

Análisis de imagen digital para el estudio del efecto de tratamientos agronómicos en la apariencia de acelga baby (*Beta vulgaris* L. *cicla*)

Área de Investigación en Alimentos y Nutrición, Universidad de Sevilla, España
Departamento de Ciencias Agrícolas, Universidad de Sevilla, España

¹Lab. Color y Calidad de Alimentos. Universidad de Sevilla. Fac. Farmacia, 41012 Sevilla, España

²Department of Agricultural and Environmental Sciences, Università degli Studi di Milano, Milan, Italy

maria.garcia@univ-sevilla.es

Resumen: La acelga baby (Swiss chard *Beta vulgaris* L. *cicla*) es una verdura comestible con propiedades biofuncionales por su alto contenido en flavonoides, ácidos fenólicos y betalainas. Mediante estrategias agronómicas es posible modular la biosíntesis de estos compuestos. En este trabajo se ha utilizado el equipo de análisis de imagen DigiEye para la caracterización colorimétrica y morfológica de las variedades Jupiter F1, Rhubarb Chard Sirio y Toro Rosso. La evaluación multiparamétrica ha permitido diferenciar las variedades Jupiter F1 y Rhubarb Chard, las cuales presentan visualmente una gran similitud. Además, se ha estudiado para cada una de las tres variedades los efectos que tienen en su apariencia la aplicación de tratamientos agronómicos como estrés hídrico, aplicación de ácido salicílico y la combinación de ambos respecto a un cultivo control. Los resultados confirman que el análisis de imagen es una poderosa herramienta para la caracterización de este tipo de verdura y sugieren la continuación del estudio a través de análisis químicos.

1. Introducción

La acelga baby (Swiss chard *Beta vulgaris* L. *cicla*) es una verdura de hoja comestible cultivada tradicionalmente en Europa y de gran consumo en distintas partes del mundo, muy apreciada por su valor culinario, dietético y potencial beneficio en la salud humana asociado con su consumo en la dieta[1]. Debido a que contienen una gran cantidad de nutrientes y fitoquímicos responsables de numerosas propiedades biofuncionales, las hojas y los tallos de las acelgas baby son consideradas alimentos funcionales y fuentes saludables de consumo alternativas a otros vegetales como las espinacas y el apio[2]. Además, debido a su carácter halófito (gran resistencia a la salinidad), presentan una mayor acumulación de fitonutrientes como flavonoides, ácidos fenólicos y betalainas, metabolitos secundarios sintetizados por la planta como respuesta a condiciones de estrés ambiental[3]. Estos compuestos no son solo responsables de su valor nutritivo y propiedades antioxidantes, sino también de atributos organolépticos como el color. Las distintas variedades de acelgas baby se pueden distinguir por su coloración, cultivándose tanto variedades verdes como rojas, estas últimas con una mayor acumulación de betalainas en las hojas[4].

En la actualidad, existe un interés por el consumo de alimentos con características nutricionales superiores, tanto en cultivos tradicionales como en la introducción de nuevas especies vegetales. En ese sentido, se ha demostrado que la aplicación del estrés hídrico moderado y la bioestimulación son estrategias agronómicas útiles para activar el metabolismo secundario de las plantas e incrementar así la concentración de compuestos bioactivos en los alimentos vegetales, lo cual se ve reflejado en la apariencia y el color[5]. Sin embargo, la respuesta de la planta a estas estrategias puede ser distinta según la variedad y el tipo de metabolito secundario afectado. En particular, la aplicación de estrés ambiental controlado en plantas de acelgas baby ha sido poco estudiado en la actualidad, y su efecto real en la composición, valor nutritivo y color según la variedad no está aún establecido. Por tanto, el objetivo de este trabajo ha sido evaluar cambios en la apariencia y el color de hojas babys de acelgas sometidas a estrés hídrico controlado y bioestimulación con ácido salicílico, que pudiesen servir como herramientas de control de calidad para discriminar variedades según la mayor o menor respuesta al estrés ambiental.

* e-mail: maria.garcia@univ-sevilla.es

2. Material y Métodos

Se plantaron semillas de hojas de acelga baby (*Beta vulgaris* var. cicla) de las variedades Jupiter F1 (JF1), Rhubarb Chard Sirio (RCS) y Toro Rosso (TR) en un invernadero localizado en Milán (Italia) en condiciones medioambientales naturales (22-26 °C). Para ello, se utilizaron 16 macetas para cada variedad, y en cada maceta se plantaron 6 semillas. Diez días antes de la recolección de las hojas, las 16 macetas de cada variedad se dividieron en 4 lotes de 4 macetas y cada uno se sometió a un tratamiento: estrés hídrico (S), aplicación foliar de ácido salicílico (0.01 mM) (T), ambos tratamientos simultáneos (ST), y un control sin tratamiento alguno (C). Tras la recolección, se enviaron en fresco para el análisis de imagen. La captura de imágenes se realizó con el equipo DigiEye® (VeriVide Ltd.), que adquiere imágenes de 3872×2592 píxeles y donde en cada uno se codifica la información colorimétrica CIELAB en variables de 48 bits. En Rodríguez-Pulido y col. [6] se expone una descripción más detallada de este equipo. La Fig. 1 muestra un ejemplo de imágenes para cada una de las variedades. El proceso de segmentación y procesamiento de variables morfológicas y colorimétricas de cada hoja se realizó con MATLAB® R2020a (The MathWorks Inc.). El tratamiento estadístico se llevó a cabo con InfoStat 2020. En todas las medidas se utilizó el iluminante D65 y el observador estándar CIE 1964. Como blanco de referencia se utilizó el incluido en la carta de calibración DigiTizer del equipo.



Figura 1: Ejemplo de imágenes de hojas de acelga baby. De izquierda a derecha: Jupiter F1, Rhubarb Chard Sirio y Toro Rosso

De cada variedad y tratamiento se obtuvieron cuatro imágenes (replicados) con cinco hojas por imagen. Esto supuso un total de 240 hojas (3 variedades × 4 tratamientos × 4 replicados × 5 hojas). Las imágenes se tomaron únicamente por el anverso, ya que es la parte donde el color verde es más intenso y donde además se manifiestan nervios, ricos en betalaínas.

3. Resultados y discusión

Para identificar las hojas en las imágenes y como criterio de segmentación, se seleccionaron los píxeles cuyo cociente entre croma y claridad fuera mayor a 0.3. A esta máscara de segmentación inicial se le aplicaron transformaciones morfológicas para eliminar el peciolo, ya que fue cortado arbitrariamente durante el muestreo. A continuación, se programó un algoritmo que, de cada hoja, midiera las siguientes variables: L^* , a^* , b^* , C^*_{ab} , h_{ab} , heterogeneidad cromática expresada como media de las diferencias de color respecto el color medio (MCDM[7]), área (cm^2), perímetro (cm), circularidad ($4 \times \text{área} \times \pi / \text{perímetro}^2$), diámetro equivalente ($\sqrt{4 \times \text{área} / \pi}$), largo (cm), ancho (cm), relación de aspecto (largo/ancho), posición del centroide desde la base respecto la longitud de la hoja y porcentaje de área color rojo respecto el área total “Fig. 2”. Se utilizó la condición $a^* > 0$ para discriminar en la segmentación las zonas rojas (alta concentración en betalaínas) del resto de la hoja.

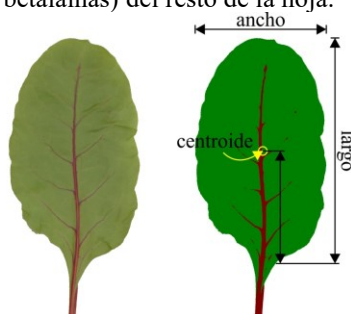


Figura 2: Imagen de una hoja de acelga baby, máscara de segmentación e indicación de algunos descriptores para la extracción de parámetros morfológicos.

En primer lugar, se evaluaron las características colorimétricas y morfológicas en las muestras control de las tres variedades estudiadas “Tabla 1”. Como era esperable, la variedad TR presentó grandes diferencias colorimétricas respecto a JF1 y RCS. Entre estas dos últimas, que eran prácticamente indistinguibles visualmente, se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) en claridad y croma, siendo los valores de RCS ligeramente superiores a JF1. Al comparar las características morfológicas, también las hojas TR mostraron más diferencias con JF1 y RCS que entre estas dos entre sí. Al comparar JF1 y RCS, se observó que las hojas JF1 fueron generalmente más grandes y redondeadas que RCS.

	Rhubarb Chard		
	Jupiter F1	Sirio	Toro Rosso
Área	41±10a	34±10b	15.6±4.1c
Perímetro	25.4±3.2a	24.6±3.8a	16.4±2.4b
Circularidad	0.784±0.029a	0.696±0.091a	0.723±0.044b
Diámetro Equiv	7.16±0.92a	6.51±0.99b	4.42±0.56c
Largo	9.8±1.2a	9.5±1.6a	5.88±0.93b
Ancho	5.66±0.86a	4.94±0.98b	3.78±0.52c
Relación de Aspecto	1.75±0.16a	1.96±0.37b	1.56±0.12c
Posición Centroide	0.515±0.010a	0.503±0.014ab	0.501±0.023b
Área roja (fracción)	0.085±0.014a	0.090±0.020a	0.999±0.005b
MCDM	9.2±1.6a	10.8±2.4b	5.1±1.2c
L*	52.9±2.4a	54.7±2b	35.3±1.9c
a*	-10.44±0.86a	-10.5±1.1a	14.6±1.5b
b*	33±1.5a	34.9±2.1b	8.1±1.4c
C* _{ab}	36.8±1.3a	38.7±1.8b	17.2±1.3c
h _{ab}	104±1.2a	104.6±1.4a	30.5±5.6b

Tabla 1: Medias y desviaciones estándar de los parámetros medidos por análisis de imagen en las muestras control de las tres variedades estudiadas. Medias con letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

Para cada variedad, se estudió qué repercusión tuvo cada uno de los tratamientos respecto las muestras control. La Tabla 2 muestra los parámetros en los que se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre algún par de tratamientos. Atendiendo solamente a parámetros morfológicos, solamente las hojas de JF1 sufrieron modificaciones. Los tratamientos S y T disminuyeron el área de hoja, siendo la disminución mayor cuando se combinaron (ST). En área, perímetro, largo, ancho y diámetro equivalente, los valores numéricos disminuyeron en este orden: C>T>S>ST. Respecto a los parámetros colorimétricos, cada variedad tuvo una respuesta diferente a los tratamientos agronómicos. Para JF1, solamente se encontraron diferencias respecto al control cuando se aplicaron los dos tratamientos de manera conjunta (ST), que conducían a valores menores de claridad, croma y heterogeneidad. Para RCS, se encontraron diferencias respecto el control solamente para el tratamiento S, que también produjo un descenso de claridad y croma. Por último y para la variedad TR, las diferencias mayores respecto el control se encontraron para el tratamiento T, que se manifestaron con un aumento de la claridad y la heterogeneidad. Solamente en la variedad TR se produjo una modificación del tono al aplicar tratamientos agronómicos. Tanto S como T produjo un aumento del tono, que fue más acentuado para las muestras T. Sin embargo, la combinación de ambos tratamientos causó un ligero descenso del tono, aunque sin diferencias significativas ($p < 0.05$).

Jupiter F1	C S T ST			
	Área	31.6±8.8bc	37.5±7.8ab	26.3±6.4c
Perímetro	25.4±3.2a	22.2±3bc	24.2±2.2ab	20.4±2.5c
Diámetro Equiv	7.16±0.92a	6.28±0.87bc	6.88±0.72ab	5.75±0.68c
Largo	9.8±1.2a	8.7±1.2bc	9.27±0.96ab	7.95±0.88c
Ancho	5.66±0.86a	4.96±0.84bc	5.52±0.81ab	4.53±0.65c
MCDM	9.2±1.6a	9.5±1.3ab	9.1±1.9ab	8±1.8b
L*	52.9±2.4a	53.7±2.5a	52.9±2.6a	50.4±3.3b
a*	-10.4±0.9a	-10.0±0.7ab	-10.6±1a	-9.5±1.3b
b*	33.0±1.5a	31.9±1.6ab	32.5±2.5ab	31.3±1.8b
C* _{ab}	36.8±1.3a	36±1.4ab	36.4±2.1ab	34.4±2b

Rhubarb Chard Sirio	L*	54.7±2ab	52.6±3.3b	55±3.1a	54.6±1.9ab
	a*	-10.5±1.1a	-9.4±1.4b	-10.5±1.2a	-10.1±1ab
	b*	34.9±2.1a	32.4±2.2b	33.9±2.1ab	33.8±2ab
	C* _{ab}	38.7±1.8a	36±2.3b	37.4±2.1ab	37.5±1.8ab
Toro Rosso	Área roja (fracción)	0.999±0.005ab	0.999±0.002a	0.991±0.019b	1.000±0.000a
	MCDM	5.1±1.2a	5.7±1.1ab	6.4±1.7b	4.87±0.72a
	L*	35.3±1.9a	36.8±1.5ab	38.2±2.6b	35.4±2a
	b*	8.1±1.4a	8.8±1.6ab	10.2±2.8b	7.6±1.8a
	h _{ab}	30.5±5.6a	33.1±6.8ab	38±11b	29.1±5.8a

Tabla 2: Efecto de tratamientos agronómicos en las propiedades de color y apariencia de las tres variedades estudiadas. Medias con letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

3. Conclusiones

En este trabajo se ha establecido la metodología para la evaluación de hojas de tres variedades de acelga baby mediante análisis de imagen. Se ha podido discriminar entre hojas de variedades Jupiter F1 y Rhubarb chard Sirio, las cuales poseen la misma apariencia visual. Además, y para cada variedad, se ha estudiado cómo afectan a su apariencia el estrés hídrico, el tratamiento con ácido salicílico y la combinación de ambos tratamientos, encontrándose resultados interesantes y postulándose el análisis de imagen digital como una poderosa herramienta para esta caracterización. La continuación del estudio pasaría por el análisis fisicoquímico de las muestras con el fin de profundizar en los fenómenos responsables de dichos cambios en el color y la apariencia.

Bibliografía

- [1] M. Gamba, P. F. Raguindin, E. Asllanaj, F. Merlo, M. Glisic, B. Minder, W. Bussler, B. Metzger, H. Kern, et al., "Bioactive compounds and nutritional composition of Swiss chard (*Beta vulgaris* L. var. *cicla* and *flavescens*): a systematic review," *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, **61**, pp. 3465–3480 (2021).
- [2] Z. Mzoughi, H. Chahdoura, Y. Chakroun, M. Cámara, V. Fernández-Ruiz, P. Morales, H. Mosbah, G. Flamini, M. Snoussi, et al., "Wild edible Swiss chard leaves (*Beta vulgaris* L. var. *cicla*): Nutritional, phytochemical composition and biological activities," *Food Res. Int.*, **119**, pp. 612–621 (2019).
- [3] L. Barros, P. Morales, A. M. Carvalho, I. C. F. R. Ferreira, "Antioxidant Potential of Wild Plant Foods," in *Mediterr. Wild Edible Plants Ethnobot. Food Compos. Tables*, M. de C. Sánchez-Mata and J. Tardío, Eds. (Springer, New York, NY, 2016).
- [4] Y.-H. Pyo, T.-C. Lee, L. Logendra, R. T. Rosen, "Antioxidant activity and phenolic compounds of Swiss chard (*Beta vulgaris* subspecies *cicla*) extracts," *Food Chem.*, **85**, pp. 19–26 (2004).
- [5] L. Mogren, M. Alam, B. W. Alsanius, S. Boqvist, I. Vågsholm, "Swiss chard (*Beta vulgaris*) produced under greenhouse conditions – effects of water content in the growing media on the content of bioactive compounds and the microbiology of the leaf surface," *Acta Hort.*, pp. 381–384 (2016).
- [6] F. J. Rodríguez-Pulido, M. L. González-Miret, F. J. Heredia, "Application of imaging techniques for the evaluation of phenolic maturity of grape seeds," *Opt. Pura Apl.*, **50**, pp. 1–11 (2017).
- [7] R. S. Berns, F. W. Billmeyer, M. Saltzman, *Billmeyer and Saltzman's principles of color technology*, 3rd ed (Wiley, New York, 2000).