

DOI: <https://doi.org/10.18359/rfcb.4916>



Efecto de la coplanaridad entre cámara y hoja para la determinación de área foliar en *Eichhornia crassipes* con imágenes digitales*

Alida Marcela Gómez Rodríguez^a ■ Luis Carlos Garzón-Salcedo^b ■ Wilfred Edilberto Espinoza Manrique^c ■ Sergio Daniel Cárdenas Castillo^d ■ Diomedes Guzmán Sanabria^e ■ David Felipe Bermúdez Duarte^f

Resumen: las metodologías no destructivas empleadas para determinar área foliar mediante capturas fotográficas y posterior procesamiento han tenido una importante acogida en diversas disciplinas. Sin embargo, son escasos los estudios que validan en términos de precisión y exactitud el efecto de la coplanaridad o de la no-coplanaridad entre los planos de la cámara y la hoja. En este estudio se evaluó la precisión de los valores de área foliar obtenidos en la planta *Eichhornia crassipes*,

* Artículo de investigación

a M.Sc Ciencias Biológicas. Bióloga. Departamento de Biología y Microbiología. Miembro del grupo de investigación Núcleo, Facultad de Ciencia e Ingeniería, Universidad de Boyacá, Tunja, Colombia.

Correo electrónico: aligomez@uniboyaca.edu.co

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8747-1443>

b Ph. D Química. Químico farmacéutico. Departamento de Biología y Microbiología. Miembro del grupo de investigación Núcleo, Facultad de Ciencia e Ingeniería, Universidad de Boyacá, Tunja, Colombia.

Correo electrónico: lccgarzon@uniboyaca.edu.co

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7459-6041>

c M.Sc Química. Químico de alimentos. Departamento de Biología y Microbiología. Miembro del grupo de investigación Núcleo, Facultad de Ciencia e Ingeniería, Universidad de Boyacá, Tunja, Colombia.

Correo electrónico: weespinoza@uniboyaca.edu.co

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8944-4593>

d Ingeniero ambiental. Miembro del grupo de investigación Núcleo, Facultad de Ciencia e Ingeniería, Universidad de Boyacá, Tunja, Colombia.

Correo electrónico: sdcardenas@uniboyaca.edu.co

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0784-708X>

e Ingeniero ambiental. Miembro del grupo de investigación Núcleo, Facultad de Ciencia e Ingeniería, Universidad de Boyacá, Tunja, Colombia.

Correo electrónico: dguzman@uniboyaca.edu.co

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5713-8762>

f Ingeniero ambiental. Miembro del grupo de investigación Núcleo, Facultad de Ciencia e Ingeniería, Universidad de Boyacá, Tunja, Colombia.

Correo electrónico: dfbermudez@uniboyaca.edu.co

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5296-7983>

utilizando dos metodologías no destructivas con procesamiento de imagen en el software *Image J*. Posteriormente se evaluó la exactitud en la metodología no destructiva que presentó menor variabilidad de los resultados. La metodología 1 no presenta un control riguroso entre los planos, mientras que la metodología 2 emplea un dispositivo para garantizar coplanaridad. Como referentes se emplearon un sistema de procesamiento de imagen y figuras elípticas impresas de área conocida construidas con el software AutoCAD. Los resultados muestran con un nivel de confianza del 95% el mismo nivel de precisión entre el referente sistema de procesamiento de imagen y la metodología 2, que a su vez resultó ser la más precisa. En relación a la exactitud, evaluada a través de los límites de confianza para los parámetros pendiente e intercepto de curvas de calibración, se obtuvo un comportamiento estadísticamente similar entre la metodología 2 y el software AutoCAD, y las mismas diferencias entre metodología/referentes y referente/referente.

Palabras clave: exactitud; metodologías; precisión; procesamiento de imagen; software

Recibido: 19/06/2020

Aceptado: 06/10/2020

Disponible en línea: 19/03/2021

Cómo citar: A. M. Gómez Rodríguez, L. C. Garzón-Salcedo, W. E. Espinoza Manrique, S. D. Cárdenas Castillo, D. Guzmán Sanabria, y D. F. Bermúdez Duarte, «Efecto de la coplanaridad entre cámara y hoja para la determinación de área foliar en *Eichhornia crassipes* con imágenes digitales», Rev. Fac. Cienc. Básicas, vol. 16, n.º 1, mar. 2021.

*Effect of the coplanarity between camera and leaf for the determination of leaf area in *Eichhornia crassipes* with digital images*

Abstract: the non-destructive methodologies used to determine leaf area through photographic captures and subsequent processing have had an important reception in various disciplines. However, there are few studies that validate the effect of the coplanarity or non-coplanarity between the camera planes and the leaves in terms of precision and accuracy. In this study, the precision of the leaf area values obtained in the *Eichhornia crassipes* plant was evaluated, using two non-destructive methodologies with image processing in Image J software. Subsequently, the accuracy is evaluated in the non-destructive methodology showing less variability in the results. Method 1 does not present a rigorous control between planes, while methodology 2 uses a device to guarantee coplanarity. As references, an image processing system and printed elliptical figures of known area built with AutoCAD software were used. The results show with a confidence level of 95% the same level of precision between the reference image processing system and methodology 2, which turned out to be the most accurate. Regarding the accuracy, evaluated through the confidence limits for the slope and intercept of curve calibration parameters, a statistically similar behavior was obtained between method 2 and the AutoCAD software, and the same differences between methodology/referents and referent/referrer.

Keywords: accuracy; methodologies; precision; image processing; software

Efeito da coplanaridade entre a câmera e A folha para determinar A área foliar em Eichhornia crassipes com imagens digitais

Resumo: as metodologias não destrutivas utilizadas para determinar área foliar mediante capturas fotográficas e posterior processamento vêm tendo importante recebimento em diversas disciplinas. Contudo, são escassos os estudos que validam, em termos de precisão e exatidão, o efeito da coplanaridade ou da não coplanaridade entre os planos da câmera e da folha. Neste estudo, foi avaliada a precisão dos valores de área foliar obtidos na planta *Eichhornia crassipes*, utilizando duas metodologias não destrutivas com processamento de imagem no *software* Image J. Em seguida, foi avaliada a exatidão na metodologia não destrutiva que apresentou menor variabilidade dos resultados. A metodologia 1 não apresenta um controle rigoroso entre os planos, enquanto a metodologia 2 utiliza um dispositivo para garantir coplanaridade. Como referentes, foram utilizados um sistema de processamento de imagem e figuras elípticas impressas de área conhecida construídas com o *software* AutoCAD. Os resultados mostram um nível de confiança de 95 %, o mesmo nível de precisão entre o referente sistema de processamento de imagem e a metodologia 2, que, por sua vez, resultou ser a mais precisa. Quanto à exatidão, avaliada pelos limites de confiança para os parâmetros pendente e intercepto de curvas de calibração, foi obtido comportamento estatisticamente similar entre a metodologia 2 e o *software* AutoCAD, e as mesmas diferenças entre metodologia e referentes e referente e referente.

Palavras-chave: exatidão; metodologias; precisão; processamento de imagem; *software*

Introducción

El área foliar es un parámetro muy importante y ampliamente utilizado en el estudio del desarrollo de las plantas, se emplea como indicador de procesos morfológicos y fisiológicos complejos que dependen de la actividad fotosintética, la respiración, la división celular, la elongación, la diferenciación, entre otros. La superficie foliar que contiene una planta se relaciona directamente con la cantidad de luz que esta puede recolectar, también refleja el estado nutricional y el estrés ambiental de su entorno [1].

Existen diferentes metodologías para determinar el área foliar. En términos generales, han sido clasificadas en destructivas y no destructivas. Las primeras requieren de la erradicación de las hojas para ser posteriormente analizadas en un escáner y procesadas en un software para determinar su área foliar [2]-[5]. Entre las principales ventajas de los métodos destructivos, se encuentran la facilidad para obtener una imagen completamente plana de la hoja y la reproducibilidad de la misma al encontrarse el sistema óptico del escáner y las hojas en similares condiciones[3]-[4]. En contraste, con los métodos no destructivos las hojas se estudian directamente en la planta aplicando modelos matemáticos, escaneo o procesamiento de imagen [6]; generalmente, las hojas son ubicadas entre dos láminas para asegurar la extensión completa de la hoja y se emplea un patrón de longitud para calibrar la imagen [7]-[9]. Esta metodología presenta dos ventajas: la versatilidad de disminuir los daños y alteraciones sobre la vegetación objeto de estudio, y la capacidad para seguir la evolución de las hojas sobre una misma planta durante sus fases de crecimiento y desarrollo.

Respecto a métodos de procesamiento de imagen para el análisis de imágenes de tipo biológico, el software *Image J* goza de gran popularidad y aceptación en la comunidad científica [8]. Específicamente, en la medición de área foliar, el software *Image J* permite calcular áreas con gran precisión a partir de imágenes generadas en cámaras fotográficas o escáneres. En ese sentido, esta herramienta

informática se ha aplicado tanto en métodos destructivos como en no destructivos.

Si bien la implementación de técnicas de procesamiento de imagen para la medida de área foliar se ha extendido ampliamente por su facilidad de manejo y bajo costo, no se encuentran reportes en la literatura acerca del efecto de la coplanaridad entre la cámara fotográfica y las hojas sobre la precisión y la exactitud en metodologías no destructivas. En otras palabras, es importante evaluar estadísticamente la confiabilidad de los resultados experimentales para conocer sus alcances y limitaciones.

Con base en lo anterior, se planteó como objetivo la evaluación estadística de la coplanaridad entre la cámara fotográfica y hojas de *Eichhornia crassipes* sobre la medida de área foliar, aplicando dos metodologías no destructivas con procesamiento de imagen. La evaluación de la confiabilidad de las dos metodologías no destructivas permitirá monitorear el impacto que sobre esta planta producen algunas condiciones de estrés ambiental, provocadas por la presencia de metales pesados durante procesos de bioacumulación de contaminantes.

Materiales y métodos

Instrumentos y equipos

Medidor de área foliar especializado constituido por una unidad de procesamiento de imagen: software WinFolia (Regent Instruments Inc. 2007) y escáner gráfico Epson Expression 11000XL, resolución 2400 ppp x 4800 ppp; profundidad de color: entrada 16 Bits Color / 16 Bits Monocromo, salida 48 Bits Color / 48 Bits Monocromo. Cámara fotográfica de celular Samsung Galaxy J5, sensor CMOS, resolución 13 MP. Gabinete CAMAG® (uv Cabinet 4) adaptada para controlar la intensidad de luz, la distancia y la coplanaridad entre la cámara del celular y la hoja objeto de estudio (Figura 1). Un par de láminas acopladas de 2mm de espesor de 35 x 35 cm con una regla en su interior, una de acrílico antirreflejo color cristal y otra de poliestireno color rojo.

Software

Software libre *Image J*. Software Autodesk AutoCAD 2016 versión 21.1. Software IBM SPSS Statistics 24. Software Microsoft Excel 2016. Programa de procesamiento de imágenes de fácil manejo con código abierto para figuras multidimensionales científicas que utiliza macros y plug-ins [10].

Material vegetal

Se empleó la planta acuática *Eichhornia crassipes*, por ser una especie de interés para los autores, debido a su rápido crecimiento y tolerancia (considerada especie invasora de sistemas acuáticos lénticos), su fácil adaptación en ambientes altamente contaminados y en particular su capacidad para acumular metales pesados como plomo, zinc, cadmio, cobre, cromo, níquel, hierro, entre otros [11]-[16].

Se colectaron ejemplares de la planta acuática flotante *E. crassipes* de distinto tamaño (en estado adulto y juvenil), en un cuerpo de agua léntico local, ubicado en el municipio de Paipa, Departamento de Boyacá (Colombia), coordenadas 5°46'14»N y 73°8'30»W. Los ejemplares fueron ubicados en recipientes previamente acondicionados en los laboratorios de la Facultad de Ciencias e Ingeniería de la Universidad de Boyacá.

Determinación de área foliar en *E. crassipes* aplicando dos metodologías no destructivas

Captura de imágenes foliares de *E. crassipes*

Para la obtención de imágenes digitales de hojas de *E. crassipes* se empleó una cámara fotográfica de celular Samsung Galaxy J5. En la metodología 1, la captura fotográfica se realizó sin un control riguroso de la distancia y la coplanaridad entre la cámara fotográfica y la hoja, empleando un medidor de área foliar artesanal constituido por una lámina de acrílico antirreflejo color cristal y otra lámina de poliestireno

color rojo, ambas de 2mm de espesor, de 35 cm de ancho y 35 cm de alto. La hoja expandida se insertó entre las dos láminas junto a un patrón de longitud (regla), y se tomó una fotografía con la cámara en posición vertical por encima del medidor. En la metodología 2, se empleó un dispositivo previamente adaptado para controlar la distancia y coplanaridad entre la cámara y la hoja (gabinete CAMAG®, UV Cabinet 4, soportado sobre un marco metálico). En el soporte se introdujo la planta, la hoja objeto de estudio entró al gabinete por un orificio ubicado en la parte inferior. Esta se encerró por debajo con un par de láminas de acrílico con acabado blanco mate que se cierran completamente, y por encima con una lámina de vidrio transparente de 3 mm que tiene adherida una regla de acetato. La imagen de la hoja se obtuvo de la cámara fotográfica que se encuentra en la parte superior del gabinete una vez cerrado e iluminado con lámparas LED. La Figura 1 ilustra las principales características del dispositivo.

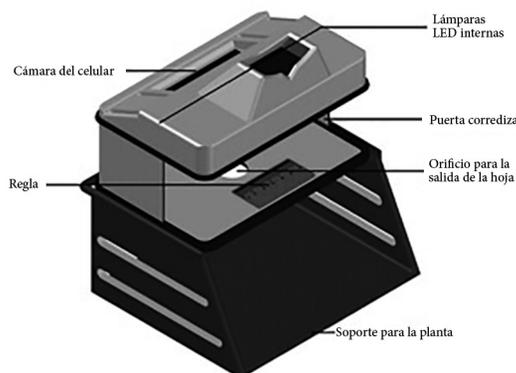


Figura 1. Render del dispositivo empleado para la captura de las imágenes de las hojas de *E. crassipes* bajo un control de distancia, coplanaridad e intensidad de luz.

Fuente: elaboración propia.

Procesamiento de imágenes digitales

Se efectuó en las dos metodologías la misma técnica de procesamiento de imágenes con el software *Image J*. Una vez seleccionada la imagen foliar, se realizó el ajuste de escala con la herramienta *straight*, trazando un segmento de línea entre 5 a 10 cm de longitud sobre la regla empleada en cada caso, luego se ingresó dicha magnitud en *unit of length*

y en *know distance* desde la herramienta *analyse* opción *set scale*. Posteriormente, se empleó la herramienta *wand* para ajustar la tolerancia a un nivel de 80 (*tolerance*), y con la misma herramienta se seleccionó la imagen foliar para determinar en cm² su área, utilizando la herramienta *analyse* opción *measure*.

Evaluación de la precisión en la medida de área foliar de *E. crassipes* aplicando dos metodologías no destructivas

Se tomaron 4 ejemplares de *E. crassipes* de distinto tamaño y al azar se eligió una hoja por cada ejemplar. Se tomaron 20 fotografías de cada hoja, 10 fotografías aplicando la metodología 1 y 10 fotografías con la metodología 2, para un total de 80 determinaciones de área foliar. Se aplicó el test de Kolmogorov - Smirnov con el software IBM SPSS Statistics 24, para garantizar la normalidad sobre cada conjunto de datos. Posteriormente, se realizó la prueba *F* entre varianzas ponderadas para cada metodología, para establecer diferencias estadísticamente significativas entre sus valores de precisión. Todas las pruebas estadísticas aplicadas en este estudio se realizaron al 95% de confianza. La metodología más precisa fue seleccionada para continuar en el estudio.

Comparación de la precisión en la medida de área foliar entre el equipo especializado y la metodología no destructiva más precisa

Se tomaron los mismos 4 ejemplares de la planta *E. crassipes* de la sección anterior. Para cada hoja, se realizaron 10 medidas de área foliar en el equipo especializado. Se aplicó el test de Kolmogorov-Smirnov para garantizar la normalidad en ese conjunto de datos. Posteriormente, se realizó la prueba *F* entre varianzas ponderadas de área foliar para la metodología no destructiva más precisa y un equipo especializado (unidad de procesamiento de imagen: un escáner Epson Expression 11000XL y software WinFolia).

Evaluación de la exactitud de la metodología no destructiva más precisa

A partir de los valores de área foliar obtenidos en *Eichhornia crassipes*

Se tomaron 4 ejemplares de la planta *E. crassipes* de distinto tamaño y se determinó el área foliar de cada una de las hojas allí contenidas con la metodología no destructiva más precisa y el equipo especializado. Los valores de área foliar obtenidos para el conjunto de hojas aplicando dichas metodologías fueron correlacionados con el método de mínimos cuadrados. Al 95% de confianza, se realizó un análisis de varianza (Anova) de la regresión y se determinó el coeficiente de correlación y los límites de confianza para intercepto y pendiente utilizando el software Microsoft Excel 2016. También se estimó el error relativo promedio y su desviación estándar.

A partir de los valores de área obtenidos en imágenes impresas y elaboradas en AutoCAD

En primera instancia se realizó un experimento para conocer si la precisión en la medida de área se encuentra alterada por el proceso de impresión de imágenes, y de esta manera descartar dichas influencias sobre la evaluación de la exactitud. En ese sentido, se construyeron con el software AutoCAD cuatro elipses de color verde en fondo blanco de distinta área (aproximadamente 6, 20, 34 y 48 cm²), y por cada elipse se generaron diez impresiones. Se midió el área de cada una de las cuarenta imágenes con la metodología propuesta más precisa, y su varianza ponderada fue contrastada, mediante prueba *F* con la varianza ponderada obtenida en la misma metodología para área foliar de *E. crassipes*.

Posteriormente, con el software AutoCAD, utilizado en la generación de diseños con un alto nivel de exactitud y como punto de referencia para el estudio de superficies, diseño de dispositivos y piezas mecánicas [17]-[20], se construyeron diez

elipses de color verde en fondo blanco de área conocida (aproximadamente 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 y 50 cm²), y por cada elipse se generó una impresión. Se midió el área de cada una de las diez imágenes con la metodología propuesta más precisa y sus valores fueron correlacionados aplicando el método de mínimos cuadrados [15]. Al 95% de confianza, se realizó un Anova de la regresión y se determinó el coeficiente de correlación y los límites de confianza para intercepto y pendiente. También se estimó el error relativo promedio y su desviación estándar.

Comparación entre los valores de área obtenidos con los referentes

Las áreas de las diez imágenes impresas construidas con el software AutoCAD en el apartado anterior fueron medidas en el equipo especializado de área foliar. Sus valores fueron correlacionados aplicando el método de mínimos cuadrados. Al 95% de confianza, se determinó el coeficiente de correlación y los límites de confianza para intercepto y pendiente. También se estimó el error relativo promedio y su desviación estándar asumiendo

como punto de referencia las imágenes impresas desarrolladas en AutoCAD.

Resultados y discusión

Evaluación de la precisión en la medida de área foliar de *E. crassipes* aplicando dos metodologías no destructivas

Como se muestra en la Tabla 1, se encontró para el conjunto de experimentos de cada metodología un nivel de significancia mayor o igual a 0,05 en la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Esto indica que los resultados de área foliar obtenidos se distribuyen normalmente. La varianza ponderada calculada para la metodología 1 fue de 6,75 cm⁴ y de 0,015 cm⁴ para la metodología 2. De estos dos valores se obtiene un valor experimental para *F* de 459,9; muy superior al valor crítico ($F_{crítica(36/36)} = 1,78$). Se infiere que las dos metodologías presentan diferencias estadísticamente significativas respecto a sus valores de precisión, y la metodología 2 es la más precisa.

Tabla 1. Significancia de la prueba de Kolmogorov-Smirnov, promedio y varianza obtenida para los valores de área foliar aplicando dos metodologías no destructivas

Hoja		Significancia (Kolmogorov-Smirnov)	Promedio (cm ²)	Coefficiente de variación (%)	Varianza (cm ⁴)
1	Metodología 1	0,200	26,1	11,5	9,0
	Metodología 2	0,145	24,653	0,6	0,019
2	Metodología 1	0,153	23,8	9,4	5,0
	Metodología 2	0,200	21,156	0,6	0,014
3	Metodología 1	0,200	31,3	6,4	4,0
	Metodología 2	0,060	31,255	0,4	0,019
4	Metodología 1	0,200	20,1	14,9	9,0
	Metodología 2	0,200	16,653	0,5	0,006
Valores medios	Metodología 1				6,75
	Metodología 2				0,015

Fuente: elaboración propia.

La alta variabilidad encontrada en la metodología 1, cuyos coeficientes de variación son considerablemente mayores cuando son comparados con los

valores registrados para la metodología 2 (ver Tabla 1), es el resultado de los diferentes ángulos de inclinación que se presentan entre el plano de la cámara

y el plano de la hoja en cada fotografía, y como anteriormente se había indicado, en esta primera metodología no se consideró el control de dicha variable, situación que llevó a generar imágenes distintas de un mismo objeto o muestra. La alta variabilidad

encontrada en la metodología 1, cuyos coeficientes de variación oscilan entre el 6,4 y el 14,9%, se explica por los diferentes ángulos que se presentan entre el plano de la cámara y el plano de la hoja en cada fotografía, generando así imágenes distintas.

Comparación de la precisión en la medida de área foliar entre el equipo especializado y la metodología no destructiva más precisa

Tabla 2. Significancia de la prueba de Kolmogorov-Smirnov, promedio y varianza obtenida para los valores de área foliar utilizando el equipo especializado.

Hoja	Significancia (Kolmogorov-Smirnov)	Promedio (cm ²)	Coefficiente de variación (%)	Varianza (cm ⁴)
1	0,200	26,205	0,3	0,006
2	0,151	22,367	0,4	0,007
3	0,053	32,374	0,6	0,035
4	0,114	17,455	0,8	0,021

Fuente: elaboración propia.

Respecto a los valores de significancia presentados en la Tabla 2, se puede inferir que los resultados de área foliar obtenidos en el medidor especializado se distribuyen normalmente. La varianza ponderada obtenida para la medida de área foliar en este equipo fue de 0,017 cm⁴, valor muy cercano al obtenido en la metodología 2 (0,015 cm⁴). De allí se obtiene un valor experimental para *F* de 1,17, que es numéricamente inferior al valor crítico ($F_{crítica(36/36)} = 1,78$). Con base en lo anterior, se infiere que no se presentan diferencias estadísticamente significativas respecto a la precisión en la medida de área foliar para la metodología 2 y el equipo especializado, ofreciendo la misma confiabilidad en los resultados sin la necesidad de destruir la planta. Por otra parte, los resultados obtenidos concuerdan con los reportados por Saucedo-Acosta *et al.* [22], respecto a los valores en los coeficientes de variación para las áreas de siete figuras geométricas comprendidas entre 0,89 y 24,86 cm², cuyas imágenes fueron tomadas con una cámara digital Fujifilm® modelo Finepix Z20fd y procesadas en el software Macf-IJ (metodología destructiva). En dicho estudio se reportan coeficientes de variación en el rango de 0,69% a 1,81%.

Evaluación de la exactitud de la metodología no destructiva más precisa

A partir de los valores de área foliar obtenidos en *Eichornia crasippes*

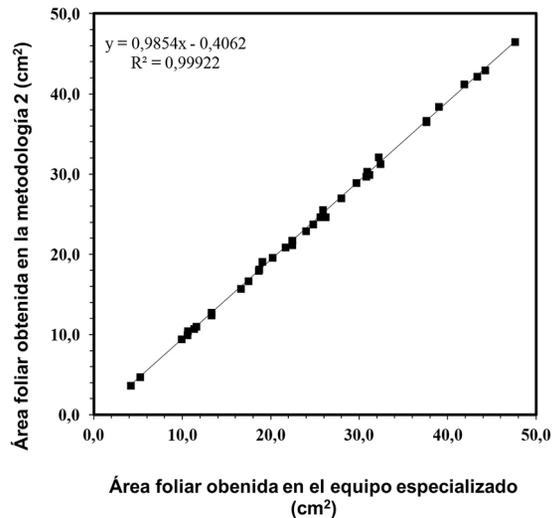


Figura 2. Recta de regresión para comparar los valores de área foliar obtenidos en la metodología 2 y en el equipo especializado.

Fuente: elaboración propia

La Figura 2 muestra el comportamiento presentado para la medida de área foliar usando la metodología 2 y el equipo especializado en 40 hojas de *E. crasippes* provenientes de los cuatro ejemplares estudiados. Con una confianza del 95%, se encontraron los siguientes límites de confianza para intercepto: -0,655 – -0,158, y para pendiente: 0,976 – 0,995.

Si bien existe buena correlación entre las dos metodologías, se observa que el intercepto no logra pasar por 0, ni la pendiente por 1, aunque los parámetros se encuentran muy cerca de estos valores. Esto indica que la medida de área foliar realizada con la metodología 2 requiere de la aplicación de un factor de corrección (la ecuación de la recta indicada en la Figura 2). El error relativo promedio fue de $3,7 \pm 2,2\%$ para el conjunto de datos experimentales ($n=38$). Por último, se encontró para F un valor de 45924 en el Anova de la regresión. Lo anterior indica que la pendiente presenta un valor estadísticamente diferente de 0, mostrando que es significativa la regresión.

A partir de los valores de área obtenidos en imágenes impresas y elaboradas en AutoCAD

Tabla 3. Promedio y varianza obtenida en la medida de área de las cuatro imágenes impresas y elaboradas con el software AutoCAD utilizando la metodología 2.

Área de la imagen (cm ²)	Promedio (cm ²)	Varianza (cm ⁴)
5,712	5,389	0,002
20,848	20,898	0,015
33,858	34,119	0,051
48,248	48,760	0,019

Fuente: elaboración propia.

La Tabla 3 presenta los valores de área obtenidos para la medida de las imágenes impresas usando la metodología 2. La varianza ponderada del área obtenida fue de 0,022 cm⁴. Al efectuar la razón entre esta varianza ponderada y la encontrada en hojas de *E. crasippes* (0,015 cm²), se obtiene un valor de 1,48 para F experimental, menor que

el valor crítico ($F_{\text{crítica (36/36)}} = 1,78$). De esta manera, se infiere que la impresión de las imágenes no afecta la precisión en los valores de área, ya que se obtuvo la misma dispersión en la medida tanto con hojas de *E. crasippes* como con imágenes elípticas impresas.

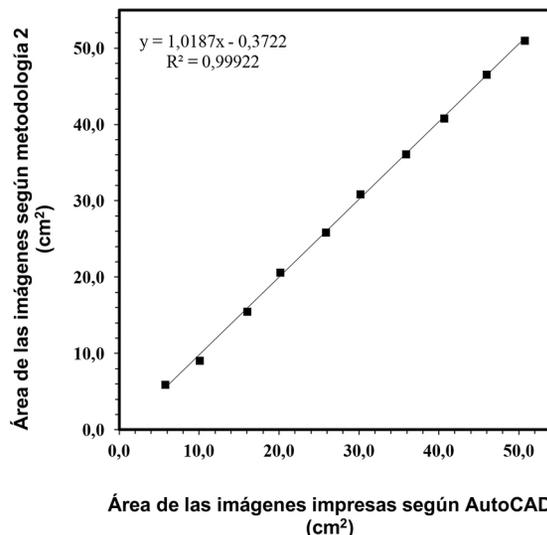


Figura 3. Recta de regresión para comparar los valores de área obtenidos con la metodología 2 y el área presentada por el software AutoCAD.

Fuente: elaboración propia.

En la Figura 3 se presenta, para las diez imágenes elípticas e impresas, la correlación de áreas entre la metodología 2 (variable dependiente) y la estimada por el software AutoCAD (variable independiente). Con una confianza del 95%, se encontraron los siguientes límites de confianza para intercepto: -1,108 – 0,363, y para pendiente: 0,995 – 1,042. En este caso, el intercepto es estadísticamente igual a 0 y la pendiente igual a 1. Esto significa que los valores de área generados en las imágenes con el software AutoCAD son estadísticamente iguales a los obtenidos con la metodología 2, es decir, que el método propuesto es exacto respecto al punto de referencia considerado. El error relativo promedio fue de $2,5 \pm 2,7\%$ para el conjunto de datos experimentales ($n=10$). El Anova de la regresión generó un valor para F de 10193 y, del mismo modo que en apartado anterior, se encuentra una regresión estadísticamente significativa.

Comparación entre los valores de área obtenidos con los referentes

La Figura 4 presenta la relación encontrada en cuanto a los valores de área de las imágenes impresas generados por los dos referentes. Con una confianza del 95%, se encontraron los siguientes límites de confianza para intercepto: $-0,457 - 0,582$, y para pendiente: $1,014 - 1,047$. En este caso se observa que el intercepto pasa por el origen, pero la pendiente no logra pasar por 1, si bien se encuentra muy cerca de este valor. De allí no es posible aseverar estadísticamente la igualdad entre los puntos de referencia empleados. El error relativo obtenido fue de $3,9 \pm 2,7\%$ ($n=10$).

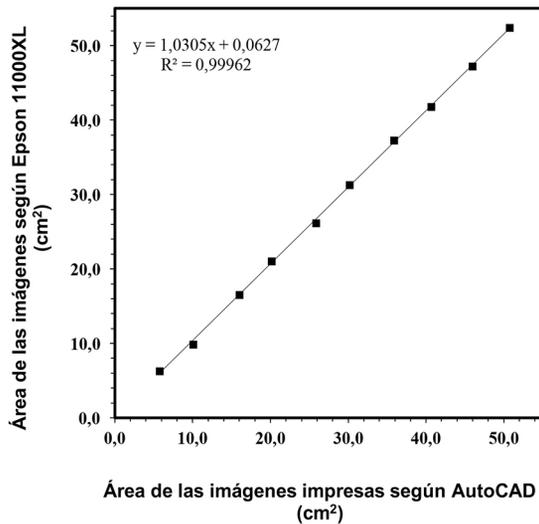


Figura 4. Recta de regresión para comparar los valores de área obtenidos con el equipo especializado y el área presentada por el software AutoCAD.

Fuente: elaboración propia.

En la Tabla 4 se muestra un resumen comparativo de resultados para los límites de confianza de pendiente y error relativo promedio obtenidos en la metodología 2 y en los dos referentes. Como se puede observar, existe una mayor diferencia entre referente – referente y metodología 2 – referentes. Ante este comportamiento, y teniendo en cuenta que los valores de área obtenidos con la metodología 2 son estadísticamente iguales a los generados por el software AutoCAD, cabe esperar que la

metodología no destructiva puede ser empleada confiablemente sin la necesidad de aplicar algún factor de corrección.

Tabla 4. Comparación entre los límites de confianza para pendiente y error absoluto obtenidos en las tres curvas de calibración realizadas

Método evaluado	Método de referencia	Límites de confianza para pendiente	Error relativo promedio (%)
Metodología 2	Equipo especializado	0,976 - 0,995	$3,7 \pm 2,2$
Metodología 2	AutoCAD	0,995 - 1,042	$2,5 \pm 2,7$
Equipo especializado	AutoCAD	1,014 - 1,047	$3,9 \pm 2,7$

Fuente: elaboración propia.

Conclusiones

Los resultados obtenidos de área foliar demuestran que no es confiable aplicar metodologías no destructivas sin garantizar coplanaridad entre la superficie de la hoja y la cámara fotográfica, debido a la alta variabilidad que se presenta. En este estudio se encontraron, para la metodología 1, coeficientes de variación entre 6,4 y 14,9 %. En la metodología 2, por su parte, se obtuvo con un 95% de confianza, la misma dispersión obtenida en el equipo especializado, cuyo coeficiente de variación promedio se encuentra en 0,5%. Respecto a la exactitud, se encontró una mayor diferencia en los límites de confianza para pendiente y error relativo promedio entre los referentes equipo especializado con AutoCAD, que entre metodología 2 con equipo especializado y metodología 2 con AutoCAD. Con base en lo anterior, y teniendo en cuenta que los resultados de área obtenidos para el sistema metodología 2–AutoCAD son estadísticamente iguales, se deduce que la metodología 2 puede emplearse sin necesidad de aplicar algún factor de corrección. En términos de costo, de facilidad de operación y de no destrucción de la planta, la aplicación de la metodología 2 presenta múltiples ventajas respecto al equipo especializado.

Agradecimientos

El Grupo de Investigación Núcleo agradece a la Universidad de Boyacá por la financiación de este trabajo en el marco del proyecto “Evaluación del potencial fitorremediador de la planta acuática *Eichhornia crassipes* (Mart. Solms) para el tratamiento de aguas contaminadas con Cadmio”. También agradece a la Doctora María Eugenia Morales Puentes, Directora del Herbario de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, por su colaboración durante el desarrollo del presente trabajo.

Referencias

- [1] S. Castillo, M. Zaragoza, J. Alvarado, G. Barrera y N. Dasgupta-Schubert. (2014). “Using the conservative nature of fresh leaf surface density to measure foliar area”, *Int Agrophys.* [Internet]. Vol. 28, n.º 4, pp. 413-421. doi: 10.2478/intag-2014-0032
- [2] Z. Lu *et al.* (2016). “Differences on photosynthetic limitations between leaf margins and leaf centers under potassium deficiency for *Brassica napus* L”. *Sci Rep.* [Internet]. Nól. 6, n.º 21725. doi: 10.1038/srep21725
- [3] W. Ocheltree, B. Nippert y V. Prasad. (2016). “A safety vs efficiency trade-off identified in the hydraulic pathway of grass leaves is decoupled from photosynthesis, stomatal conductance and precipitation”, *New Phytol.* [Internet]. Vol. 210, n.º 1, pp. 97–107. doi: 10.1111/nph.13781
- [4] S. Ranjit, P. Manish y S. Penna. (2016). “Early osmotic, antioxidant, ionic, and redox responses to salinity in leaves and roots of Indian mustard (*Brassica juncea* L.)”, *Protoplasma.* [Internet]. Vol. 253, n.º 1, pp. 101–110. doi: 10.1007/s00709-015-0792-7
- [5] Y. Wu *et al.* (2016). “Responses to shade and subsequent recovery of soya bean in maize-soya bean relay strip intercropping”, *Plant Prod Sci.* [Internet]. Vol.19, n.º2, pp.1-9, 2016. doi:0.1080/1343943X.2015.1128095
- [6] F. Sala, G. Arsene, O. Iordănescu y M. Boldea. (2015). “Leaf area constant model in optimizing foliar area measurement in plants: A case study in apple tree”, *Sci Hort.* [Internet]. Vol. 193, pp. 218–224. doi: 10.1016/j.scienta.2015.07.008
- [7] S. Sullivan, J. Petersen, L. Blackwood, M. Papanatziou y J. Christie (2016). “Functional characterization of *Ostreococcus tauri* phototropin”, *New Phytol.* [Internet]. Vol. 209, n.º 2, pp. 612–623. doi: 10.1111/nph.13640
- [8] K. Tondjo *et al.* (2015). “Non-destructive measurement of leaf area and dry biomass in *Tectona grandis*”, *Trees.* [Internet]. Vol. 29, pp. 1625-1631. doi: 10.1007/s00468-015-1227-y
- [9] S. Weraduwege *et al.* (2015). “The relationship between leaf area growth and biomass accumulation in *Arabidopsis thaliana*”, *Front Plant Sci.* [Internet]. Vol. 6, n.º 167. doi: 10.3389/fpls.2015.00167
- [10] C. Schneider, W. Rasband y K. Eliceiri. (2012). “NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis”, *Nat Methods.* [Internet]. Vol. 9, pp. 671–675. doi:10.1038/nmeth.2089
- [11] A. Covarrubias y J. Peña. (2017). “Contaminación ambiental por metales pesados en México: problemática y estrategias de fitorremediación”, *Rev Int Contam Amb.* [Internet]. Vol. 33, pp. 7-21. doi: 10.20937/RICA.2017.33.esp01.01
- [12] V. Guna, M. Ilangovan, A. Prasad y N. Reddy. (2017). “Water Hyacinth: a unique source for sustainable materials and products”, *ACS Sustain Chem Eng.* [Internet]. Vol. 5, n.º 6, pp. 4478–4490. doi: 10.1021/acssuschemeng.7b00051
- [13] K. Mishra y D. Tripathi. (2008). “Concurrent removal and accumulation of heavy metals by the three aquatic macrophytes”, *Bioresour Technol.* [Internet]. Vol. 99, n.º 15, pp. 7091-7097. doi: 10.1016/j.biortech.2008.01.002
- [14] V. Pandey. (2016). “Phytoremediation efficiency of *Eichhornia crassipes* in fly ash pond”, *Int J Phytoremediation.* [Internet]. Vol. 18, n.º 5, pp. 450-452, 2016. doi:10.1080/15226514.2015.1109605
- [15] N. Singh, A. Raghubanshi, A. Upadhyay y U. Rai. (2016). “Arsenic and other heavy metal accumulation in plants and algae growing naturally in contaminated area of West Bengal, India”, *Ecotoxicol Environ Saf.* [Internet]. Vol. 30, pp. 224-33. doi: 10.1016/j.ecoenv.2016.04.024
- [16] S. Tiwari, S. Dixit y N. Verma. (2007). “An effective means of biofiltration of heavy metal contaminated water bodies using aquatic weed *Eichhornia crassipes*”, *Environ Monit Assess.* [Internet]. Vol. 129, pp. 253–256. doi: 10.1007/s10661-006-9358-7
- [17] S. Li. (2014). “Design and strength analysis methods of the trochoidal gear reducers”, *Mech Mach Theory.* [Internet]. Vol. 81, pp. 140-154. doi: 10.1016/j.cad.2014.06.013
- [18] D. Manrique, M. Al-Hussein, A. Bouferguene y R. Nasser. (2015). “Automated generation of shop

- drawings in residential construction”, *Autom in Const.* [Internet]. Vol. 55, pp. 15-24. doi: doi.org/10.1016/j.autcon.2015.03.004
- [19] Q. Qi, P. Scott, X. Jiang y W. Lu. (2014). “Design and implementation of an integrated surface texture information system for design, manufacture and measurement”, *Comput Aided Des.* [Internet]. Vol. 57, pp. 41-53. doi: 10.1016/j.mechmachtheory.2014.07.001
- [20] J. Yoon, H. Kwon, B. Kim y J. Lee. (2015). “Development of a service platform for sensitization of manufacturing-related activities to use 3D CAD data”, *Procedia CIRP.* [Internet]. vol. 30, pp. 90-95. doi: 10.1016/j.procir.2015.02.108
- [21] N. Miller y C. Miller, *Estadística y quimiometría para química analítica*, Madrid: Pearson Educación S.A., 2002.
- [22] C. Saucedo-Acosta *et al.* (2017). “Macf-Ij, método automatizado para medir color y área foliar mediante imágenes digitales”, *Agrociencia.* [Internet]. Vol. 51, n.º 4, pp. 409-423. Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/agro/v51n4/1405-3195-agro-51-04-00409.pdf>