

Micorrizas arbusculares y las técnicas de visión artificial para su identificación

Arbuscular Mycorrhizae and the Computer Vision Techniques for their Identification

  Jimilgton Enrique Soto Sogamoso ¹;
 Jesús Emilio Pinto Lopera ²;
 Edwin Eduardo Millán Rojas ³

¹ Universidad de la Amazonia, Florencia-Colombia,
ji.soto@udla.edu.co

² Universidad de la Amazonia, Florencia-Colombia,
jes.pinto@udla.edu.co

³ Universidad de la Amazonia, Florencia-Colombia,
e.millan@udla.edu.co

ISSN-p: 0123-7799
ISSN-e: 2256-5337

Vol. 25, nro. 54, e2348, 2022

Recibido: 17 marzo 2022
Aceptado: 22 junio 2022
Disponible: 12 agosto 2022

©Instituto Tecnológico Metropolitano
Este trabajo está licenciado bajo
una Licencia Internacional
Creative Commons Atribución
(CC BY-NC-SA)



Cómo citar / How to cite

J. E. Soto-Sogamoso; J. E. Pinto-Lopera; E. E. Millán-Rojas, "Micorrizas arbusculares y las técnicas de visión artificial para su identificación," *Tecnológicas*, vol. 25, nro. 54, e2348, 2022.
<https://doi.org/10.22430/22565337.2348>

Resumen

El objetivo de este artículo fue analizar las principales técnicas y estrategias de visión artificial utilizadas en sistemas diseñados para la identificación automática de hongos formadores de micorrizas arbusculares, abordando aspectos generales de las micorrizas y su clasificación taxonómica. Las micorrizas son asociaciones simbióticas entre las raíces de las plantas y determinados grupos de hongos, se caracterizan por generar grandes beneficios al suelo circundante, a las plantas y a los procesos productivos derivados. El trabajo se desarrolló con una metodología de recolección de información especializada a partir de criterios de búsqueda específicos, seleccionando publicaciones relevantes, en un rango de tiempo entre el año 2014 y 2021, en las bases de datos de Scopus, Scielo, Dialnet y Google Académico. Los resultados del estudio revelaron que la morfología matemática difusa es una técnica importante en la segmentación de las esporas de hongos y, en general, los estudios desarrollados se basan en una identificación binaria de las esporas, donde la transformada de Hough y las redes neuronales artificiales son las técnicas combinadas que reportan mejores resultados. El presente estudio permitió concluir que es posible auxiliar el proceso de identificación de hongos formadores de micorrizas arbusculares a partir de técnicas de visión artificial, y contribuye indicando un vacío de información respecto de sistemas de clasificación no binaria, los cuales son importantes y se deben tener en cuenta para apoyar procesos de clasificación avanzados, de acuerdo con la cantidad de familias y géneros reportados en la literatura.

Palabras clave

Clasificación morfométrica, descontaminación de suelos, hongos formadores de micorrizas arbusculares, sistema de identificación automática, visión artificial.

Abstract

This article aims to analyze the leading computer vision techniques and strategies used in designed systems to automatically identify arbuscular mycorrhizal fungi, addressing general aspects of mycorrhizae and their taxonomic classification. Mycorrhizae are symbiotic associations between plants' roots and certain fungi groups. They are characterized by great benefits to the surrounding soil, the plants, and the derived productive processes. The work was developed with a specialized information collection methodology based on specific search criteria, selecting relevant publications, in a time range between 2014 and 2021, in the Scopus, Scielo, Dialnet, and Google Scholar databases. The study's results revealed that fuzzy mathematical morphology is an essential technique in the segmentation of fungal spores. In general, the studies developed are based on a binary identification of the spores, where the Hough transform, and artificial neural networks are the combined techniques that report better results. This study concludes that it is possible to assist the identification process of mycorrhizal fungi from artificial vision techniques. It contributes by indicating a lack of information regarding non-binary classification systems, which are important and must be considered to support advanced classification processes, according to the number of families and genera reported in the literature.

Keywords

Morphometric Classification, Soil Decontamination, Arbuscular Mycorrhizal Fungi, Automatic Identification System, Computer Vision.

1. INTRODUCCIÓN

Un problema crítico a nivel mundial, y en aumento cada día, es el deterioro de los suelos, provocado, entre otros, por los procesos de deforestación, minería y la implementación de la agricultura intensiva, donde el uso imprudente de insumos como los fertilizantes y los pesticidas, ligados al mal manejo de los residuos y al escaso empleo de abonos orgánicos han derivado en problemas de erosión, degradación, salinización, disminución de la materia orgánica y de los organismos presentes en estos. Por consiguiente, diferentes problemas pueden surgir y afectar a mediano y largo plazo, directa e indirectamente, tanto a la salud del consumidor, como a la proyección financiera del productor. Así, buscando alternativas integrales a partir de manejos agroecológicos, que eviten o mitiguen este tipo de problemas, se encuentran estudios importantes enfocados en los hongos formadores de micorrizas arbusculares (HFMA), los cuales pueden ser utilizados en procesos, tanto de acondicionamiento, como de caracterización de suelos, por ejemplo [1] y [2].

Como indica [3], en este momento es imperativo explorar alternativas en aras de incrementar la producción agrícola, buscando suplir las necesidades de alimento de acuerdo con el crecimiento de la población mundial, pero sin afectar el medio ambiente, enfocando dichas alternativas en los microorganismos y sus beneficios en la fertilización y la conservación de los suelos, donde los HFMA y las bacterias promotoras del crecimiento vegetal son los focos más estudiados y eficientes. Por ejemplo, buscando combatir las consecuencias del uso de pesticidas y fertilizantes inorgánicos de los cultivos extensivos en los agroecosistemas de la Amazonia colombiana, trabajos como [4] exponen el interés por la implementación de sistemas agroecológicos, con especial interés en el empleo de micorrizas arbusculares, obteniendo grandes beneficios en la productividad de diversos cultivos, lo que, como indica [5], se manifiesta en un mejor aprovechamiento del agua y de los nutrientes inmóviles del suelo, y así mismo en la protección contra posibles patógenos encontrados en él.

Por su parte, los HFMA pertenecen al *Phylum Glomeromycota* y desarrollan una simbiosis entre hongos y plantas por medio de las hifas de los primeros y las raíces de los segundos, presentando un beneficio mutuo debido a un intercambio de nutrientes, además aumentando la tolerancia a diferentes condiciones de stress para las plantas y mejorando la calidad de los suelos [6]. De forma general, las micorrizas se pueden entender como estructuras que se generan entre las raíces de las plantas y los hongos del suelo. Como explica Agüero-Fernández et al. [7], el hongo coloniza la raíz de la planta rodeándola con un micelio externo, formando una conexión continua entre la solución del suelo y la planta, la cual recibe nutrición mineral, mientras que el hongo recibe compuestos carbonados necesarios para su metabolismo. Estas razones hacen que hoy en día las micorrizas arbusculares sean una herramienta muy importante en sistemas agroecológicos y que involucren biotecnología en los cultivos, tanto que trabajos como [8] proponen estudios específicos para evaluar los beneficios económicos que se generan a partir de la simbiosis que se gesta con el empleo de las micorrizas arbusculares en los cultivos.

En cuanto a la clasificación de las micorrizas, esta se realiza de acuerdo con el grupo taxonómico del hongo involucrado. De forma general, la clasificación de los HFMA se lleva a cabo a través de dos métodos: morfológico y molecular. En el primer caso, la clasificación se realiza a partir de inspección visual, por medio del análisis de las características morfológicas y subcelulares de las esporas [9], sin embargo, este proceso puede ser dispendioso en cuanto al tiempo del estudio y requerir de una cuantiosa experiencia por parte del investigador.

Por otra parte, las técnicas moleculares se basan en el análisis de secuencias de ADN y, como lo expone Rodríguez et al. [10], abogan por la diversidad genética de las poblaciones de micorrizas. Así mismo, se señala que la clasificación a partir del método molecular ha

permitido un gran avance en los estudios de identificación de los hongos, y que la tendencia se inclina a la aplicación combinada, junto con el método morfológico [10], pero se indica también, que el análisis molecular por su especificidad no se encuentra al alcance de todos los laboratorios de microbiología donde se estudian este tipo de microorganismos.

En este sentido, la clasificación morfológica continúa siendo muy importante en los estudios pertinentes a los HFMA, tanto así, que hoy en día existe un interés creciente por los sistemas de visión asistidas por computadoras para apoyar los procesos de identificación. Así mismo, al utilizar la inspección visual como base fundamental de los estudios, y teniendo a la mano las micrografías digitales, son los sistemas de visión artificial, los llamados a desarrollar metodologías que permitan auxiliar y resolver problemas como la identificación automática de los HFMA en imágenes adquiridas. Por lo tanto, este trabajo es un artículo de revisión y tiene como objetivo conocer las principales técnicas y estrategias de visión artificial utilizadas en sistemas diseñados para la identificación automática de hongos formadores de micorrizas arbusculares, teniendo en cuenta que, en un futuro, estos mismos pueden apoyar procesos de clasificación más avanzados. Los criterios de búsqueda de información se asocian inicialmente a información general de las micorrizas, apuntando a la solución de problemas de contaminación de suelos, teniendo en cuenta la aplicabilidad de las mismas; seguido de información ligada a la clasificación taxonómica de las micorrizas, que apoyan el objetivo principal de la investigación, los sistemas de clasificación automática de micorrizas.

A modo de agenda, inicialmente, en la sección dos, se presentan los aspectos metodológicos de la revisión bibliográfica y la selección de documentos a enmarcar en el trabajo. Posteriormente, se presentan aspectos generales de las micorrizas arbusculares y se tienen en cuenta factores de estudio como la clasificación molecular y la clasificación morfométrica. Seguido se desarrolla la temática principal, enfocada en los sistemas de visión artificial, inicialmente de forma general y haciendo énfasis en técnicas de segmentación, y después de forma específica en aplicaciones enfocadas en HFMA, donde se destaca el empleo de las redes neuronales artificiales, la morfología matemática difusa, la Transformada de Hough y las redes neuronales convolucionales.

2. METODOLOGÍA

En este trabajo se empleó el proceso de revisión bibliográfica sistemática con base al tratamiento planteado por Yang et al. [11], donde se organiza la información y se identifican las fases para la redacción. Así, se realizó una revisión, un agrupamiento y una selección, retornando un conjunto de 3 fases principales: “Definir pregunta de investigación”, “Protocolo de investigación y búsqueda de literatura” y “hallazgos de la investigación”.

2.1 Etapa 1: Definir pregunta de investigación

En esta etapa se define el tema de interés, problema u objetivo de investigación, para lo cual se puede recurrir al desarrollo de un árbol problema, el uso de encuestas, las indicaciones de personal con conocimientos en el ámbito o simplemente visualizando el problema en el entorno con el cual interactúa. En este caso, a modo exploratorio se desarrolló una búsqueda sistematizada del tema de investigación, obteniendo como resultado la siguiente pregunta de investigación. ¿es posible auxiliar el proceso de identificación de hongos formadores de micorrizas arbusculares a partir de técnicas de visión artificial?

2.2 Etapa 2: Protocolo de investigación y búsqueda de literatura

Una vez generada la pregunta de investigación, se procede a estructurar los protocolos y las características de los términos de búsqueda definidos en base al tema de interés y la pregunta de investigación. La búsqueda de información se realizó a partir de artículos científicos y trabajos asociados encontrados en diferentes bases de datos y motores de búsqueda, en este caso: “Scopus”, “Scielo”, “Dialnet” y “Google Académico. Este proceso se realizó en línea, estableciendo un rango de tiempo entre el año 2014 al 2021 y a partir de ecuaciones de búsquedas con palabras claves asociadas a los términos de búsqueda establecidos, en este caso: solución a los problemas de contaminación de los suelos; clasificación taxonómica de las micorrizas; y sistemas de clasificación automática de micorrizas. Por otro lado, artículos clave y específicos fuera del rango son tenidos en cuenta en el análisis por su importancia en el contexto del estudio, en este caso [12]–[19]. [20]

Posterior a la exploración de las bases de datos con las ecuaciones de búsquedas mencionadas, se realizó un filtrado de los artículos, buscando identificar y preseleccionar los documentos considerados adecuados para realizar el trabajo. Así, inicialmente se preseleccionaron artículos investigación y de revisión, y también artículos derivados de ponencias presentadas en conferencias internacionales. Después, se identificaron las referencias replicadas en las diferentes bases de datos, con el fin de no repetir la búsqueda de documentos. Como consecuencia y restricción, se descartaron documentos tipo informe, ensayo, conferencia regional, artículo de opinión, información alojada en sitios Webs, y Tesis de pregrado. La Tabla 1 presenta los términos y ecuaciones de búsquedas, así como la cantidad de documentos encontrados y filtrados en cada base de datos.

De forma específica, el proceso de filtrado y preselección de artículos se realizó mediante cinco etapas. En primer lugar, se realizó la búsqueda de los documentos a partir de la información referida en las bases de datos; en segundo lugar, se organizaron por medio de criterios establecidos (términos de búsqueda, año); en tercer y cuarto lugar, se procedió a la lectura, identificando inicialmente resumen, metodología y conclusión en cada uno, permitiendo otorgar un veredicto de aprobación de los mismos; en quinto lugar, finalmente se organizaron en fichas de tabulación, buscando identificar la información relevante en cada uno. La Figura 1 agrupa estos documentos según el año de publicación.

2.3 Etapa 3: hallazgos de la investigación

Una vez concluida la etapa de preselección, se generó una base de datos con los documentos obtenidos en el proceso de revisión bibliográfica, teniendo en cuenta de cada documento: la base de datos original de donde se extrajo, su categoría o criterio relacionado, el título del documento, el año de publicación, los autores, su respectiva citación en formato IEEE, la revista donde fue publicada, un breve resumen del documento, el problema identificado, la metodología de trabajo, citas textuales de interés, elementos teóricos fundamentales, conclusiones del trabajo, definiciones referente al documento, ya sea por parte del autor o por terceros, y por último, comentarios propios referentes al artículo.

En el caso de este artículo, se planteó la elección de mínimo 50 artículos y máximos 70 de la base de datos generada, teniendo en cuenta alrededor del 50 % de la misma. Finalmente, se analizaron los documentos que aportan en gran medida al estado del arte, permitiendo la identificación de soluciones, estrategias u otros mecanismos que permitan responder a la pregunta de investigación planteada, orientada a los procesos de clasificación e identificación morfológica de las micorrizas arbusculares.

Tabla 1. Términos, ecuaciones de búsqueda y base de datos utilizadas en la investigación
Fuente: Elaboración propia.

Base de datos	Término de búsqueda	Ecuación de búsqueda	Artículos Filtrados	Artículos Preseleccionados
Scopus	Solución problemas de contaminación de suelos	ALL ("contaminación de suelos" AND hongos)	8	4
	Clasificación taxonómica de micorrizas	ALL ((Clasificación OR Identificación) AND (taxonómic*) AND (micorriz*))	27	18
	Sistema de clasificación automática de micorrizas	("Computer vision" OR "image processing") AND "mycorrhizal fungi" AND classification	98	38
Scielo	Solución problemas de contaminación de suelos	(contaminación de suelos) AND hongos	2	1
	Clasificación taxonómica de micorrizas	(clasificación OR identificación) AND (taxonómic* OR morfológic*) AND Micorriz*	9	5
	Sistema de clasificación automática de micorrizas	(visión artificial OR procesamiento de imágenes) AND micorrizas	1	0
Dialnet	Solución problemas de contaminación de suelos	(contaminación de suelos) AND hongos	13	6
	Clasificación taxonómica de micorrizas	(clasificación OR identificación) AND (taxonómic* OR morfológic*) AND Micorriz*	7	4
	Sistema de clasificación automática de micorrizas	(visión artificial OR procesamiento de imágenes) AND micorrizas	0	0
Google Académico	Solución problemas de contaminación de suelos	"contaminación de suelos" + "hongos" + "micorrizas" + "solución"	172	32
	Clasificación taxonómica de micorrizas	"clasificación morfológica" + micorrizas	30	10
	Sistema de clasificación automática de micorrizas	("Computer vision" OR "image processing") + "mycorrhizal fungi" + "classification" + "automatic"	110	28
Total:			497	146

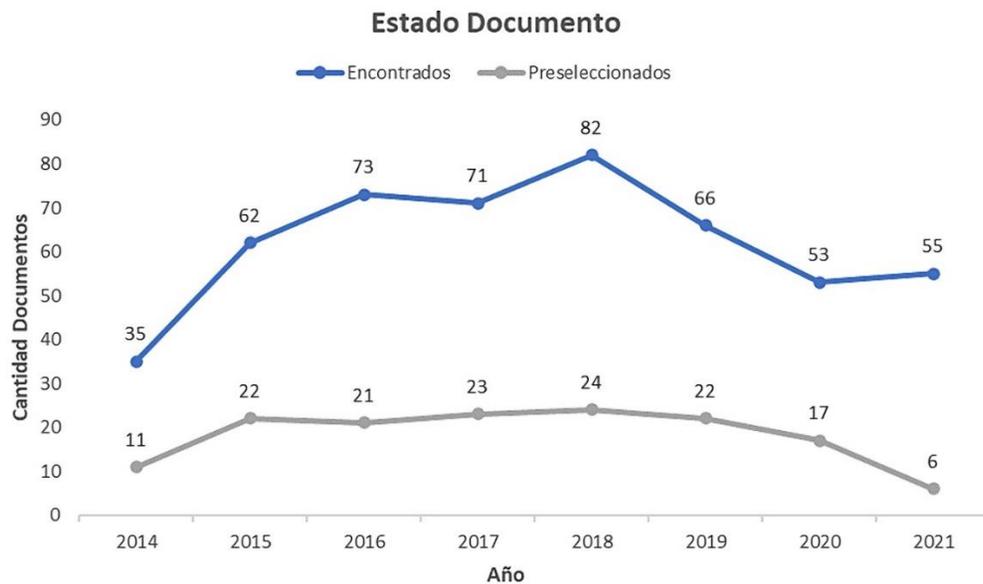


Figura 1. Cantidad de documentos agrupados por año de publicación. Fuente: Elaboración propia.

3. INFORMACIÓN OBTENIDA DEL PROCESO DE REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

3.1 Micorrizas arbusculares

Etimológicamente la palabra micorrizas proviene del término griego *mykes* (hongo) y el latino *rhiza* (raíz), donde literalmente la palabra micorrizas quiere decir hongo-raíz, esta fue aplicada por primera vez por el patólogo alemán Albert Bernard en 1885, para definir las asociaciones simbióticas o mutualista, establecidas entre ciertos hongos presentes en el suelo y las plantas, como lo indican Khalil et al. [21]. En general, se pueden definir las micorrizas como asociaciones simbióticas mutualistas entre determinados grupos de hongos y las raíces de las plantas. Definiéndolo como una asociación simbiótica, ya que estos hongos, como las plantas que los hospedan, se benefician entre sí, el hongo por su parte recibe compuestos carbonados generados por medio de la fotosíntesis, así como hábitat y diversidad de nichos ecológicos, mientras que la planta recibe agua y nutrientes, especialmente los que poseen poca movilidad o de baja disponibilidad en el suelo (como el fósforo y el nitrógeno). Además, brindan a las plantas beneficios, como el aumento de la tasa fotosintética y el ajuste osmótico a la sequía, entre otros [22].

Por otra parte, diversos estudios demuestran que aproximadamente un 95 % de las plantas presentan algún tipo simbiosis con hongos micorrízicos, donde se forman estructuras como vesículas e hifas en las células corticales de las plantas colonizadas [20], [23], [24]. Así mismo, como explican Furrázola y Torres-Arias [25], estas asociaciones se han agrupado tradicionalmente con base en la anatomía de las raíces colonizadas, reconociéndose los siguientes tipos: Ectomicorrizas, Ectendomicorrizas y Endomicorrizas. Estas últimas, como expone [25], son caracterizadas por una penetración inter e intracelular, sin formación de manto, ni evidentes transformaciones morfológicas en las raíces; esto para indicar que los tipos de micorrizas Ericoides, Orquidoides y Arbusculares, cumplen con tales condiciones, y que son las últimas en mención las de una distribución más extensa entre todos los microorganismos biofertilizadores. De acuerdo con Li et al. [26], las micorrizas arbusculares

están ampliamente distribuidas alrededor del planeta, y en general otorgan los beneficios mencionados, por ejemplo, como indica Garzón [4], en el Amazonas los HFMA se asocian con más del 80 % de las plantas vasculares, y en el trapecio Amazónico el género *Glomus* domina en la composición micorrizica, con cerca del 50 %.

Los HFMA pertenecen al *Phylum Glomeromycota*, y como exponen Furrázola y Torres-Arias [25], la aparición de estos y su extensión alrededor del mundo data de antes de la separación de los continentes y de la evolución de las plantas fanerógamas, donde López-Botía y Peña [27] y Lewis [28] indican que se ha reportado la presencia de estos organismos desde hace más de 450 millones de años, resultando en un proceso de coevolución mantenido entre los hongos micorrízicos y las raíces de las plantas. Por consiguiente, los HFMA adquieren importancia a nivel mundial y se puede decir que, en general, presentan habilidades para adaptarse y sobrevivir en condiciones extremas, habilidades competitivas, habilidad para la retención de agua y resistencia al ataque de plagas, entre otras cualidades [29], [30], [31]. Así mismo, aunque la mayoría de las plantas terrestres son simbiotes, es decir que se benefician de los HFMA, también pueden vivir sin ellos, sin embargo, algunas especies de plantas se han convertido en un tipo de parásito de HFMA, indicando que son completamente dependientes de la nutrición fúngica, y por lo tanto perdiendo su capacidad fotosintética (Micohererótrofos), como indican Graham et al. [32].

No obstante, dependiendo del clima y los pisos térmicos puede que no se tenga presencia de HFMA, así mismo, puede que en algunos casos no se obtengan beneficios sustanciales para las plantas, por lo cual es de constante interés el estudiar el comportamiento de este tipo de hongos. Así mismo, es importante conocer el tipo de micorrizas y la cantidad de cada una presente en ciertas áreas, por ello es fundamental el proceso de identificación y clasificación, para el cual actualmente se han determinado dos métodos: molecular y morfométrico.

3.1.1 Clasificación Molecular

De forma tradicional, la clasificación taxonómica de estos grupos de microorganismos se ha realizado a partir de la morfología de las esporas de los HFMA, permitiendo su identificación a nivel familiar. Sin embargo, esta determinación de especies a nivel morfológico puede ser muy complicado, por lo tanto, desde hace algunos años se vienen implementado técnicas moleculares a partir de secuencias de ADN, donde estos organismos pasaron de estar incluidos en un solo género, a un nivel más amplio de clasificación [20]. Por consiguiente, como señala Rivera et al. [22] y de acuerdo con Schüßler y Walker [19], en este momento la clasificación comprende alrededor de 248 especies, las cuales se distribuyen en 18 géneros, 11 familias y en 4 órdenes. Este método al emplear un análisis filogenético a nivel molecular es mucho más efectivo en comparación al método morfológico, siendo mucho más eficiente, de hecho, en el momento de la extracción de estas esporas, en muchas ocasiones, estas sufren daños o mueren en el proceso de tratamiento de recolección, afectando directamente al proceso de clasificación, evidenciando un impacto negativo en el método de clasificación morfológica, en comparación con el método molecular, la cual no presenta ningún impacto ni efecto negativo en el procedimiento y los resultados [33]. Por otro lado, este método es cada vez más sofisticado, empleando instrumentación y técnicas a nivel molecular, por lo cual, al mismo tiempo implica que tenga un costo de implementación elevado. Así mismo, si no se cuenta con la instrumentación necesaria, se debe contratar y enviar a laboratorios especializados, lo que limita su empleo a las instituciones, empresas o laboratorios con equipos especializados y/o a proyectos con presupuestos elevados, obteniendo en muchas ocasiones los mismos resultados comparados con los obtenidos en la clasificación morfológica, no obstante, aclarando que siempre se tiene una mayor seguridad y certeza en los resultados [34], [12].

3.1.2 Clasificación Morfométrica

El método morfométrico es un análisis de los HFMA, realizado mediante un cuidadoso examen microscópico de las esporas. Desafortunadamente, como indican Kehri et al. [35] y Redecker [13], las esporas son estructuras simples y ofrecen un número limitado de características discriminatorias potenciales, además de la similitud que pueden tener las esporas entre especies, los datos pueden malinterpretarse fácilmente sin un estudio cuidadoso y unos análisis comparativos bien definidos. No obstante, en las últimas 4 décadas, la clasificación morfológica ha sufrido considerables transformaciones, desde ser solamente descriptiva y basada únicamente en la morfología de las esporas, hasta basarse en el análisis cladístico de los caracteres genéticos y fenotípicos.

Actualmente, la clasificación morfológica se complementa con técnicas moleculares, y se basa en diferentes características de las esporas como: forma, composición, ornamentación, estructura, paredes, presencia y tipo de hifa conectora, presencia de escudos y gránulos, todas estas características con medidas de tamaños y distancias [14], [15], [36]. Así mismo, con el fin de establecer una mejor clasificación se han modificado los parámetros, estableciendo nuevos ítems de forma global, es decir, familias, géneros y especies, de esta forma se han reconocido 14 familias, 29 géneros y alrededor de 230 especies, como se indica en Oehl et al. [15]. A modo de ejemplo, la Figura 2 (tomada de Monroy et al., página 59 [14]) presenta 26 morfotipos de HFMA colectadas en el suelo del piedemonte llanero colombiano.

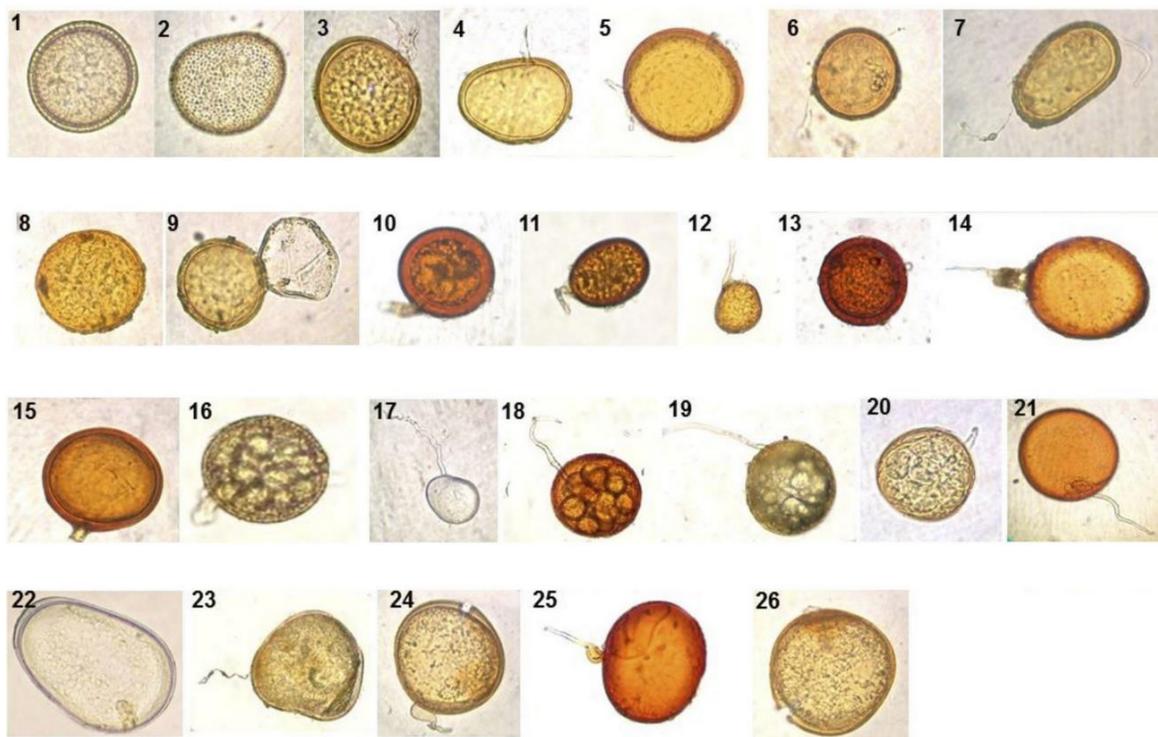


Figura 2. Ejemplo de esporas de HFMA. 1. *Acaulospora denticulata*; 2. *Acaulospora scrobiculata*; 3. *Acaulospora mellea*; 4. *Acaulospora morrowiae*; 5. *Acaulospora* sp. 1; 6. *Acaulospora* sp. 2; 7. *Acaulospora* sp. 3; 8. *Acaulospora* sp. 4; 9. *Entrophospora infrequens*; 10. *Glomus citricola*; 11. *Glomus deserticola*; 12. *Glomus fasciculatum*; 13. *Glomus geosporum*; 14. *Glomus invermaium*; 15. *Glomus macrocarpum*; 16. *Glomus microaggregatum*; 17. *Glomus occultum* o *Paraglomus occultum*; 18. *Glomus* sp. 1; 19. *Glomus* sp. 2; 20. *Glomus* sp. 3; 21. *Scutellospora heterogama*; 22. *Scutellospora pellucida*; 23. *Scutellospora savannicola*; 24. *Scutellospora* sp. 1; 25. *Scutellospora* sp. 2; 26. *Scutellospora* sp. 3. Fuente: [14].

3.2. Sistemas de visión artificial

Como expone Akshaya et al. [37], es claro que el sistema visual humano, desarrollado y en condiciones normales, puede reconocer o identificar fácilmente objetos en imágenes sin un esfuerzo sobresaliente, y así mismo identifica con precisión los objetos con el pensamiento consciente. Por tanto, en aras de emular y conseguir objetivos similares de forma artificial, se desarrollan sistemas computacionales que buscan reconocer, clasificar, o incluso modificar objetos dentro de imágenes, en este caso digitales. Un ejemplo, común hoy en día, se puede encontrar en el control de tráfico vehicular, donde la visión artificial se utiliza para reconocer patrones particulares en los vehículos, generando reportes o notificaciones en términos de violación de las normas, indicación de accidentes, averías, incendios, etc. [38].

De forma general, se puede decir que el objetivo de la visión artificial es extraer información del mundo físico a partir de imágenes digitales, para lo cual emplea herramientas derivadas de los sistemas computacionales y de los sistemas de adquisición de imágenes y video. Así mismo, es importante decir que a lo largo de los años se han estudiado muchos fundamentos que han permitido definir y dar forma a la visión artificial, y gracias al avance de los nuevos computadores y de los sistemas de adquisición de imágenes modernos, cada vez con mayor capacidad de almacenamiento y procesamiento, es posible hoy en día procesar una gran cantidad de datos y desarrollar complejas operaciones computacionales, generando múltiples aplicaciones, incluso que trabajan en tiempo real, y permitiendo una implementación importante de los sistemas de visión artificial en la automatización de procesos [39].

Por otro lado, dentro del espectro de técnicas que se utilizan en los sistemas de visión artificial, se destacan las técnicas enfocadas en la segmentación de objetos. Este tipo de técnicas, como indican Kotteswari y Sathiya [40] y Santos et al. [41], proponen dividir la imagen en distintas secciones, o regiones, buscando separar inicialmente el llamado fondo de la imagen de los objetos de interés, para después separar los objetos entre sí, en caso de ser necesario. En general, las técnicas de segmentación se emplean dependiendo de la aplicación específica, y se diferencian por criterios explorados en cada una, como los bordes, la textura, el color o la forma de los objetos de interés contenidos en la imagen. Por ejemplo, Velasco-Delgado et al. [42] las emplea en el desarrollo de un sistema clasificador de productos, generando un marco metodológico, describiendo los componentes de procesamiento y análisis de imágenes; en este caso, clasificando dos clases de productos de cuatro establecidos, concluyendo, que la capacidad de este sistema en particular dependía de la distancia entre los productos y la velocidad de la banda de la estación de manufactura, alcanzando una productividad máxima de 32 productos por minuto, con una distancia de 40 cm entre productos y una velocidad de 22 cm/s, obteniendo un error promedio de 0,8 %.

Así mismo, los algoritmos de segmentación se pueden agrupar en diferentes especialidades, donde básicamente se encuentran: la detección de discontinuidades, incluyendo puntos, líneas y bordes; la detección de fronteras, utilizando, por ejemplo, la Transformada de Hough, la cual permite inferir formas simples en una imagen, como líneas, círculos o elipses; la umbralización, también llamada binarización, donde se tiene en cuenta exclusivamente el nivel digital de cada píxel; y la segmentación orientada a regiones, por ejemplo, utilizando crecimiento o división de regiones, como en el caso de la morfología matemática o de la transformada *Watershed*. Después de la etapa de segmentación, regularmente los resultados se comparan con descriptores del conjunto de entrenamiento y se procede a la clasificación de los objetos, asignándoles un clasificador binario o una etiqueta en el caso de múltiples categorías.

Por otro lado, teniendo en cuenta la búsqueda y el reconocimiento de patrones, es importante destacar el empleo de sistemas derivados de los paradigmas clásicos de la inteligencia artificial, como lo son la lógica *fuzzy* y las redes neuronales artificiales, los cuales en esencia buscan emular en parte el sistema cognitivo del ser humano, el primero desde el punto de vista de la toma de decisiones a partir de incerteza en la información, y el segundo a partir de modelos matemáticos inspirados en el comportamiento de las estructuras biológicas presentes en el cerebro. Así mismo, es importante mencionar que el avance de los sistemas computacionales ha permitido que los métodos enfocados en redes neuronales artificiales evolucionen también.

Así, hoy en día se pueden encontrar sistemas de este tipo enfocados en el llamado *deep learning*, y en procesos que involucran directamente sistemas de visión artificial, como es el caso de las llamadas redes neuronales convolucionales (CNN, por la referencia en inglés *convolutional neural network*), utilizadas, por ejemplo, por Zhao et al. [43], quienes realizaron una investigación de métodos basados en el aprendizaje profundo para segmentar esporas de ántrax, generando un marco metodológico basado en investigar la influencia de los desequilibrios de clase, en la pérdida durante el entramiento con la herramienta DeepLabv3+, determinando que está pérdida es ocasionada en gran medida en la identificación de píxeles de clase pequeña y de contorno, por ende, se implementó la técnica Constrained Focal Loss (CFL), la cual se centra en los objetos de clase pequeños y tiene un término restringido, otorgando una gran importancia a los píxeles que rodean los contornos de las esporas. Los resultados obtenidos demuestran que el IoU medio del DeepLabv3+ entrenado con CFL, alcanza el 91 %, superior al DeepLabv3+ original, además, logrando un mejor rendimiento, empleando menos de un tercio de las muestras de entrenamiento y la mitad de los pasos.

En el caso de las micorrizas arbusculares, diferentes investigaciones con un enfoque en visión artificial han sido presentadas a lo largo del tiempo. Inicialmente, como referencia para trabajos actuales, [16] en los años 90 presentaba dos sistemas computacionales de análisis de imágenes enfocados en medir características específicas y extensiones de raíces colonizadas por micorrizas arbusculares, destacando el empleo adecuado de los métodos de tinción vital y los problemas de un uso inadecuado de los mismos. También, en la misma época, [17] presentaba sistemas computacionales utilizados para evaluar la longitud de las hifas, por medio del procesamiento de imágenes, obteniendo como resultado, información sobre el desarrollo de los micelios en hongos micorrízicos.

Actualmente, por ejemplo, Stoian et al. [44] presenta técnicas de visión artificial para la segmentación de las muestras de las raíces, en este caso, integradas en un sistema (MycoPatt) para el reconocimiento de patrones específicos encontrados en raíces colonizadas por micorrizas arbusculares, generando un marco metodológico para la obtención de observaciones microscópicas objetivas y comparables. Carotenuto et al. [45] emplean el TrackMate y el Fiji/ImageJ para estimar características geométricas en células de raíces colonizadas por micorrizas arbusculares. Teniendo en cuenta que, el TrackMate y el Fiji/ImageJ son sistemas de visión computacional utilizados ampliamente en el estudio de sistemas biológicos, donde se destaca la implementación de técnicas como umbralización y segmentación morfológica. Respectivamente, en Tinevez et al. [46] y Schindelin et al. [18] emplearon estos sistemas de visión computacional, describiendo las ventajas de los mismos, y su gran empleabilidad en el proceso de seguimiento automático, semiautomático y manual de partículas y el análisis de imágenes derivadas de muestras biológicas.

Por su parte, Cardini et al. [47] presenta el HyLength, una herramienta para el análisis semiautomatizado de imágenes digitales desarrollada en MATLAB, buscando medir la longitud de las hifas de los hongos y las raíces de las plantas en sistemas in vivo e in vitro, validando la herramienta a partir de diferentes pruebas. Así mismo, Evangelisti et al. [48]

aprovecha las redes neuronales convolucionales en el desarrollo del software denominado *Automatic Mycorrhiza Finder* (AMFinder), permitiendo la segmentación de diferentes objetos de interés en las imágenes y la identificación y cuantificación de las colonias de hongos micorrízicos en las hifas, por medio de un análisis semiautomático y supervisado por el usuario, con porcentajes de precisión por encima del 90 % para diferentes especies.

Así mismo, en aras de automatizar, o al menos auxiliar, los procesos de identificación de las esporas de hongos micorrízicos, diferentes trabajos pueden ser encontrados. En este caso, Melo et al. [49] y Melo et al. [50] indican que es importante identificar y contar las esporas de los HFMA, porque cuanto mayor sea la presencia de estas, mayores serán los beneficios positivos para las plantas; en estos trabajos se presentaron modelos y sistemas de visión computacional semiautomatizados, basados en la transformada de Hough y en redes neuronales artificiales.

Por su parte, Melo et al. [49] presentan la configuración experimental y el marco metodológico, enfocado en un modelo de conteo de hongos micorrízicos semiautomático, basado en patrones de reconocimiento utilizando redes neuronales artificiales, estableciendo una base de datos de 40 micrografías digitales obtenidas por medio de un microscopio y la colaboración de un experto. Las imágenes son utilizadas en el proceso de análisis y entrenamiento, en el primero se detectaron las características y las normas asociadas a las micorrizas, donde, la gran mayoría de estas esporas tenían forma globular. En este caso, para identificar los objetos en una imagen, esta se segmenta, por medio de un filtro de detección de bordes y binarización. Adicionalmente, la imagen segmentada debe ser procesada utilizando una técnica de reconocimiento de forma, en este sentido, la técnica más adecuada, es la transformada de Hough, la cual detecta objetos con forma circular (aquí, esporas o no esporas), generando un 77.4 % de precisión, comparado con el conteo manual. Se indica que la clasificación se apoya con el empleo de un perceptrón simple. Por otro lado, Melo et al. [50] establecieron un nuevo análisis de las micorrizas obtenidas en la base de datos, determinando nuevos aspectos que no se tuvieron en cuenta anteriormente, de esta forma descartaron características discrepantes, considerando que la gran mayoría de HFMA, poseen una coloración uniforme con tonalidades de amarillo a café oscuro, por lo tanto, fue necesario, la implementación de un perceptrón multicapa apoyando la red neuronal en el proceso de separación de ocurrencias teniendo en cuenta la coloración de estos, por último, se realizó un nuevo entrenamiento, dando como resultado un 90 % de precisión, comparado con el conteo manual y superior al modelo presentando inicialmente.

Cabe indicar que, en [49] y [50] la transformada de Hough se emplea por su eficiencia en el proceso de reconocimiento y localización de formas circulares en la imagen, como son las esporas de los HFMA, incluso identificando curvas, aún si son apenas visibles. En ese sentido, se señala que la técnica no falla detectando las curvas en la imagen que representan las esporas, sin embargo, también detecta curvas de materiales no deseados presentes en las imágenes, por lo cual, se ve la necesidad entrenar redes neuronales artificiales a modo de clasificadores, que auxilian la toma de decisiones y determinar si el objeto detectado es una espora de hongo o no.

Por otro lado, Andrade et al. [51] y Andrade et al. [52] presentan métodos proyectando sistemas de visión computacional para la identificación (esporas o no esporas) y el conteo de HFMA, en este caso, enfocados en lógica *fuzzy* y morfología matemática. Esta última, es una técnica específica del procesamiento de imágenes digitales y, como indica su nombre, auxilia en la descripción de la forma de los objetos. En su forma básica, se puede decir que la morfología matemática trabaja en imágenes binarias (blanco y negro), pero en el caso de los trabajos indicados, la técnica se lleva a cabo sobre imágenes en escala de grises, o incluso en

imágenes en color, a partir de técnicas derivadas de la lógica fuzzy, en lo que denominan morfología matemática difusa (Fuzzy Mathematical Morphology).

Por su parte, [51] presentan un marco metodológico y experimental con el objetivo de proponer un sistema automático para el conteo de esporas de hongos micorrízicos, enfocado en operadores morfológicos difusos, estableciendo una base de datos a partir de colecciones localizadas y disponibles en el *International Culture Collection of (Vesicular) Arbuscular Mycorrhizal Fungi* [53], específicamente con micorrizas del género *Claroideum*, obteniendo 37 imágenes para ser empleadas en el proceso de análisis y experimentación de los operadores morfológicos. Posteriormente, en [51] se realiza la implementación del marco metodológico, el cual se encuentra formado por 3 etapas: en la primera, se realizó la ecualización por histograma ajustando los valores de la intensidad de la imagen en base a un histograma predefinido, en este paso se calcula el gradiente de la imagen, empleando dos valores de umbral para detectar bordes gruesos y delgados, posteriormente, los bordes delgados se incluyen en la salida, solo si están conectados a los bordes gruesos; en la segunda etapa, por medio del operador de vecindad, se procedió a encontrar el centroide de la imagen binaria, posteriormente, se aisló cada espora utilizando las coordenadas de dicho centroide, redimensionando el tamaño de cada espora a una ventana de 31 X 30 píxeles, finalmente, se transfirió la posición de la ventana para la imagen RGB original; en la última etapa, se entrenó una red neuronal, para el reconocimiento de las esporas y con ello su respectivo conteo. En estos casos, los resultados superaron el 80 % de precisión en el conteo, haciendo énfasis en que, para imágenes con esporas superpuestas y muy agrupadas, dicha precisión puede alcanzar únicamente un aproximado de 23 % de precisión; porcentajes comparados con el conteo manual.

Así mismo, Andrade et al. [52] en aras de analizar las implicaciones R de Weber y Fodor y los operadores de Lukasiwics, Gödel y su desempeño en el procesamiento de imágenes, en este caso para el conteo de esporas de hongos micorrízicos, y teniendo en cuenta los trabajos [51], [54], concluyendo que la morfología de Gödel, tiene una fuerte correlación, presentado una diferencia del 89.09 % respecto al conteo manual.

Por último, se indica que la técnica de morfología matemática difusa se puede emplear para separar las esporas del fondo de la imagen, y además para separarlas entre sí mismas, y presentar resultados únicamente a partir de la segmentación de objetos asociada al proceso, acompañada de la identificación de características específicas en dichos objetos, por ejemplo, el tamaño (número de píxeles) de cada uno, como en Barros y Trindade [55]. Pero también, se puede utilizar la misma técnica para segmentar los objetos, como en el primer caso, y auxiliar el proceso con clasificadores derivados de redes neuronales artificiales, para determinar si dicho objeto es o no un HFMA, como el caso de Andrade et al. [54]. En todos los casos, una vez segmentado el objeto de interés, los hongos, estos pueden ser etiquetados (rotulados) y contados en la imagen, indicando que, de esta forma, el sistema computacional reconoce que cada objeto es diferente.

Cabe indicar que, [51], [52] y [55] determinan que el método que mejor sustituye al conteo manual de esporas de hongos micorrízicos es la morfología difusa de Gödel, siendo este el método más eficiente y efectivo en este proceso. Por su parte, [54] había determinado, por medio de las correlaciones de Pearson y el posterior análisis de regresión, que el algoritmo que utilizó el operador de Lukasiwicz demostró ser el más efectivo y eficiente para el conteo de esporas de hongos micorrízicos, con un índice de acierto del 80 %. Por último, los trabajos [51], [52], [54], [55], extrajeron las imágenes utilizadas posteriormente en su base de datos, y para el entrenamiento de sus modelos de la base de datos asociada a [53], por ende, se puede afirmar la gran importancia de esta base de datos, para los estudios presentados, y estudios futuros ligados a la identificación, clasificación y conteo de hongos micorrízicos.

La Tabla 2 presenta un resumen de las principales técnicas de visión artificial encontradas en la revisión de literatura y aplicadas a la identificación de hongos formadores de micorrizas arbusculares a partir de imágenes digitales, indicando el proceso en el cual se enmarcan las investigaciones estudiadas: segmentación, clasificación, ambas; indicando también las referencias bibliográficas asociadas. Cabe decir que la clasificación en mención se asocia a clasificación binaria, en este caso si el objeto es una espora o no (espora/no-espora), pero no se encuentra información asociada a la clasificación de diferentes géneros de micorrizas en una misma investigación.

Tabla 2. Tabla de Técnicas de visión computacional. Fuente: elaboración propia.

Referencia	Técnicas	Métodos	Base de datos	Conclusión
[49]	Transformada de Hough	Segmentación	La obtención de las imágenes empleadas como base de datos, se realizó por medio de un microscopio y con la ayuda de un experto.	La implementación de la transformada de Hough y una red neuronal para su clasificación generó un 77.4 % de precisión comparado con el proceso de conteo manual.
	Redes neuronales artificiales	Clasificación		
[50]	Transformada de Hough	Segmentación	La obtención de las imágenes empleadas como base de datos, se realizó a partir de [49].	Realizaron un nuevo análisis de las micorrizas obtenidas en la base de datos, determinando nuevos aspectos que no tuvieron en cuenta anteriormente, por lo tanto, se realizó un nuevo entrenamiento, dando como resultado un 90 % de precisión, superior al modelo presentando inicialmente.
	Redes neuronales artificiales	Clasificación		
[51]	Morfología matemática difusa	Segmentación	La obtención de las imágenes empleadas como base de datos, se realizó a partir de [53] más exactamente, las micorrizas de género "Claroidium", obteniendo un grupo de 37 imágenes.	La implementación de la morfología matemática y una red neuronal, para su clasificación, generó un 80 % de precisión, haciendo énfasis en que, para imágenes con esporas superpuestas y muy agrupadas, dicha precisión puede alcanzar únicamente un aproximado de 23 % de precisión.
	Redes neuronales artificiales	Clasificación		
[52]	Morfología matemática difusa	Segmentación	El proceso de la obtención de imágenes empleadas en la base de datos se realizó por medio de [53], más específicamente, las micorrizas de género "Claroidium" y "Denticulata", obteniendo un grupo de 37 imágenes.	Se realizó el análisis y el desempeño de las implicaciones R de Weber, Fodor y los operadores de Lukasiewicz, Gödel, realizando la experimentación de los operadores morfológicos por medio de la función epsilon, concluyendo que la morfología de Gödel, tiene una fuerte correlación, presentado una diferencia inferior del 89.09 % con el proceso de conteo manual.
	Extracción de características	Clasificación		
[54]	Morfología matemática difusa	Segmentación	La obtención de las imágenes empleadas como bases de datos, se realizó a partir de [53], obteniendo un grupo de 20 imágenes de micorrizas de género "Claroidium" y "Denticulata", y 19 imágenes de esporas de	Realizaron una experimentación entre los operadores morfológicos, posteriormente, se combinaron los operadores más apropiados en este caso erosión, apertura y el operador de Lukasiewicz, en el proceso de entrenamiento se utilizó una red neuronal para la clasificación de los hongos, por último, se presentó un índice de acierto del 80 % en el
	Redes neuronales artificiales	Clasificación		

			hongos micorrízicos con conteo de esporas en 12 de 19 incertidumbres. imágenes de la base de datos.
[55]	Morfología matemática difusa	Segmentación	El proceso de la obtención de imágenes empleadas en la base de datos se realizó por medio de [53], más exactamente de las micorrizas de género “laevis” y “Claroideum”, obteniendo un grupo de 37 imágenes.
	Extracción de características	Clasificación	Se realizó la experimentación de los métodos morfológicos, donde, se determinó que el uso de la erosión con el método de Gödel, fueron más eficientes para el proceso de separación y conteo automático, por ende, su implementación es una alternativa al conteo manual, considerando que se logró aciertos superiores al 80 %.

4. CONCLUSIONES

En este trabajo se concluye que la metodología propuesta permite responder afirmativamente a la pregunta de investigación y muestra que es posible auxiliar el proceso de identificación de hongos formadores de micorrizas arbusculares a partir de técnicas de visión artificial. Se indica que, al ser una revisión de literatura, este estudio se limita a los artículos de investigación estudiados, así mismo, a los años utilizados para filtrar la información en la búsqueda. En este caso, se presentaron trabajos donde, a partir de técnicas utilizadas en sistemas de visión artificial, se identifican y hasta se cuentan los HFMA en las imágenes de estudio.

Así mismo, el trabajo permite conocer estrategias que pueden ser implementadas en la concepción de sistemas enfocados en la identificación automática de HFMA, en este caso, sobresale el empleo de la transformada de Hough como estrategia para detectar formas circulares u ovaladas en las imágenes, comúnmente encontradas en los HFMA. Al mismo tiempo, las respuestas de la transformada de Hough en cada caso pueden ser empleadas como entradas a redes neuronales artificiales, las cuales pueden ser utilizadas en los procesos de reconocimiento de los HFMA. Desde otra perspectiva, se indica también que se reportan trabajos donde se emplea la morfología matemática difusa, también con el objetivo de identificar si un objeto es o no una espora de hongo y, a partir de esta información, realizar el conteo.

Por otro lado, se entiende que los sistemas propuestos alcanzan únicamente la etapa de identificación de objetos, llegando a una clasificación simple y binaria de “espora, o no espora”, y enfocados básicamente en la forma circular y elíptica de las mismas. Por tanto, se necesitan sistemas que ahonden en las características de las esporas, por ejemplo, color y textura, para apoyar los procesos de clasificación. Así, dichas características podrían ser utilizadas como entradas en los sistemas propuestos para mejorar el desempeño. Por otro lado, se indica un vacío en la revisión bibliográfica asociado a la clasificación no binaria, teniendo en cuenta su importancia, de acuerdo con la cantidad de familias y géneros reportados en la literatura. De esta forma, atributos como los mencionados, pueden ser tenidos en cuenta y asociados al empleo de redes neuronales convolucionales, proponiendo sistemas basados en *deep learning*, u otras propuestas asociadas a técnicas de inteligencia artificial, convirtiendo este hecho en un foco de estudio.

Finalmente se indica que, con el auge de los sistemas de visión artificial, cada vez más comunes, se proyecta una clara tendencia al empleo de este tipo de sistemas en los procesos de identificación y clasificación no binaria de HFMA. Esto, debido al uso de microfotografías digitales en los procesos actuales y a los ya primeros pasos generados en los sistemas de identificación binaria presentados. Finalmente, se indica que los estudios de hongos

formadores de micorrizas arbusculares seguirán siendo tendencia, y con ellos la identificación, conteo y clasificación de estos, ya que se relacionan directamente con propuestas enfocadas al tratamiento y recuperación de los suelos desde un punto de vista agroecológico, generando tecnologías limpias, eficientes y sustentable, y con ello contribuyendo a la salud y bienestar de los consumidores y productores de alimentos.

5. AGRADECIMIENTOS

Este producto es derivado del proyecto de investigación denominado “Sistema automático de identificación morfológica de micorriza arbusculares”, avalado por la Universidad de la Amazonia, a quien se agradece por la gestión y apoyo suministrado. El artículo no contó con el apoyo económico de ninguna entidad externa pública o privada.

CONFLICTOS DE INTERÉS DE LOS AUTORES

Los autores declaran que no se presenta ningún conflicto de interés.

CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

Todos los autores contribuyeron por igual en la compilación y análisis de la información, así como con la redacción del documento. Específicamente:

Jimilgton Enrique Soto Sogamoso, formuló la compilación inicial de documentos y generó la base de datos asociada, así mismo redactó la base del documento.

Jesús Emilio Pinto Lopera, concibió la elaboración del artículo, apoyo en la búsqueda de información y ajustó la redacción y la presentación final del documento.

Edwin Eduardo Millán Rojas, apoyo en la metodología de búsqueda de información y redacción del documento.

6. REFERENCIAS

- [1] A. Báez-Pérez; A. Limón-Ortega; C. E. Ramírez-Barrientos; I. A. Ortega-Villalobos; E. A. Olivares-Arreola, “Efecto de biofertilizantes y agricultura de conservación en la producción de trigo en un Vertisol”, *Rev. TERRA Latinoam.*, vol. 38. No. 3, pp. 569–581, 2020. <https://doi.org/10.28940/terra.v38i3.649>
- [2] J. F. Sandoval-Pineda; U. A. Pérez-Moncada; A. Rodríguez; E. Torres-Rojas, “Alta presencia de cadmio resulta en baja diversidad de hongos formadores de micorrizas arbusculares asociados a cacao (*Theobroma cacao* L.)”, *Acta Biológica Colombiana*, vol. 25, no. 3, pp. 333–344, 2020. <http://dx.doi.org/10.15446/abc.v25n3.78746>
- [3] A. Díaz Franco; D. Gálvez López; F. E. Ortiz Cháirez, “Bioinoculación y fertilización química reducida asociadas con el crecimiento de planta y productividad de sorgo”, *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, vol. 31, no. 3, pp. 245–252, 2015. <http://www.scielo.org.mx/pdf/rica/v31n3/v31n3a4.pdf>
- [4] L. P. Garzón, “Importancia de las micorrizas arbusculares (ma) para un uso sostenible del suelo en la amazonia colombiana”, *Rev. Luna Azul*, no. 42, pp. 217–234, 2016. <https://revistasojis.ucaldas.edu.co/index.php/lunazul/article/view/1616>
- [5] A. Díaz-Franco; F. Alejandro-Allende; F. E. Ortiz-Cháirez, “Características de planta y productividad de sorgo con dosis de micorriza arbuscular en Tamaulipas”, *Revista Chapingo Serie Zonas Áridas*, vol. 16, no. 1, pp. 33–38, 2017. <https://www.redalyc.org/pdf/4555/455552312003.pdf>

- [6] Y. M. Quiñones Martínez et al., “Comunidades vegetales en suelo de ecosistema semiárido y su relación con hongos micorrízicos”, *Terra Latinoamericana*, vol. 36, no. 4, pp. 381–391, 2018. <https://doi.org/10.28940/terra.v36i4.401>
- [7] M. Agüero-Fernández; L. G. Hernández-Montiel; A. Nieto-Garibay; E. Troyo-Diéguez; R. Zulueta-Rodríguez; B. Murillo-Amador, “Hongos micorrízicos arbusculares como agentes mitigadores del estrés salino por NaCl en plántulas de albahaca”, *Nova Scientia*, vol. 8, no. 17, pp. 60–86, 2016. <https://doi.org/10.21640/ns.v8i17.533>
- [8] M. M. Gupta; L. K. Abbott, “Exploring economic assessment of the arbuscular mycorrhizal symbiosis”, *Symbiosis*, vol. 83, no. 2, pp. 143–152, 2021. <https://doi.org/10.1007/s13199-020-00738-0>
- [9] I. A. Salmerón-Santiago; M. E. Pedraza-Santos; L. S. Mendoza-Oviedo; A. T. Chávez-Bárceñas, “Cronología de la taxonomía y cladística de los glomeromicetos”, *Revista Fitotecnia Mexicana*, vol. 38, no. 2, pp. 153–163, 2015. <http://www.scielo.org.mx/pdf/rfm/v38n2/v38n2a5.pdf>
- [10] Y. Rodríguez; Y. Dalpé; S. Séguin, “Clasificación taxonómica de la cepa de hongo micorrizógeno arbuscular INCAM-2 como *Funneliformis mosseae*, syn. *Glomus mosseae*”, *Cultivos tropicales*, vol. 35, no. 2, pp. 27–33, 2014. <http://scielo.sld.cu/pdf/ctr/v35n2/ctr04214.pdf>
- [11] E. C. L. Yang; C. Khoo-Lattimore; C. Arcodia, “A systematic literature review of risk and gender research in tourism”, *Tourism Management*, vol. 58, pp. 89–100, Feb. 2017. <https://doi.org/10.1016/j.tourman.2016.10.011>
- [12] J. P. W. Young, “A molecular guide to the taxonomy of arbuscular mycorrhizal fungi”, *New Phytologist*, vol. 193, no. 4, pp. 823–826, Mar. 2012. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2011.04029.x>
- [13] D. Redecker; A. Schüßler; H. Stockinger; S. L. Stürmer; J. B. Morton; C. Walker, “An evidence-based consensus for the classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota)”, *Mycorrhiza*, vol. 23, no. 7, pp. 515–531, 2013. <https://doi.org/10.1007/s00572-013-0486-y>
- [14] H. J. Monroy L.; C. R. Salamanca; C. Cano; L. M. Moreno-Conn; J. O. Orduz-Rodríguez, “Influencia de las coberturas en cultivos de cítricos sobre los hongos formadores de micorrizas arbusculares en Oxisoles del piedemonte llanero colombiano”, *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, vol. 14, no. 1, pp. 53–65, Jan. 2013. https://doi.org/10.21930/rcta.vol14_num1_art:343
- [15] F. Oehl; E. Sieverding; J. Palenzuela; K. Ineichen; G. Alves da Silva, “Advances in Glomeromycota taxonomy and classification”, *IMA Fungus*, vol. 2, no. 2, pp. 191–199, 2011. <https://doi.org/10.5598/ima fungus.2011.02.02.10>
- [16] S. E. Smith; S. Dickson, “Quantification of Active Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Infection Using Image Analysis and Other Techniques”, *Australian Journal of Plant Physiology*, vol. 18, no. 6, pp. 637–648, 1991. <https://doi.org/10.1071/PP9910637>
- [17] D. C. Green; R. Newsam; P. Jeffries; J. C. Dodd; A. Vilarino, “Quantification of mycelial development of arbuscular mycorrhizal fungi using image analysis”, *Mycorrhiza*, vol. 5, no. 2, pp. 105–113, 1994. <https://doi.org/10.1007/BF00202341>
- [18] J. Schindelin et al., “Fiji: an open-source platform for biological-image analysis”, *Nature Methods*, vol. 9, no. 7, pp. 676–682, 2012. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2019>
- [19] A. Schüßler; C. Walker, *The Glomeromycota: A species list with new families and new genera*, CreateSpace Independent Publishing Platform, 2011. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20198647552>
- [20] S. Guzmán-González; J. Farías-Larios, “Biología y regulación molecular de la micorriza arbuscular”, *Avances en Investigación Agropecuaria*, vol. 9, no. 2, pp. 17–31, 2005. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=83790202>
- [21] A. Khalil Gardezi; S. R. Márquez Berber; A. V. Ayala Garay, “Los usos y beneficios de las micorrizas en la agricultura”, in *Desarrollo y tecnología. Aportaciones a los problemas de la sociedad*, Primera edición, México, Plaza y Valdés Editores, 2015, pp. 243–265. https://www.researchgate.net/profile/Elizabeth_Acosta2/publication/280114658_Sist_%0Aema_Agroforestal_establecido_en_suelos_del_Distrito_de_Riego_028_Tulancingo_%0AHidalgo/links/55aaf4e208ae815a04279460.pdf#page=244%0D
- [22] F. A. Rivera Páez; V. González Salazar; J. G. González Acosta; P. A. Ossa López, “Caracterización molecular, análisis morfológico y colonización micorrízica en la rizósfera del aguacate (*Persea americana* Mill) en Caldas, Colombia”, *Acta Agronómica*, vol. 65, no. 4, pp. 398–405, Dec. 2016. <http://dx.doi.org/10.15446/acag.v65n4.51714>
- [23] A. Pérez C.; F. Espitia D.; A. Núñez O.; R. Jiménez Z., “Diversidad de géneros de hongos formadores de micorrizas arbusculares asociados a pasto colosuana (*Bothriochloa pertusa* (L) A. Camus) en suelos compactados y no compactados del municipio de San Marcos, Sucre-Colombia”, *Rev Colombiana Cienc Anim. - RECIA*, vol. 7, no. 2, pp. 185–190, 2015. <https://doi.org/10.24188/recia.v7.n2.2015.267>
- [24] A. Pérez; K. Cury; L. Oviedo, “Colonización de micorrizas arbusculares en tres especies de pasturas del departamento de Sucre”, *Temas Agrarios*, vol. 21, no. 2, pp. 65–75, 2016. <https://doi.org/10.21897/rta.v21i2.902>

- [25] E. Furrzola; Y. Torres-Arias, “Parte II. Las micorrizas”, in *Ecotecnologías para la restauración ecológica: los tratamientos de semillas y las micorrizas*, La Habana, Editorial Academia, 2018, pp. 55–92.
- [26] Z. Li; N. Wu; S. Meng; F. Wu; T. Liu, “Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) enhance the tolerance of *Euonymus maackii* Rupr. At a moderate level of salinity”, *PLoS ONE*, vol. 15, no. 4, pp. 1–16, 2020. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0231497>
- [27] F. López-Botía; D. Y. Peña “Presencia de esporas de hongos micorrízico arbusculares en cinco estados sucesionales de bosque altoandino Colombiano”, *Revista De Investigación Agraria y Ambiental*, vol. 9, no. 2, pp. 135–148, 2018. <https://doi.org/10.22490/21456453.2194>
- [28] J. D. Lewis, “Mycorrhizal Fungi, Evolution and Diversification of”, *Encyclopedia of Evolutionary Biology*, vol. 3, pp. 94–99, 2016. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800049-6.00251-1>
- [29] K. J. Restrepo Giraldo; M. I. Montoya Correa; P. Henao Jaramillo; L. A. Gutiérrez; L. P. Molina Guzmán, “Caracterización de hongos micorrízicos arbusculares de suelos ganaderos del trópico alto y trópico bajo en Antioquia, Colombia”, *Idesia (Arica)*, vol. 37, no. 1, pp. 35–44, Mar. 2019. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-34292019005000301>
- [30] M. Chen; M. Arato; L. Borghi; E. Nouri; D. Reinhardt, “Beneficial Services of Arbuscular Mycorrhizal Fungi – From Ecology to Application”, *Frontiers in Plant Science*, vol. 9, p. 1270, 2018. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01270>
- [31] M. Ruiz-Sánchez; Y. Santana Baños; A. Y. Muñoz Hernández; A. Y. Martínez Robaina; B. V. Bharat, “Simbiosis de micorrizas arbusculares en plantas de arroz (*Oryza sativa* L.) en condiciones de inundación y secano”, *Acta Agronómica*, vol. 64, no. 3, pp. 227–233, 2015. <https://doi.org/10.15446/acag.v64n3.43087>
- [32] S. W. Graham; V. K. Y. Lam; V. S. F. T. Merckx, “Plastomes on the edge: the evolutionary breakdown of mycoheterotroph plastid genomes”, *New Phytologist*, vol. 214, no. 1, pp. 48–55, Apr. 2017. <https://doi.org/10.1111/nph.14398>
- [33] X. Sun; W. Hu; M. Tang; H. Chen, “Characterizing and handling different kinds of AM fungal spores in the rhizosphere”, *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, vol. 32, no. 6, p. 97, Abr. 2016. <https://doi.org/10.1007/s11274-016-2053-0>
- [34] M. Francis, *Molecular Mycorrhizal Symbiosis*. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc., 2016.
- [35] H. K. Kehri; O. Akhtar; I. Zoomi; D. Pandey, “Arbuscular Mycorrhizal Fungi: Taxonomy and its Systematics”, *Int. J. Life Sci. Res.*, vol. 6, no. 4, pp. 58–71, Oct. 2018. https://www.researchgate.net/publication/328289460_Arbuscular_Mycorrhizal_Fungi_Taxonomy_and_its_Systematics
- [36] W. Aguilar-Ulloa; P. Arce-Acuña; F. Galiano-Murillo; T. J. Torres-Cruz, “Aislamiento de esporas y evaluación de métodos de inoculación en la producción de micorrizas en cultivos trampa”, *Tecnología en Marcha*, vol. 29, no. 3, pp. 5–14, 2016. <https://dx.doi.org/10.18845/tm.v29i7.2700>
- [37] R. Akshaya; H. S. Kumar; D. Bhat, “A novel method to recognize object in Images using Convolution Neural Networks”. in *2019 IEEE International Conference on Intelligent Computing and Control Systems (ICCS)*, 2019, pp. 425–430. <https://doi.org/10.1109/ICCS45141.2019.9065367>
- [38] L. Jácome; L. Benavides; D. Jara; G. Riofrio; F. Alvarado; M. Pesantez, “A Survey on Intelligent Traffic Lights”, in *2018 IEEE International Conference on Automation / XXIII Congress of the Chilean Association of Automatic Control (ICA-ACCA)*, 2018, pp. 1–6. <https://doi.org/10.1109/ICA-ACCA.2018.8609705>
- [39] D. A. Heras Benavides, “Clasificador de imágenes de frutas basado en inteligencia artificial”, *Killkana Técnica*, vol. 1, no. 2, p. 21–30, Aug. 2017. https://doi.org/10.26871/killkana_tecnica.v1i2.79
- [40] R. Kotteswari; K. G. Sathiya, “Analysis of foreground detection in MRI images using region based segmentation”, in *2016 International Conference on Communication and Signal Processing (ICCSP)*, 2016, pp. 1062–1065. <https://doi.org/10.1109/ICCSP.2016.7754312>
- [41] D. Santos; L. Dallos; P. A. Gaona-García, “Algoritmos de rastreo de movimiento utilizando técnicas de inteligencia artificial y machine learning”, *Información tecnológica*, vol. 31, no. 3, pp. 23–38, Jun. 2020.
- [42] O. D. Velasco-Delgado; M. F. Pérez-Sandoval; J. F. Flórez-Marulanda, “Design and construction of automatic sorting station with machine vision”, *TecnoLógicas*, vol. 17, no. 32, pp. 97–109, Jan. 2014. <https://doi.org/10.22430/22565337.200>
- [43] Y. Zhao; F. Lin; S. Liu; Z. Hu; H. Li; Y. Bai, “Constrained-Focal-Loss Based Deep Learning for Segmentation of Spores”, in *IEEE Access*, vol. 7, pp. 165029–165038, 2019. <https://doi.org/10.1109/ACCESS.2019.2953085>
- [44] V. Stoian *et al.*, “Sensitive approach and future perspectives in microscopic patterns of mycorrhizal roots”, *Scientific Reports*, vol. 9, no. 1, p. 10233, Jul. 2019. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-46743-2>
- [45] G. Carotenuto; I. Sciascia; L. Oddi; V. Volpe; A. Genre, “Size matters: three methods for estimating nuclear size in mycorrhizal roots of *Medicago truncatula* by image analysis”, *BMC Plant Biology*, vol. 19, no. 1, p. 180, May. 2019. <https://doi.org/10.1186/s12870-019-1791-1>
- [46] J. Y. Tinevez *et al.*, “TrackMate: An open and extensible platform for single-particle tracking”, *Methods*, vol. 115, pp. 80–90, Feb. 2017. <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2016.09.016>

- [47] A. Cardini; E. Pellegrino; E. del Dottore; H. A. Gamper; B. Mazzolai; L. Ercoli, “HyLength: a semi-automated digital image analysis tool for measuring the length of roots and fungal hyphae of dense mycelia,” *Mycorrhiza*, vol. 30, no. 2, pp. 229–242, Apr. 2020. <https://doi.org/10.1007/s00572-020-00956-w>
- [48] E. Evangelisti et al., “Deep learning-based quantification of arbuscular mycorrhizal fungi in plant roots”, *New Phytologist*, vol. 232, no. 5, pp. 2207–2219, Dec. 2021. <https://doi.org/10.1111/nph.17697>
- [49] C. A. O. Melo; J. G. Lopes; A. O. Andrade; R. M. P. Trindade; R. S. Magalhaes, “Semi-Automated Counting of Arbuscular Mycorrhizal Fungi Spores Using Artificial Neural Network”, in *IEEE Latin America Transactions*, vol. 15, no. 8, pp. 1566–1573, 2017. <https://doi.org/10.1109/tla.2017.7994807>
- [50] C. A. O. D. E. Melo; J. Lopes; A. Andrade; R. Trindade; R. Magalhães, “Semi-automated counting model for arbuscular mycorrhizal fungi spores using the Circle Hough Transform and an artificial neural network”, *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, vol. 91, no. 4, pp. 1–15, 2019. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201920180165>
- [51] A. O. Andrade et al., “Analysis of fuzzy morphology in spore counts of mycorrhizal fungi”, in *2015 Annual Conference of the North American Fuzzy Information Processing Society (NAFIPS) held jointly with 2015 5th World Conference on Soft Computing (WConSC)*, 2015, pp. 1–8. <https://doi.org/10.1109/nafigs-wconsc.2015.7284131>
- [52] A. O. Andrade; R. M. P. Trindade; F. B. Bergamasch; A. Santos Barros; R. H. Nunes Santiago; A. M. Guimaraes Guerreiro, “Analyzing the R-Implications of Weber and Fodor in the Counting of Mycorrhizal Fungi Spores”, *Journal of Communication and Computer*, vol. 13, pp. 116–124, 2016. <https://doi.org/10.17265/1548-7709/2016.03.002>
- [53] Invam, “International Culture Collection of (Vesicular) Arbuscular Mycorrhizal Fungi”, <http://fungi.invam.wvu.edu/>
- [54] A. O. Andrade et al., “The counting of mycorrhizal fungi spores using fuzzy mathematical morphology”, in *2015 Annual Conference of the North American Fuzzy Information Processing Society (NAFIPS) held jointly with 2015 5th World Conference on Soft Computing (WConSC)*, 2015, pp. 1–6. <https://doi.org/10.1109/nafigs-wconsc.2015.7284167>
- [55] A. S. Barros; A. O. Andrade; R. M. P. Trindade, “Utilização da morfologia fuzzy para quantificação de esporos de fungos micorrizicos”, *Rev. Ciência da Comput*, vol. 1, no. 1, pp. 1–7, Mar. 2019. <https://doi.org/10.22481/recic.v1i1.4920>