	Antique	T0			YG	67		GO	67
		T1			YG	56		GO	100
		T2			YG	67		GO	78
		T3			GB	56		GO	67
	6.0	Fresh	T0	PV	44		RP	100	
			T1	PV	89		RP	100	
			T2	PV	67		RP	100	
			T3	RP	56		RP	67	
Antique		T0			GG	44		GB	67
		T1			YG	56		GO	78
		T2			YG	100		GO	50
		T3			YG	44		GO	78



Test Binomial ($p \leq 0.05$). Grupos de color: rojo púrpura (RP), púrpura violeta (PV), verde amarillento (YG), naranja grisáceo (GO), rojo grisáceo (GR), púrpura grisáceo (GP), verde grisáceo (GG), marrón grisáceo (GB). Cada grupo de color está representado con la imagen de la carta RHS de mayor frecuencia.

2.5.2.3 CIE-L y C

La variación en CIE·L y C dependió principalmente del cultivar, el estado fenológico y de la interacción estado fenológico y cultivar con el mismo nivel de significancia ($P \leq 0.0001$) (Cuadro 4), que coincide con los resultados del análisis de conglomerados (88.77%); ya que con el paso del estado fenológico Fresh a Antique los floretes decorativos presentaron un cambio dramático de color que se observó como el cambio de clases y grupos dominantes de color en cada etapa y en consecuencia sus valores de CIE-L y C. CIE-L tuvo un comportamiento influenciado por el nivel

de pH ($P \leq 0.0001$) y su interacción con el resto de los factores ($P \leq 0.0242$); particularmente en estado Fresh en TolA₁ bajo pH 4.5 donde ninguna dosis de Al cambió el valor de CIE-L, mientras que bajo pH 6.0 cualquier dosis de Al₂(SO₄)₃ disminuyó el valor de CIE-L con respecto al testigo. En la interacción genotipo estado fenológico ($P \leq 0.0001$), CIE-L incrementó 20% al cambiar de estado Fresh a Antique en TolR₁. En TolA₁ en estado Fresh bajo pH 4.5 sin importar la dosis de Al₂(SO₄)₃, los floretes fueron más luminosos que bajo pH 6.0; esto fue contrario a lo esperado donde mayor disponibilidad de Al asociada a un pH ácido (4.5) induciría mayor concentración de delfinidina-3-glucosido y por lo tanto menor valor de CIE-L; esto sugiere que la respuesta de CIE-L a los tratamientos aplicados obedece a mecanismos fisiológicos complejos, como es la disminución del contenido de clorofila y carotenoides, e incremento de la concentración de delfinidina cuando aumenta la concentración de Al (Eid, Albatal y Haddad, 2015); a la variación en la forma de las células de la epidermis reportada particularmente en hortensias verdes (Kesumawati *et al.*, 2006) y su efecto en la cantidad de luz que llega a los pigmentos acumulados en su interior o en capas inferiores; y a la diferencia en reflectancia de los pigmentos responsables de la coloración de los floretes asociados a iones metal, su estabilidad como complejos y su ubicación en los sépalos (Ito *et al.*, 2019).

El Croma, por otra parte, mostró efecto de las interacciones, pero sin ninguna tendencia definida, donde la interacción pH, estado fenológico y dosis de Al fue significativa ($P \leq 0.0342$) y en donde C aumentó al pasar de estado Fresh a Antique particularmente bajo pH 6.0 en TolR₁ (40%).

Cuadro 4. Variación de los valores de CIE L·C inducida por los tratamientos en las SCC

pH	Estado Fenológico	Dosis de $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$	Cultivar			
			TolA ₁		TolR ₁	
			CIE-L	C	CIE-L	C
4.5	Fresh	T0	71a	23b	57b	34b
		T1	71a	26b	63b	38b
		T2	82a	60a	62b	42b
		T3	73a	36b	62b	40b
	Antique	T0	65b	52ab	82a	64a
		T1	69a	24b	81a	61a
		T2	80a	53ab	78a	43b
		T3	63b	21b	78a	59ab
6.0	Fresh	T0	70a	34b	52b	29b
		T1	63b	32b	55b	34b
		T2	60b	20b	52b	28b
		T3	65b	27b	59b	27b
	Antique	T0	74a	26b	80a	78a
		T1	77a	52ab	76a	70a
		T2	58b	50ab	77a	61a
		T3	54b	18b	83a	80a

Medias con letras iguales no son estadísticamente diferentes (Tukey, 0.05).

En gran medida la variación de color se atribuyó al estado fenológico; en estado Fresh donde los cultivares mostraron floretes con intensos colores, púrpura violeta en TolA₁ y rojo púrpura en TolR₁, la síntesis y máxima acumulación de antocianinas naturalmente funciona para atraer a polinizadores y garantizar la reproducción (Narbona *et al.*, 2014), mientras que en la etapa Antique la degradación de las antocianinas hace que los floretes presenten matices verdes amarillentos en TolA₁ y colores naranja grisáceos en TolR₁. Tanto la formación de antocianinas como la producción de clorofila están regidas por los cambios en las rutas biosintéticas de los pigmentos, en las que de acuerdo con Muñoz y Munné-Bosch (2018), la acumulación de especies reactivas de oxígeno (ROS) permite la degradación de antocianinas y posiblemente la reactivación de los cloroplastos en órganos florales; proceso indispensable en especies con dormancia invernal y defoliación natural como *Hydrangea macrophylla* que permite la acumulación de fotoasimilados para la producción de yemas florales en verano (Pagter *et al.*, 2011). Por otra parte, se encontraron

diferencias en la coloración atribuidas al genotipo, ya que de acuerdo con Schreiber *et al.* (2011) en *Hydrangea macrophylla* cada genotipo presenta el mismo contenido de antocianinas independientemente del color que muestren las inflorescencias lo cual está en función de la concentración de Al; por lo que la variación en color observada en nuestra investigación se debió a la interacción entre el genotipo y la disponibilidad de Al en la solución nutritiva. Este comportamiento se observó en particular en TolR₁ cuyos floretes mostraron mayor uniformidad y estabilidad del color, consecuencia de una baja disponibilidad del Al y un alto contenido P en la solución nutritiva (KH₂PO₄ y H₃PO₄) que favoreció la concentración predominante de delfinidina-3-glucosido en su forma más estable, el catión flavilio (Castañeda *et al.*, 2009), lo cual no se observó en TolA₁.

Así como las variables descritas anteriormente la luminosidad y el croma también fueron afectadas por la fenología y el cultivar; en TolA₁ no se presentó variación en estas variables, mientras que en TolR₁ al cambiar el color de la superficie del florete de rosa a café debido al estado fenológico, tanto luminosidad como el croma disminuyeron obedeciendo al tipo y concentración de pigmentos presentes, diferente al comportamiento observado en *Paeonia lactiflora* Pallas (Zhong *et al.*, 2014) y orquídeas *Cymbidium* (Wang *et al.*, 2014) donde con el avance de la floración, la luminosidad incrementa y el croma disminuye. TolA₁ presentó mayor croma y menor luminosidad que TolR₁ en estado Fresh asociado al genotipo y su concentración de antocianinas (Schreiber *et al.*, 2011) en lo que también podría influir la interacción entre el genotipo y el nivel de acumulación de pectinas en enlace con Al en paredes celulares (Yang *et al.*, 2008) y su efecto en la reflectancia.

Con base en las variables evaluadas, es posible elegir cultivares y condiciones de cultivo acorde a los criterios de calidad deseados. Si se considera como deseable mayor uniformidad y estabilidad

del color en los floretes, los mejores tratamientos para el cultivar TolA₁ en estado Fresh bajo pH 4.5 se obtendrían con 1.0 g L⁻¹ de Al₂(SO₄)₃ y sin aplicación de Al bajo pH 6.0; y en estado Antique se obtendrían aplicando 0.250 y 0.50 g L⁻¹ de Al₂(SO₄)₃ bajo pH 4.5 y 6.0 respectivamente; mientras que en el cultivar TolR₁ en estado Fresh y pH 4.5, las dosis de 0.250 y 0.50 g L⁻¹ de Al₂(SO₄)₃ inducen coloración más estable y mayor uniformidad del color en floretes de hortensia; en estado Antique la dosis control y pH 4.5 así como la dosis de 1.0 g L⁻¹ de Al₂(SO₄)₃ y pH 6.0 obtuvieron los porcentajes máximos de uniformidad y estabilidad del color.

En la presente investigación encontramos que la uniformidad del color, la estabilidad del color, la luminosidad y croma obtenidas mediante análisis de imágenes con RNA podrían ser variables útiles para determinar criterios cuantitativos de la variación del color y ser una alternativa accesible en las pruebas de Distinción, Homogeneidad y Estabilidad del color de la UPOV en variedades vegetales, actualmente realizada con cartas RHS con base en criterios determinados por expertos. La metodología utilizada en esta investigación facilita la selección de líneas en el fitomejoramiento, la evaluación espacial y temporal de la interacción genotipo-ambiente y la selección de técnicas productivas para satisfacer los estándares de mercados específicos, la clasificación de productos hortícolas, y la detección temprana de plagas y enfermedades.

2.6 CONCLUSIONES

La fenología y el genotipo tuvieron efecto en la variación y estabilidad del color, en la luminosidad y en el croma de floretes decorativos en *Hydrangea macrophylla*, mientras que el pH y el Al influyeron en la estabilidad del color.

2.6.1 INVESTIGACIÓN FUTURA

El uso de clasificadores de color RNA en el sector ornamental puede contribuir no sólo a la estandarización de color sino a la identificación de patrones asociados con la sanidad de la planta como parte de su etiquetado para comercialización.

El clasificador de color puede adaptarse como una aplicación en el teléfono móvil para la identificación automática de color, calidad y especies.

La precisión del clasificador RNA puede mejorarse con el uso de equipos de mayor presión para la adquisición de imágenes digitales ya que la apariencia de las flores dependen del nivel de iluminancia y las distribuciones de potencia espectral de los iluminantes.

2.7 REFERENCIAS

- AIPH, International Association of Horticultural Producers (2016)** International statistics. Flowers and plants 2016. Volume 64. Oxfordshire, England. 190 p.
- AI Trilogy™** (2020). Ward Systems Group, Inc. Tutorials <http://www.wardsystems.com/classifiertutorial.asp> (25 de marzo 2020)
- Agroméxico. Actualidad Agropecuaria (2018)** Cultivo de hortensias: 6 años liderando en ganancias por hectárea. <https://agromexico.org/2018/06/07/cultivo-hortensias-lider-ganancias-por-hectarea/> (Septiembre 2019).
- Arwatchananukul, P. Charoenkwan and D. Xu (2015)** POC: *Paphiopedilum* Orchid Classifier, 2015 IEEE 14th International Conference on Cognitive Informatics and Cognitive Computing. Beijing, China. pp:206-212.
- Carrillo-Salazar J. A., J. M. González-Camacho, E. San Juan-Martínez, and V. A. González-Hernández (2019)**. Quality assessment of potted petunia based on a probabilistic neural network classifier. *Agrociencia* 53:895-910.
- Castañeda-Ovando, A., Pacheco-Hernández, M., Páez-Hernández, M., Rodríguez, J., and Galán-Vidal, C. (2009)**. Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry*, 113:859–871. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.001>
- Cibuk M., Budak, U., Guo, Y., Ince, M. C., and Sengur, A. (2019)**. Efficient deep features selections and classification for flower species recognition. *Measurement* 137:7-13, <https://doi.org/10.1016/j.measurement.2019.01.041>
- De Keyser, E., Lootens, P., Van Bockstaele, E., and J. De Riek (2013)** Image analysis for QTL mapping of flower colour and leaf characteristics in pot azalea (*Rhododendron simsii* hybrids). *Euphytica* 189: 445–460 <https://doi.org/10.1007/s10681-012-0809-7>

- Eid, GM., Albatal, N. and S. Haddad (2015)** Effect of aluminum sulfate on the Chlorophyll a, Chlorophyll b, carotenoids and anthocyanin content in some cultivars of Hydrangea (*Hydrangea macrophylla*). *International Journal of Horticulture* 9: 1-8.
- Fahlman, SE. and C. Lebiere (1991)**. The Cascade-correlation learning architecture. Computer science department. Carnegie Mellon University. Pittsburgh, PA, USA. Paper 1938;13 pp <http://repository.cmu.edu/compsci/1938> /(17 de octubre 2019)
- Fulcher, A., Owen, J., and A. LeBude (2016)** Hydrangea production: Species specific production guide. PB 1840-B. 12 pp. <https://extension.tennessee.edu/publications/Documents/PB1840-B.pdf>
- Florkowski C. M (2008)**. Sensitivity, specificity, receiver-operating characteristic (ROC) curves and likelihood ratios: communicating the performance of diagnostic tests. *The Clinical biochemist. Reviews*, 29 Suppl 1(Suppl 1), S83–S87.
- Gonzalez, R. C. and R. E. Woods (2002)**. Digital Image Processing. Prentice-Hall. 793 p.
- Huang, K. (2007)**. Application of artificial neural network for detecting *Phalaenopsis* seedling diseases using color and texture features. *Elsevier Ltd*, 57:3–11. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2007.01.015>
- Hung, TT., Hsu, HC., Hsu, Hc and YF, Kuo. (2019)**. Quantifying color and textural patterns of petals and studying their association with pollinators: using genus *Sinningia* (*Gesneriaceae*) as an example. ASABE Annual International Meeting 1900443 doi:10.13031
- In, BC., Inamoto, K., and M, Doi (2009)**. A neural network technique to develop a vase life prediction model of cut roses. *Postharvest Biology and Technology* 52: 273–278. doi:10.1016/j.postharvbio.2009.01.001
- Ito, T., Aoki, D., Fukushima, K., and K. Yoshida (2019)**. Direct mapping of hydrangea blue complex in sepal tissues of *Hydrangea macrophylla*. *Scientific Reports*. 3:1–9. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-41968-7>

- Kesumawati, E., Kimata, T., and T. Uemachi (2006).** Correlation of phytoplasma concentration in *Hydrangea macrophylla* with green-flowering stability. *Scientia Horticulturae*, 108: 74–78. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2006.01.003>
- Kitamura, Y., Ueno, S., Aizawa, H., and W. Teoh (2018).** Differences in vase lives of cut hydrangea flowers harvested at different developmental stages. *The Horticultural Journal*. 87: 274–280. <https://doi.org/10.2503/hortj.OKD-111>
- Kulkarni, A. H., Rai, H. M., Jahagirdar, K. A., and P.S. Upparamani (2013).** A leaf recognition technique for plant classification using RBPNN and zernike moments. *International Journal of Advanced and Research in Computer and Communication Engineering* 2: 984–988
- Liu, Y., Lin, T., Du, L., Wang, J., Yang, X., Zhang, J., ... Yang, X. (2019).** Sampling for DUS Test of flower colors of *Ranunculus asiaticus* L. in view of spatial and temporal changes of flower colorations, anthocyanin contents, and gene expression levels. *Molecules*, 24:615. <https://doi.org/10.3390/molecules24030615>
- Lootens, P., Waes, V. J. and L. Carlier (2006)** Evaluation of the tepal colour of *Begonia x tuberhybrida* Voss. for DUS testing using image analysis. *Euphytica* 155: 135–142. <https://doi.org/10.1007/s10681-006-9315-0>
- Muñoz, P., and S. Munné-Bosch (2018).** Photo-oxidative stress during leaf, flower and fruit development. *Plant Physiology*, 176: 1004–1014. <https://doi.org/10.1104/pp.17.01127>
- Narbona, E., Buide, M. L., Casimiro-Soriguer, I., y J. del Valle (2014).** Polimorfismos de color floral: causas e implicaciones evolutivas. *Ecosistemas*, 23: 36–47.
- Pagter, M., Lefèvre, I., Arora, R., and J. Hausman (2011).** Quantitative and qualitative changes in carbohydrates associated with spring deacclimation in contrasting *Hydrangea* species. *Environmental and Experimental Botany*, 72:358–367. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2011.02.019>

- Sabri, N., Kamarudin, M. F., Hamzah, R., Manghsor, N. N. A., Samah, K. A. F. A., and N. Hasan (2019)** Combination of color, shape and texture features for orchid classification. 2019 IEEE 9th International Conference on System Engineering and Technology (ICSET), Shah Alam, Malaysia pp: 315–319.
- Schreiber, H. D., Wade, S. E., Mayhew, K. M., and J.A. Cobb (2011).** Characterization of *Hydrangea macrophylla* cultivars by the anthocyanin content in their sepals. *Journal of Environmental Horticulture*, 29: 131–136.
- SIAP, Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (2008-2019)** Anuario estadístico de la producción agrícola. Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Ciudad de México. <https://www.siap.gob.mx/> (12 febrero 2020).
- Singh, S., Dhyani, D., and A.K. Yadav (2011).** Flower colour variations in gerbera (*Gerbera jamesonii*) population using image analysis. *Indian Journal of Agricultural Sciences* 81: 1130–1136.
- Siraj, F., Salahuddin M.A. and S.A.M. Yusof (2010).** Digital image classification for malaysian blooming flower. Second International Conference on Computational Intelligence, Modelling and Simulation, Tuban, 2010, pp. 33-38 <https://doi.org/10.1109/CIMSiM.2010.92>
- Shi, L., Li, Z., and D. Song (2019).** A flower auto-recognition system based on deep learning. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science 234: 012088. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/234/1/012088>
- Steidle-Neto, J., Grossi, J., Lopes, D., and E. Anastácio (2015)** Potential of spectral reflectance as postharvest classification tool for flower development of calla lily (*Zantedeschia aethiopica* (L.) Spreng.). *Chilean Journal of Agricultural Research* 69: 37–41. <https://doi.org/10.1560/IJPS.57.4.421>
- Sun, Y., Zhu, L., Wang, G., and F. Zhao (2017).** Multi-input convolutional neural network for flower grading. *Hindawi Journal of Electrical and Computer Engineering* 2017: Article ID 9240407, 8p, <https://doi.org/10.1155/2017/9240407>

- Tan W., Y. Tan, A. Koo and Y. Lim (2012)** Petals' shape descriptor for blooming flowers recognition. Fourth International Conference on Digital Image Processing (ICDIP 2012), 8334:1-6, <https://doi.org/10.1117/12.966367>
- Uemachi T. and T. Nishio (2000)** Inflorescence development in *Hydrangea macrophylla*. *Acta Horticulturae* 515:265-271.
- UPOV, Unión para la Protección de Obtenciones Vegetales (2020)** Pluto. Base de datos sobre variedades vegetales. Unión para la Protección de Obtenciones Vegetales. Ginebra, Suiza. <https://www3.wipo.int/pluto/user/es/index.jsp> (Febrero 2020).
- Wang L, Albert NW, Zhang H, et al. (2014)** Temporal and spatial regulation of anthocyanin biosynthesis provide diverse flower colour intensities and patterning in *Cymbidium orchid*. *Planta*. 240:983-1002. doi:10.1007/s00425-014-2152-9
- Wu, N., Zhang, C., Bai, X., Du, X., and He, Y. (2018).** Discrimination of chrysanthemum varieties using hyperspectral imaging combined with a deep convolutional neural network. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 23: 2311-2831. <https://doi.org/10.3390/molecules23112831>
- Yang, J. L., Li, Y. Y., Zhang, Y. J., Zhang, S. S., Wu, Y. R., Wu, P., and SJ.Zheng (2008). Cell wall polysaccharides are specifically involved in the exclusion of aluminum from the rice root apex. *Plant Physiology*, 146, 602–611. <https://doi.org/10.1104/pp.107.111989>
- Yoshida, K., Toyama-kato, Y., Kameda, K., and T. Kondo (2003).** Sepal color variation of *Hydrangea macrophylla* and vacuolar pH measured with a proton-selective microelectrode. *Plant Cell Physiology*. 44: 262–268.
- Yoshioka H., Y. Iwata, N. Matsuura, S. Hase, R. Ninomiya and S. Ohsawa (2006)** Genetic combining ability of petal shape in garden pansy (*Viola × wittrockiana* Gams) based on image analysis. *Euphytica* 151:311-319, <https://doi.org/10.1007/s10681-006-9151-2>

Zhong, P.X.; Wang, L.S.; Li, S.S.; Xu, Y.J.; Zhu, M.L (2012). The changes of floral color and pigments composition during the flowering period in *Paeonia lactiflora* Pallas. *Acta Horticulturae*. 39:2271–2282.

CONCLUSIONES GENERALES

Ya que la aplicación de $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ para incrementar la calidad del color en *Hydrangea macrophylla* es una práctica común en producción comercial tanto en planta en maceta como flor de corte; la evaluación de su efecto en conjunto con el P y algunos factores del microclima en la biosíntesis de antocianinas, calidad de la inflorescencia y comportamiento fisiológico y fenológico de la planta; así como el análisis cuantitativo de criterios de calidad en color de la inflorescencia es de vital importancia; en este trabajo permitió: 1. Conocer la respuesta por cultivar a los factores evaluados y las bases fisiológicas para su manipulación agronómica. 2. Conocer la dosis de $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$, pH y nutrición óptimas para obtener un grupo de color específico optimizando el uso de insumos agrícolas y reduciendo la toxicidad a plantas vecinas; 3. Conocer los rangos de T° y HR cultivar-dependientes para el forzado de la producción y su comercialización en fechas de mayor demanda (Ejm. 10 de mayo, 14 febrero, etc.); 4. Mejorar la producción de yemas florales manteniendo o reforzando la nutrición cercana a dormancia invernal; 5. Aprovechar herramientas accesibles como el análisis de imágenes digitales para analizar cuantitativamente el color de las inflorescencias con alta precisión y enfocar la producción de acuerdo a las preferencias del consumidor (Grupo de color, Uniformidad, Intensidad, etc.); así como dar seguimiento a la estabilidad del color útil en el registro de variedades vegetales; 6. Incentivar la orientación de producción de hortensia hacia la calidad y diversificación; 7. Dar a conocer el manejo de la hortensia en maceta, un cultivo redituable entre los productores nacionales, especialmente aquellos en zonas con problemas de exceso de Al; y 8. Incentivar el estudio de la especie, su manejo postcosecha y propiedades farmacológicas.