

Validación mediante el Método PPI de un Algoritmo Computacional para la medición automática del área de afectación por Sigatoka negra en imágenes de hojas de plátano del Departamento del Meta, Colombia

Sebastián F. PINTO-GONZÁLEZ
GIPS-Programa de Bioingeniería, Universidad El Bosque,
Bogotá, Colombia

Juan D. ESCOBAR-GUZMÁN
GIPS-Programa de Bioingeniería, Universidad El Bosque,
Bogotá, Colombia

Karen N. MURCIA-ZAPATA
GIPS-Programa de Bioingeniería, Universidad El Bosque,
Bogotá, Colombia

María P. ROMERO-CERÓN
GIPS-Programa de Bioingeniería, Universidad El Bosque,
Bogotá, Colombia

Brayan A. VALENCIA-VIDAL
GIPS-Programa de Bioingeniería, Universidad El Bosque,
Bogotá, Colombia

y

Graciela JUEZ-CASTILLO
GIPS- Grupo de Investigación OSIRIS&BIOAXIS, Programa de Bioingeniería, Universidad El Bosque,
Bogotá, Colombia

1. INTRODUCCIÓN

RESUMEN

Sigatoka Negra, es una fitopatología causada por el hongo *Mycosphaerella fijiensis*, que reduce la producción de plátano y banano. Actualmente en Colombia los métodos de detección se basan en análisis visual sobre la plantación y para establecer la relación porcentual del área afectada se usa la escala de Stover. Este trabajo tuvo como objetivo comparar dos métodos de medición del estadio de Sigatoka Negra en hojas de plátano, el primero fue el cálculo manual de PPI, el cual permitió establecer el porcentaje de afectación de una plantación según la escala de Stover modificada por Gaulh y el segundo, un algoritmo computacional desarrollado en el Toolbox Image Processing del software MATLAB 2014, el cual determinó el área de afección de la enfermedad de forma automática. Se compararon los dos métodos utilizando 50 imágenes biológicas provenientes de plantaciones de plátano del Departamento del Meta. Col. Finalmente se logró validar el algoritmo computacional desarrollado, identificando los estadios desde el 3 hasta el 6, utilizando un umbral de color asociado al porcentaje de área necrótica del tejido, el cual correspondió 15% para el estadio 3, 16-33% para el estadio 4, 34-50% para el estadio 5 y 50% en adelante para el estadio 6.

Palabras Claves: Sigatoka Negra, Escala de Stover, Algoritmo Computacional, Fitopatología, Procesamiento de imágenes, género Musa.

La fitopatología Sigatoka Negra es causada por *Mycosphaerella fijiensis* Morelet, un hongo que afecta drásticamente el sistema foliar de las plantaciones siendo considerada como una de las mayores amenazas por el efecto devastador con que se ha venido manifestando sobre las plantaciones de banano y platano, siendo esta la causa de la reducción de productividad de las mismas alcanzando pérdidas de hasta el 80% de los rendimientos. Sigatoka negra llega a producir desórdenes significativos en el crecimiento de la planta, ya que afecta drásticamente el sistema foliar de las plantaciones y la calidad del fruto como producto de exportación.

Colombia se ha considerado como el tercer productor mundial de plátano con 2,7 millones de toneladas anuales, es decir que se siembra aproximadamente 350.000 hectáreas del cultivo de plátano donde en el meta se siembran aproximadamente unas 22.000 hectáreas [1].

El daño de la enfermedad, es ocasionado principalmente por condiciones climáticas favorables para el desarrollo del patógeno, sumado a una baja sensibilidad a los productos utilizados en el manejo de la enfermedad, y a la necesidad de incrementar la rentabilidad por área cultivada. La Sigatoka Negra constituye un factor negativo muy común en todas las zonas productoras al registrar pérdidas entre 26–35%. Económicamente la Sigatoka es más afín al plátano que al banano, la diferencia radica en la no aplicación de abono en plátano haciéndolo más susceptible a la enfermedad [1].

Actualmente los sistemas de control de la enfermedad se realizan a partir del tratamiento químico y el uso de estrategias culturales

los cuales permiten disminuir la evolución de la enfermedad, sin embargo, el uso continuo de sustancias químicas generan un daño ecosistémico y contribuyen con la severidad de la enfermedad y la multiresistencia del patógeno [2], por ello es importante tratar de minimizar la actividad fungicida sobre las plantaciones. Para lograr el diagnóstico de la presencia de Sigatoka Negra, se reportan estudios sobre variables climatológicas y fitopatológicas, entre ellas la determinación del PPI (Promedio Ponderado de Infección), éste cálculo a través de observación básica directa a la planta, fórmulas matemáticas y la escala de Ganry, Meyer (1972) y Stover (1989) Fig 1, permite identificar el estadio en el cual se encuentra la plantación e indicar el porcentaje de tejido necrótico que se presenta [3], no obstante es un método que requiere de gran experiencia y tiempo por parte de quien realiza el reconocimiento visual.

Este estudio tuvo como objetivo comparar dos métodos de medición del estadio de Sigatoka Negra en hojas de plátano de una región del departamento del Meta, el primer método de cálculo fue un algoritmo computacional desarrollado en el Toolbox Image Processing del software MATLAB 2014. Apoyados en la escala de Stover modificada por Gaulh, los dos métodos propuestos lograron definir el estadio de Sigatoka Negra en las imágenes analizadas y permitieron calcular el porcentaje de área afectada por la enfermedad. El algoritmo computacional identificó los estadios desde el 3 hasta el 6, utilizando un umbral de color asociado al porcentaje de área necrótica del tejido, el cual correspondió 15% para el estadio 3, 16-33% para el estadio 4, 34-50% para el estadio 5 y 50% en adelante para el estadio 6.

Severidad de la Enfermedad

Para determinar la evolución de Sigatoka Negra en las plantaciones se han establecido características morfológicas de la hoja afectada correspondientes a un estadio específico, en la Figura 2 se puede observar entre paréntesis el porcentaje de área afectada en la hoja por la enfermedad y el estado asociado a la severidad de la misma. Este método ha sido ampliamente utilizado en la historia del control de Sigatoka Negra en varios países generando favorables resultados [4], sin embargo, la incorrecta determinación del estadio puede contribuir al uso frecuente de sustancias químicas por parte del agricultor cuando se desconocen con certeza los cambios fenotípicos de la planta que se presentan por desarrollo de la enfermedad.

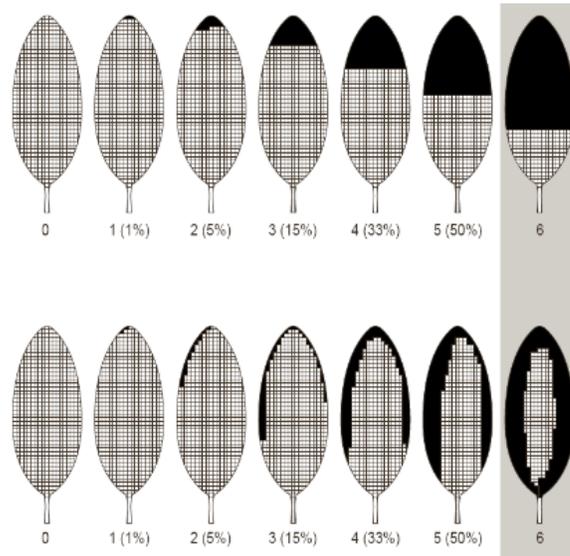


Figura 1. Representación de los Estadios de Sigatoka Negra. Escala de Ganry, Meyer (1972) y Stover (1989) [4]

Diagnóstico Biológico de la Enfermedad

La diseminación de Sigatoka Negra entre varias regiones del mundo se presenta por el ciclo biológico de la enfermedad Fig 2, variables climáticas y mecanismos de actividad humana, lo cual genera las condiciones de desarrollo del patógeno. La propagación de la enfermedad está directamente asociada a estructuras celulares entre ellas conidios, los cuales son liberados de los conidióforos por acción del agua e invaden las hojas a través de los estomas Fig 2. El daño intracelular se expresa con cambios físicos que para la planta se hacen evidentes mediante la aparición de manchas con variación en la pigmentación del tejido vegetal, esta información indica la evolución de la enfermedad la cual debe ser observada por el agricultor estableciendo mecanismos de control a tiempo para evitar que el daño continúe, se propague o cause la muerte de la planta [6].

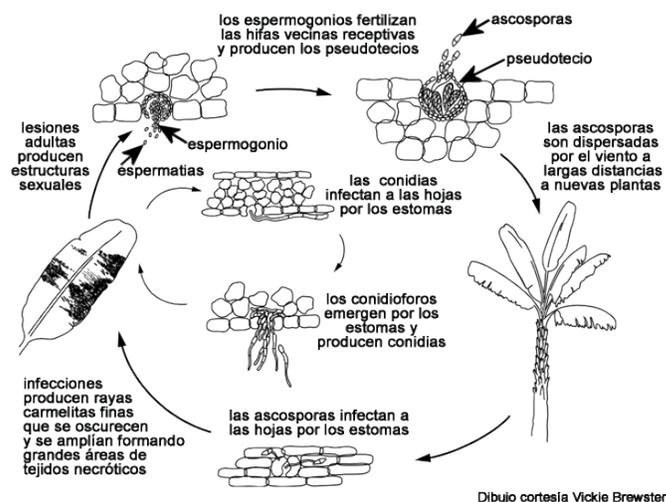


Figura 2. Ciclo de Vida de Sigatoka Negra [5].

Una vez comprendido el ciclo de vida del organismo, es muy importante resaltar que en el periodo en que se desarrolla la

fitopatología, se presentan varios estadios o síntomas, los cuales permiten reconocer el área afectada de la planta y el proceso evolutivo del hongo en el tejido vegetal (Fig 3).

Estadio 1. Aparecen pequeñas manchas de color blanco con cierta tonalidad amarilla y tamaños inferiores a 1mm de longitud (región delimitada por el círculo) [6].

Estadio 2: Comienzan a aparecer estrías de color café a lo largo de la hoja con tamaños entre 2-3 mm de longitud (región delimitada por el círculo), su distribución varía sin embargo es

común observarlas con mayor prominencia en los bordes de la hoja [6].

Estadio 3: Las estrías comienzan a aumentar su tamaño variando entre 5 mm hasta 20mm de longitud en la hoja [6].

Estadio 4: Las manchas comienzan a tornarse de color negro evidenciando muerte tisular [6].

Estadio 5: Las manchas negras se extienden y están rodeadas por una zona de color Amarillo [6].

Estadio 6: Las manchas comienzan a mostrarse hondeadas y se acentúa el color negro en las mismas, se pueden observar fácilmente estructuras celulares productoras de ascoesporas [6].

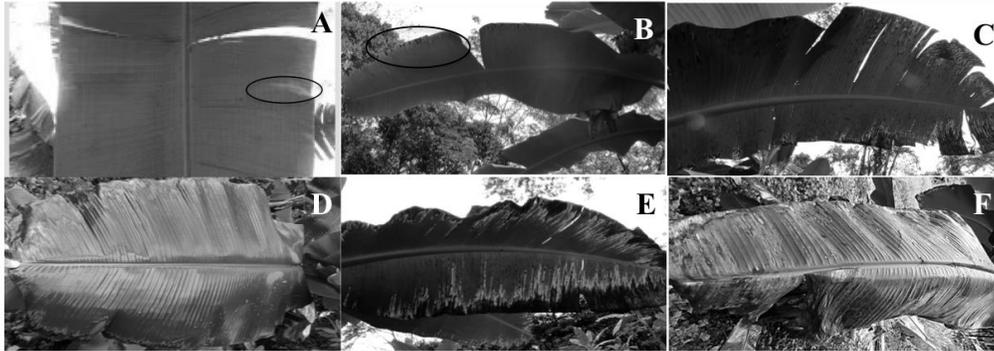


Figura 3. Evolución de los Síntomas de la Enfermedad.

(A) Estadio 1, (B) Estadio 2, (C) Estadio 3, (D) Estadio 4, (E) Estadio 5, (F) Estadio 6. Hacienda la Cosmopolitana. Restrepo, Meta. Col. Fotos Propiedad de Autores.

2. DISEÑO Y DESARROLLO DEL ALGORITMO

Este estudio contempló el diseño y desarrollo de un algoritmo computacional utilizando el Toolbox Image Processing del software MATLAB 2014 para la medición automática del área afectada por Sigatoka Negra. Para validar el algoritmo se utilizó el método convencional definido como Promedio Ponderado de Infección, PPI, el cual determina el grado de severidad de la enfermedad en una planta o plantación.

Algoritmo Computacional

Para el desarrollo del algoritmo se tomaron 30 muestras fotográficas utilizando una cámara de referencia Panasonic DMC-FH2, en el lugar de estudio Hacienda La Cosmopolitana en la ciudad Restrepo, Meta, Colombia, para la captura de la imagen se consideraron parámetros específicos establecidos previamente de acuerdo a las condiciones óptimas requeridas para el procesamiento de la imagen, entre ellos:

- Ángulo de incidencia de la luz sobre la hoja de la planta.
- Posición horizontal de la hoja respecto al observador.
- Captura de la mayor cantidad de área de la hoja.
- De ser posible aislar la hoja de las otras adyacentes para minimizar error por ruido dentro de la imagen.

Pre-Procesamiento de la Imagen: Para esta etapa se realizó un análisis RGB para obtener las características físicas determinadas por los síntomas de la enfermedad, este análisis se realizó por medio de histogramas de cada color, rojo (Fig 4), verde y azul, los cuales proporcionaron información de la densidad de cada color en la imagen.

Una vez extraídas las características se realizaron pruebas para determinar la especificidad del rango en el cual se identificará fácilmente la hoja, separándola del ruido, de la enfermedad y del ambiente y evitando que se presentaran objetos ajenos a los requeridos como se aprecia en la Figura 5. Posterior a la obtención de la imagen con la mínima presencia de ruido, se realizó un cuadro que delimitara aún más la imagen para darle más especificidad y facilitar la medición de área afectada dentro de una región de menor tamaño como se aprecia en la Figura 6, contribuyendo con la reducción del tiempo de análisis.

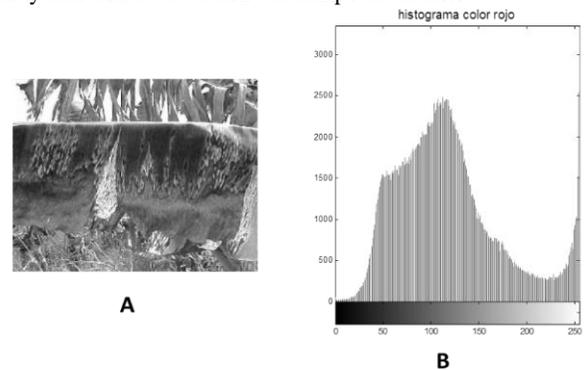


Figura 4. (A). Imagen en escala de grises del color rojo. (B) Histograma de una capa de color rojo de una fotografía de hoja de plátano.



Figura 5. Representación de pre-procesamiento digital de la imagen.

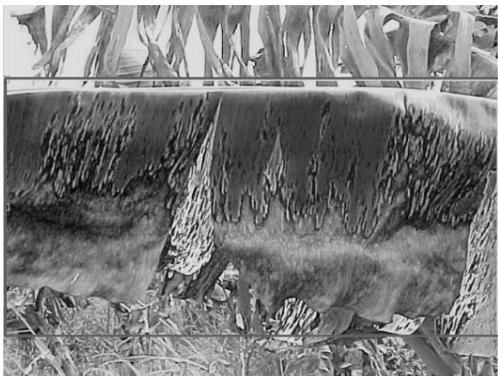


Figura 6. Resultado de la selección de área de interés y contraste obtenido para realizar el cálculo de área afectada con el área total de la hoja.

Determinación del Área Afectada por la Enfermedad: una vez cumplido el procedimiento anterior se implementó la Ec. (1), en la cual PI representa el porcentaje de infección, At es el área total de la hoja delimitado por el cuadro (Fig 6), Ab es el área de blancos, ruido o entorno y Av es el área de color verde de la hoja o zona no afectada por la enfermedad. De esa manera se logró obtener el porcentaje de la infección de la hoja y extrapolándolo a la Escala de Ganry, Meyer (1972) y Stover (1989) (Fig 1), se correlacionó el estadio de infección que presenta la hoja.

$$PI = \frac{At - Av - Ab}{At} \quad (1)$$

Promedio Ponderado de Infección (PPI)

Para validar el algoritmo computacional desarrollado se utilizó el método convencional PPI, el cual se relaciona directamente con la severidad de la enfermedad, entre más alto el valor de PPI mayor la incidencia de la enfermedad.

El PPI se calculó de manera análoga como se hace tradicionalmente, es decir por medio de un entrenamiento y conocimiento empírico sobre la identificación visual de Sigatoka Negra en las hojas de la planta y usando la Ec. (2). Donde, Ch corresponde a la cantidad de hojas que presentan cada estadio (Ee) y X es el total de hojas analizadas.

$$PPI = \frac{\sum_i Ch_i * Ee_i}{X} \quad (2)$$

3. RESULTADOS

Medición Automática del Área Afectada

Se obtuvo un algoritmo capaz de calcular el porcentaje del área afectada por la enfermedad en hojas de plátano, el cual permitió determinar el estadio de la infección según la escala de Ganry, Meyer (1972) y Stover (1989) (Tabla 1). El algoritmo solo permite la detección del estadio 3 al 6, debido a que la pigmentación en los estadios 0 al 2 es escasa lo que dificulta la extracción de características de la imagen.

Este método facilita la medición del área de afectación causada por Sigatoka Negra para agricultores y profesionales logrando un diagnóstico rápido y efectivo.

Cálculo de PPI

Según estudios reportados el valor de PPI indica el grado de daño o afectación en una plantación específica, éste debe mantenerse por debajo de 0.5 para evitar que la enfermedad cause daños en el rendimiento y calidad del fruto, entre más alto el valor de PPI, la severidad es mayor. El valor de PPI resultante en uno de los muestreos fue de 2,72 Ec (3) y en otro de 4,07 (Tabla 2), lo cual indica para los dos muestreos que no se está realizando un proceso efectivo de control contra la enfermedad Sigatoka Negra en el lugar de estudio. El método de PPI aunque puede estimar el grado de severidad de la enfermedad en la plantación, no genera resultados altamente confiables, debido a que depende de variables humanas como la experiencia y el nivel de conocimiento en los síntomas de la enfermedad.

El algoritmo desarrollado funciona de una manera óptima bajo las condiciones determinadas lo cual facilita la medición del área afectada por Sigatoka Negra en una hoja de plátano, de esta forma genera resultados más precisos y confiables respecto al método convencional del PPI, el cual permitió estimar el nivel de severidad de la plantación, sin embargo, no indicó el estadio específico en el cual se encuentra la planta lo que conlleva a que el agricultor utilice métodos de tratamiento que no corresponden exactamente a los que deberían implementarse.

En trabajos futuros se espera validar el algoritmo computacional con mayor número de muestras que permitan establecer criterios de calidad.

$$PPI = \frac{\sum(3 * 0), (5 * 1), (4 * 2), (10 * 3), (2 * 4), (2 * 5), (3 * 6)}{29} = 2.72 \quad (3)$$

Tabla 1. Relación de Porcentaje de Área Afectada en una hoja de plátano con el estadio correspondiente.

Porcentaje de Área Afectada en una hoja	Estadio*
15	3
16-33	4
34-50	5
50>	6

*Estadios de la Enfermedad de Sigatoka Negra del 3 al 6. Escala de Ganry, Meyer (1972) y Stover (1989).

Tabla 2. Cálculo del promedio ponderado de infección (PPI) de una plantación, realizado con una muestra de 43 hojas

Estadio	Hojas afectadas por estadio	% de hojas infectadas por estadios	PPI por estadio	PPI de plantación
0	4	9,30	0	4,07
1	6	13,95	13,95	
2	4	9,30	18,60	
3	1	2,33	6,97	
4	2	4,65	18,60	
5	6	13,95	69,76	
6	20	46,51	279,06	

4. CONCLUSIONES

El algoritmo computacional permitió la identificación automática de los estadios de Sigatoka negra desde el 3 hasta el 6, debido a que los estadios 1 y 2 son bastante similares en su expresión biológica y los cambios de color no difieren claramente entre ellos. Por otro lado, el algoritmo computacional ofrece una alternativa confiable y de mayor precisión en la identificación de la fitopatología, lo que facilita el diagnóstico temprano. Los métodos de detección temprana de los estadios de Sigatoka Negra brindarán información acertada y oportuna a los agricultores para tomar decisiones respecto al tratamiento adecuado de la enfermedad, controlando su evolución o dispersión en toda la plantación.

Pensando en la usabilidad del software se plantea para trabajos futuros crear una aplicación móvil que permita al agricultor y profesionales determinar de manera fácil y efectiva el estado de la planta minimizando el uso de sustancias químicas.

Agradecimientos

Vicerrectoría de Investigaciones, Universidad El Bosque. Facultad de Ingeniería, Programa de Bioingeniería, Universidad El Bosque por el apoyo económico a la investigación. Hacienda la Cosmopolitana, Restrepo, Meta, Colombia, por haber permitido la obtención de las muestras biológicas.

5. REFERENCIAS

- [1] A. M. Garnica, El cultivo del Plátano en los Llanos Orientales, Villavicencio - Meta: [En línea]. Disponible en: <http://www.fedeplacol.com/documentos/platano%20zoc.pdf>.
- [2] L. Hernández G., W. Hidalgo, B. Linares, J. Hernández1, N. Romero y S. Fernandez, Estudio preliminar de vigilancia y pronóstico para sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis Morelet*) en el cultivo de plátano (Musa AAB cv Hartón) en Macagua-Jurimiquire, estado Yaracuy. Rev. Fac. Agron., 2005, 22: 324-337.
- [3] S. Vidal, Comportamiento de la severidad de ataque de Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis morelet*) en áreas productoras de plátano. Terra Nueva Etapa. XV (24). Terra Nueva Etapa., 1999, ISSN: 1012-7089.
- [4] J. J. Cuevas-Gutiérrez, Sistema de adquisición y Análisis de Información para el Diagnóstico de Sigatoka Negra. Universidad

de Colima., 2015. [En línea]. Disponible en: http://digeset.ucol.mx/tesis_posgrado.

[5] H. D. Horta, Estudio del Ciclo de Vida de *Mycosphaerella fijiensis* en tres clones de Banano (Musa AAA) en tres regiones de la Zona Bananera del Magdalena, Palmira: [En línea]. Disponible en: <http://www.bdigital.unal.edu.co/716/1/8006001.2009.pdf>, 2009.

[6] A. Ayala., M. Colina., J. Molina., J. Vargas., D. Rincón., J. Medina., L. Rosales., H. Cárdenas, Evaluación de la Actividad Antifúngica del Quitosano contra el hongo *Mycosphaerella Fijiensis* Morelet que produce la Sigatoka negra que ataca el plátano. Revista Iberoamericana de Polímeros., 2014, Volumen 15(6).

[7] M. F. Santana., J.C. Silva, A. D. Batista., L. E. Ribeiro., G. F. da Silva., E. F. de Araújo., M. V. de Queiroz, Abundance, distribution and potential impact of transposable elements in the genome of *Mycosphaerella fijiensis*, BMC Genomics., 2012; 13: 720.