

# DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE ENFERMEDADES FÚNGICAS EN CEBADA EMPLEANDO SENSORES REMOTOS

David, E.<sup>1\*</sup>; Lara, B.<sup>2</sup>; Lencina, A.<sup>3</sup>, Monterroso, L.<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Fitopatología, Facultad de Agronomía, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires.

<sup>2</sup> Laboratorio de Biología Funcional y Biotecnología (BIOLAB)-CICBA-INBIOTEC-CONICET, Facultad de Agronomía, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires.

<sup>3</sup> Laboratorio de Análisis de Suelos, Facultad de Agronomía, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, CONICET.

\*E-mail: edavid@azul.faa.unicen.edu.ar

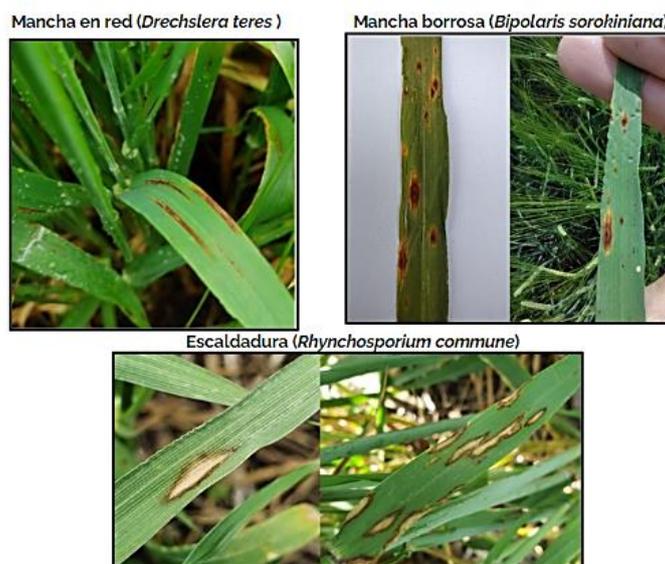
## INTRODUCCIÓN

El cultivo de cebada (*Hordeum vulgare* L.) presenta una destacada importancia debido a su amplia difusión a nivel mundial, por ser uno de los principales cereales utilizados para la alimentación animal y humana, siendo Argentina uno de los mayores productores y exportadores. Actualmente, en nuestro país es el segundo cultivo en importancia dentro de los cereales de invierno después del trigo (INASE 2022; FAO, 2022). Uno de los principales factores que genera pérdida de rendimiento y calidad en los cultivos agrícolas son las enfermedades, las cuales pueden ser causadas por factores bióticos (principalmente hongos; también bacterias y virus) o abióticos (sequía, temperaturas extremas o deficiencia de nutrientes). Dentro de los factores bióticos que afectan a la cebada los hongos son el grupo más importante de patógenos (Kiehr et al., 2016). En este trabajo se estudian las tres enfermedades de mayor prevalencia en el cultivo de cebada en la región centro de la provincia de Buenos Aires las cuales han incrementado su importancia en los últimos años. Estas son: la mancha en red (*Drechslera teres*), la escaldadura (*Rhynchosporium commune*) y la mancha borrosa (*Bipolaris sorokiniana*) (Figura 1).

En el mercado nacional existe un número acotado de variedades de cebada todas susceptibles, al menos, a una de las principales enfermedades fúngicas (Erreguerena et al., 2017). Existe consenso en que el manejo de estas adversidades tiene que ser efectivo, eficiente y sostenible, y la mejor manera de lograrlo es combinando herramientas mecánicas, biológicas y químicas con otras tecnologías de apoyo en los sistemas de manejo integrado de plagas (Oerke et al., 2010).

Actualmente la modalidad más utilizada para realizar monitoreos a campo es la visual, cuantificando el nivel de ataque de una enfermedad mediante el cálculo de los parámetros incidencia y/o severidad. La severidad, definida tradicionalmente como la proporción del tejido

vegetal que presenta síntomas, es una variable cuantitativa clave que es necesario estimar para el estudio de numerosas enfermedades, sin embargo, es un método propenso a errores: subjetividad y repetitividad (Chiang & Bock, 2022; Bock et al., 2010; Bock, 2021).



**Figura 1.** Sintomatología: principales manchas foliares del cultivo de cebada. Arriba izq. *Drechslera teres*; Arriba der. *Bipolaris sorokiniana*; abajo *Rhynchosporium commune*.

El manejo sitio-específico basado en la distribución de las enfermedades brinda la posibilidad de reducir la cantidad de fungicida utilizado y ser más eficientes en su uso. Esta reducción puede minimizar los efectos ambientales indeseables de los fitosanitarios y disminuir la presión de selección sobre los organismos patógenos evitando o disminuyendo el riesgo de generación de resistencia (Lechenet, 2017; Oerke, 2020). La resistencia a fungicidas constituye actualmente una gran problemática ya que los fitosanitarios destinados a la protección vegetal se vuelven ineficientes, generando graves problemas a los productores y a la comunidad en general, así como a las

empresas, debido a una reducción en la vida útil de sus productos (Carmona & Sautua, 2017).

El análisis de información multispectral o hiperespectral basado en sensores en la región visible es una tecnología prometedora para sustituir o complementar las calificaciones visuales (Ashourloo et al., 2014). De hecho, estas tecnologías se han utilizado para medir la severidad de diferentes enfermedades con precisión en condiciones controladas, pero aún deben explorar todo su potencial para realizar estimaciones precisas en condiciones de campo (Bock, 2020). La posibilidad de utilizar sensores ópticos para cuantificar enfermedades de las plantas se basa en que los patógenos influyen en las propiedades ópticas del tejido vegetal. En general, los patógenos generan una reducción en el contenido de clorofila de las plantas debido a que generan lesiones cloróticas o necróticas y esto afecta la reflexión en la región del espectro correspondiente al verde, rojo y borde rojo (550 nm y 650-720 nm). Mientras que los efectos más avanzados del pardeamiento por senescencia de hojas influyen en el rojo y el infrarrojo cercano (NIR) (680–800 nm) debido a la desecación que experimentan los tejidos foliares. Respecto a la estructura del dosel, la infección por patógenos cambia la densidad del mismo y el área foliar, lo que puede observarse en la reflectancia del NIR (Malthus & Madeira, 1993; West et al., 2003). Finalmente, algunos patógenos producen pigmentos específicos luego de la infección (Franke & Menz, 2007). Por lo anteriormente expuesto, existe una necesidad de desarrollar tecnologías precisas para la detección y cuantificación de enfermedades en los cultivos. Por ello, es necesario contar con nuevos métodos automatizados con alta sensibilidad, especificidad y confiabilidad para mejorar la detección de enfermedades más allá de los procesos de estimación visual (Mahlein et al., 2018).

En este trabajo se sintetizan los primeros resultados obtenidos en laboratorio sobre la identificación espectral de enfermedades foliares en Cebada y la determinación de severidad mediante procesamiento digital de imágenes, realizados en el marco de una tesis de maestría (David, 2022). Se presentan además avances de la tesis doctoral del Ing. Agr. (MSc) E. David, actualmente en progreso en el Doctorado en Ciencias Agrarias de la FA-UNCPBA, denominada “Desarrollo de un sistema para la asistencia en el monitoreo de enfermedades foliares en el cultivo de cebada (*Hordeum vulgare*) basado en el análisis de firmas espectrales e imágenes RGB”. Y se comentan los pasos que se están siguiendo en los proyectos “Diagnóstico de enfermedades en cultivos de invierno a través de sensores remotos, un desafío necesario para la producción sostenible de alimentos” acreditado por la SPU y “Detección y diagnóstico de enfermedades foliares en cereales de invierno: estimación de incidencia y

severidad a partir de imágenes RGB adquiridas por drones de uso masivo” de la *Red de Investigación y Desarrollo en Ejes Estratégicos de la Provincia de Buenos Aires* financiado por la Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires (Proyecto RIDEE-PBA).

## MATERIALES Y MÉTODOS

Los ensayos a campo fueron llevados a cabo en la Chacra Experimental de la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional del Centro de la provincia de Buenos Aires, ubicada sobre la Ruta Nacional N°3 km 304, en la provincia de Buenos Aires, Argentina (36°49'41,4' S; 59°53'11,6" W). Se sembró cebada de la variedad Andrea con una sembradora experimental (Ingeniería Powell™) de 7 surcos a 0,21 m (parcelas de 10 m realizando 3 repeticiones), en seco, pero en ausencia de cualquier estrés nutricional, aplicando insecticidas y herbicidas para el control de insectos y malezas cuando fue necesario. Las parcelas se subdividieron y sobre una mitad se aplicó fungicida en dos oportunidades (testigo sano) y el resto se mantuvo sin fungicida con la finalidad de permitir el desarrollo de enfermedades.

En Zadoks 3.1 se tomaron 6 a 8 hojas de plantas con las siguientes enfermedades foliares: mancha en red (*Drechslera teres*), escaldadura (*Rhynchosporium secalis*) y mancha borrosa (*Bipolaris sorokiniana*). El diagnóstico de las enfermedades se realizó mediante observación de síntomas e identificación morfológica en laboratorio, empleando una lupa binocular estereoscópica.

Con las hojas colocadas sobre un fondo oscuro (mínimamente reflectante) e iluminando con tres lámparas halógenas de 50 W se adquirieron las firmas espectrales. Empleando un espectrómetro Ocean Optics USB 650 (25°FOV, 440-860 nm, ancho de banda 1 nm, tiempo de integración de 1,5 ms, promedio de tres detecciones) se adquirieron tres firmas espectrales para cada sintomatología.

Luego de suavizar los espectros (promedio de cinco datos contiguos, ancho de banda 5 nm) se calcularon 17 índices de vegetación comúnmente usados en la literatura (NDVI, SIPI, ARI, TVI, CARI, MCARI, NRI, GNVDI, CL-REDE, NDRE, RBNVDI, CRI, RVSI, NPCI, OSAVI, RGR, AI) (Henrich et al., 2012) y el Índice de Máxima Discriminación (MDI) (Lencina & Weber, 2019). Se aplicó un análisis de varianza y el test de Tukey ( $\alpha = 0.05$ ) para la comparación de medias.

Paralelamente, se tomaron fotografías de las hojas con fondo oscuro con una cámara digital de 8MP. Con ellas se realizó una clasificación supervisada considerando tres clases: sanas, enfermas y fondo. A partir de la clasificación, se calculó el porcentaje de severidad en base al recuento de píxeles. Al mismo tiempo, las

imágenes fueron enviadas a seis evaluadores calificados para que realicen la determinación visual. Luego se compararon los valores obtenidos por ambas vías calculando parámetros como rango y desvío estándar. En la reciente campaña 2023 con la finalidad de tener datos espectrales a campo se realizó un ensayo con cinco variedades de cebada (Andreia, Overture, Scarlett, Montoya y Sinfonía) y cuatro repeticiones al azar. Las parcelas fueron subdivididas con y sin fungicida, como se muestra en la **Figura 2**.

Bloque 1		Bloque 2		Bloque 3		Bloque 4	
sinfonia	sinfonia	scarlett	scarlett	montoya	montoya	montoya	montoya
overture	overture	sinfonia	sinfonia	andreia	andreia	andreia	andreia
scarlett	scarlett	montoya	montoya	scarlett	scarlett	sinfonia	sinfonia
montoya	montoya	andreia	andreia	overture	overture	scarlett	scarlett
andreia	andreia	overture	overture	sinfonia	sinfonia	overture	overture

**Figura 2.** Diseño experimental. Resaltado en verde se muestran los tratamientos con fungicida

A partir de Zadoks 3.1 se tomaron semanalmente firmas espectrales de cada subparcela, muestras de hojas e imágenes de dron a 5 y 10 m de altura, con el objetivo de robustecer la matriz de datos sobre la cual replicar la metodología previamente descrita. Finalmente, las parcelas fueron cosechadas y se calculó su rendimiento. Al mismo tiempo, en el marco del Proyecto RIDEE-PBA, el cual incluye también cultivos de trigo, se trabajó con un lote comercial situado entre las ciudades de Azul y Rauch, en la Provincia de Buenos Aires. Allí se sembró cultivar Basilio el día 5 de julio de 2023. El lote se subdividió en dos parcelas con y sin fungicida y con una periodicidad quincenal se adquirió el mismo conjunto de datos detallado previamente. Luego de cosechado se descargó el mapa de rendimiento de cada parcela. En el mismo sentido, se procederá a analizar todos los datos obtenidos.

## RESULTADOS

La **Tabla 1** resume los resultados obtenidos en la discriminación de las enfermedades mediante el empleo de índices de vegetación.

**Tabla 2.** Resultados de las estimaciones de severidad por el método visual y por procesamiento digital de imágenes para cada una de las enfermedades consideradas y sus repeticiones.

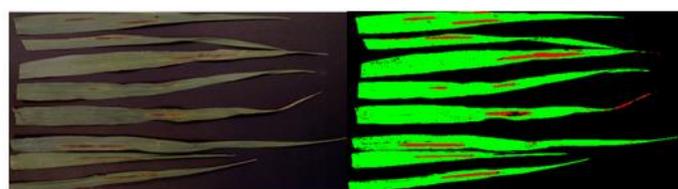
		Tratamiento y repetición (%)								
		Mancha en red			Escaldadura			Mancha borrosa		
		1	2	3	1	2	3	1	2	3
Severidad	Rango	7-20	2-7	2-20	6-16	3-12	2-15	6-30	2-25	1-10
	Promedio	11,3	5,3	7,6	11,3	4,1	4,5	15,3	8,1	3,6
	Severidad Digital	16	6,9	7,3	5,9	7,1	3,2	1,9	2	5

Finalmente, la **Figura 5** muestra el lote comercial de trigo con el que se trabajó. A la izquierda se observan las

**Tabla 1.** Cantidad de índices que resultaron capaces de diferenciar hojas sanas y enfermas y entre enfermedades. Escaldadura (Esc), Mancha en red (MR) y Mancha Borrosa (MB).

Sanas o Enfermas			
7			
Esc o MR o MB	Esc o MR y MB	MB o Esc y MR	MR o Esc y MB
1	0	1	0

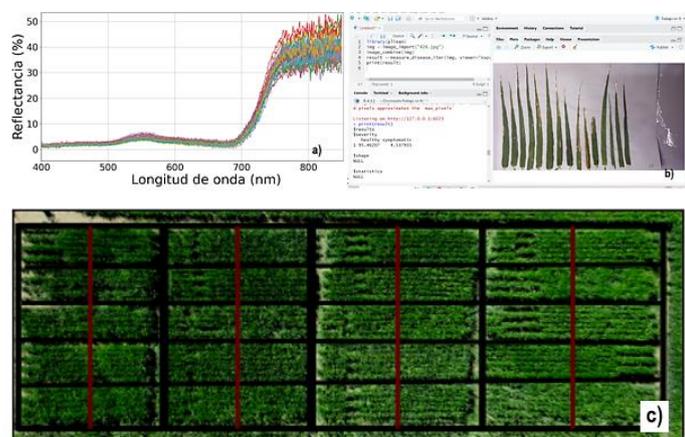
El MDI fue empleado solamente para evaluar la discriminación de hojas sanas respecto de las enfermas. Se identificaron las bandas de 440-490 nm y 645-680 nm como aquellas con mayor capacidad de discriminación. La **Figura 3** muestra un ejemplo del resultado de la clasificación supervisada de una imagen de hojas infestadas con mancha en red. A partir del recuento de píxeles por clase se determinó la severidad. La **Tabla 2** resume las severidades determinadas por estimación visual y por procesamiento digital de las imágenes.



**Figura 3.** Imagen de hojas con mancha en red (izquierda) y clasificación de la imagen (derecha). En verde tejido sano, en rojo tejido sintomático.

La **Figura 4a** muestra los espectros adquiridos en el ensayo de cebada de la última campaña. El trabajo de procesamiento digital de imágenes en R es mostrado en la **Figura 4b** y en la **Figura 4c** se muestra una imagen del ensayo capturada por un dron, que posteriormente será procesada.

parcelas con y sin fungicida (0,40 ha sin fungicida y 0,54 ha la otra), mientras que a la derecha se presenta el resultado del mapa de rendimiento de la cosecha. Los rendimientos promedio de cada parcela resultaron: 5025 kg/ha sin fungicida y 5754 kg/ha con fungicida.



**Figura 4.** a) Conjunto de espectros de reflectancia adquiridos en el ensayo de cebada de la campaña 2023. Los espectros con baja reflectancia por encima de los 700 nm corresponden al suelo desnudo circundante al ensayo. b) Procesamiento de las imágenes en R. c) Imagen del ensayo capturada por un dron



**Figura 5.** Izq.) Lote comercial de trigo con subdivisión de parcelas con y sin fungicida. Der.) Mapa de rendimiento de la cosecha

## DISCUSIÓN

Como se observa en la **Tabla 1**, de los 18 índices de vegetación estudiados solo siete permitieron discriminar entre hojas sanas y enfermas. Entre ellos, solo uno permitió, a su vez, discriminar entre las diferentes enfermedades y otro entre mancha borrosa y las otras manchas estudiadas. De los siete índices, dos de ellos utilizan bandas en el espectro visible. Esto abre una ventana de oportunidad para el desarrollo de una aplicación basada en el procesamiento de imágenes RGB. De los resultados de la determinación de la severidad mediante un proceso de clasificación supervisada en comparación con las estimaciones visuales se observa que el primer método reduce la subjetividad de los observadores brindando resultados que están dentro del rango de valores que estos indican. Debe notarse que las estimaciones visuales presentan una gran dispersión, lo que se traduciría en probablemente diferentes decisiones

de manejo, según quién realice la estimación. Es más, aun promediando las estimaciones visuales el resultado difiere sustancialmente del obtenido por procesamiento digital de las imágenes. Estos resultados, sumados a los que se obtuvieron con los índices de vegetación, han marcado el rumbo a seguir en los recientes ensayos.

La Figura 4, resume el tipo de datos que se han obtenido en la campaña 2023. Allí puede observarse que las firmas espectrales adquiridas presentan una dispersión casi continua con sutiles diferencias en el pico de reflectancia en torno a los 550 nm y a partir del final del borde rojo (Figura 4a). Resta, por un lado, calcular índices de vegetación o emplear otras técnicas de análisis para determinar qué posibilidades de discriminación ofrecen dichos espectros. Por otro lado, a partir del procesamiento con R de las fotografías de las hojas recolectadas (Figura 4b), se están determinando los porcentajes de severidad que han afectado al ensayo. Cabe mencionar que, así como en la campaña 2022 la sequía impidió la utilidad del ensayo, en 2023 hubo mayores precipitaciones, pero a pesar de ello las condiciones no fueron predisponentes para el desarrollo de las enfermedades. Por eso, se ha observado que la incidencia y severidad de las enfermedades fúngicas en cebada (al igual que en trigo) han sido muy bajas. Así, es probable que, si bien pueda determinarse la severidad por alguno de los métodos de clasificación que se están explorando con las imágenes de las hojas, dicho valor imponga un límite en la resolución espacial necesaria para su detección por medio de imágenes de dron. Esto último puede observarse en la Figura 4c. Allí, no es clara “a simple vista” la presencia de enfermedades en el cultivo. Resta analizar, con metodologías apropiadas, otras imágenes obtenidas a menor altura (mayor resolución espacial).

Por otra parte, la variabilidad del rendimiento intra-parcela en el lote comercial de trigo fue cercana al 60%, respecto del valor mínimo (Figura 5 der.). Probablemente, la baja severidad observada puso de manifiesto que otros factores tales como la humedad, la heterogeneidad edáfica, el pisoteo por parte del pulverizador, destaquen su impronta enmascarando el efecto de la aplicación de fungicida en el rendimiento del cultivo. Sin embargo, es de destacar que el uso de mapas de rendimiento es un elemento clave para la planificación y seguimiento de una producción sustentable.

## CONCLUSIONES

En este trabajo se exploró la capacidad de discriminación de enfermedades foliares fúngicas de la cebada de 17 índices vegetativos usualmente encontrados en la literatura. En ensayos de laboratorio se encontró que solo

seis permiten discriminar entre hojas sanas y enfermas. Dentro de ese conjunto, dos índices permiten adicionalmente la posibilidad de discriminar entre algunas de las enfermedades. Además, el MDI permitió también clasificar entre hojas sanas y enfermas a partir de las bandas de 440-490 nm y 645-680 nm. Uno de los seis índices y el MDI se generan a partir de bandas en el visible. Esto representa una posibilidad de desarrollar aplicaciones para la determinación de la severidad a partir de imágenes RGB. Paralelamente, se ha empleado un método de clasificación supervisada para determinar la severidad de la afección de enfermedades foliares fúngicas en cebada a partir de fotografías digitales de hojas sanas y enfermas. Dada la alta resolución espacial de las fotografías, se obtienen valores con precisión y exactitud muy superiores a las estimaciones visuales. Estos resultados han marcado el camino de los siguientes ensayos a campo y en lotes comerciales, los cuales se presentan y comentan sucintamente. La obtención de métodos de cuantificación de imágenes objetivos, rápidos y económicos, permitirán mejorar la toma de decisión tanto en etapas de investigación y desarrollo, así como a nivel de producción. Es necesario seguir ajustando las técnicas para que las mismas sean precisas y factibles de llevar a cabo.

## AGRADECIMIENTOS

Los presentes resultados han sido parcialmente financiados por la Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires a través de la *Red de Investigación y Desarrollo en Ejes Estratégicos de la Provincia de Buenos Aires* mediante el proyecto “Detección y diagnóstico de enfermedades foliares en cereales de invierno: estimación de incidencia y severidad a partir de imágenes RGB adquiridas por drones de uso masivo.”

## BIBLIOGRAFÍA

- Ashourloo, D., Mobasheri, M.R. & Huete, A. 2014. Evaluating the effect of different wheat rust disease symptoms on vegetation indices using hyperspectral measurements. *Remote Sensing*, 6, 5107-5123. doi:10.3390/rs6065107
- Bock, C. H., Barbedo, J. G., Del Ponte, E. M., Bohnenkamp, D., & Mahlein, A. K. 2020. From visual estimates to fully automated sensor-based measurements of plant disease severity: status and challenges for improving accuracy. *Phytopathology Research*, 2(1), 1-30. <https://doi.org/10.1186/s42483-020-00049-8>
- Bock, C. H., Chiang, K.-S., & Del Ponte, E. M. 2021. Plant disease severity estimated visually: A century of research, best practices, and opportunities for improving methods and practices to maximize accuracy. *Tropical Plant Pathology*. <https://doi.org/10.1007/s40858-021-00439-z>
- Bock, C. H.; Poole, G. H.; Parker, P. E.; Gottwald, T. R. 2010. Plant Disease Severity Estimated Visually, by Digital Photography and Image Analysis, and by Hyperspectral Imaging. , 29(2), 59–107. <https://doi:10.1080/07352681003617285>
- Carmona, M., & Sautua, F. 2017. La problemática de la resistencia de hongos a fungicidas. Causas y efectos en cultivos extensivos. *Agronomía & Ambiente*, 37(1). <http://agronomiayambiente.agro.uba.ar/index.php/AyA/article/view/60/59>
- Chiang, K.S., Bock, C.H. 2022. Understanding the ramifications of quantitative ordinal scales on accuracy of estimates of disease severity and data analysis in plant pathology. *Tropical plant pathology* 47, 58–73 <https://doi.org/10.1007/s40858-021-00446-0>
- Cooke, B. M. 2006. Disease assessment and yield loss. In *The epidemiology of plant diseases* (pp. 43-80). Dordrecht: Springer Netherlands.
- David, E. 2022. “Desarrollo y aplicación de índices espectrales para la detección y cuantificación de manchas foliares en cebada cervecera (*Hordeum vulgare* L.)” [Tesis de Maestría] Universidad del Centro de la Provincia de Buenos Aires.
- Erreguerena, I., Quiroz, F., & Gimenez, F. 2017. Red de Protección ante Enfermedades de Cebada. [https://inta.gob.ar/sites/default/files/inta\\_repec\\_informefinal\\_campana2016-2017.pdf](https://inta.gob.ar/sites/default/files/inta_repec_informefinal_campana2016-2017.pdf)
- Franke, J., & Menz, G. 2007. Multi-temporal wheat disease detection by multi- spectral remote sensing. *Precision Agriculture*, 8(3), 161-172. <https://doi.org/10.1007/s11119-007-9036-y>
- Henrich, V., Krauss, G., Götze, C., Sandow, C. 2012. IDB - [www.indexdatabase.de](http://www.indexdatabase.de), Entwicklung einer Datenbank für Fernerkundungsindizes. AK Fernerkundung, Bochum, 4.-5. 10.
- Kiehr, M. E., Wehrhahne, L. N., Daddario, J. F., Storm, A. C., Delhey, R. R., Carmona, M., & Sautua, F. 2016. *Enfermedades de la Cebada en Argentina: Diagnóstico y manejo* (1a ed.). Centro regional de Ingenieros Agrónomos de Tres Arroyos.
- Kranz J 1988. Measuring plant disease. Pages 35–50 In: *Experimental techniques in plant disease epidemiology* (J.Kranz and J.Rotem, eds.), Springer-Verlag, New York.
- Lechenet, M., Dessaint, F., Py, G., Makowski, D., & Munier-Jolain, N. 2017. Reducing pesticide use while preserving crop productivity and profitability on arable farms. *Nature Plants* 3: 17008.

- Lencina, A., & Weber, C. 2019. Maximum discrimination index: A tool for land cover identification. 2019. <https://doi.org/10.1007/s13762-019-02547-5>
- Mahlein, A. K., Kuska, M. T., Behmann, J., Polder, G., & Walter, A. 2018. Hyperspectral sensors and imaging technologies in phytopathology: state of the art. *Annual review of phytopathology*, 56, 535-558.
- Malthus, T. J., & Madeira, A. C. 1993. High resolution spectroradiometry: Spectral reflectance of field bean leaves infected by *Botrytis fabae*. *Remote Sensing of Environment*, 45(1), 107-116. [https://doi.org/10.1016/0034-4257\(93\)90086-D](https://doi.org/10.1016/0034-4257(93)90086-D)
- Oerke, E. C. 2020. Remote sensing of diseases. *Annual review of phytopathology*, 58, 225-252.
- Oerke EC, Gerhards R, Menz G, Sikora RS. 2010. Preface. In *Precision Crop Protection: The Challenge and Use of Heterogeneity*, ed. EC Oerke, R Gerhards, G Menz, RA Sikora, pp. v–viii. Dordrecht, Neth.: Springer
- West, J. S., Bravo, C., Oberti, R., Lemaire, D., Moshou, D., & McCartney, H. A. 2003. The potential of optical canopy measurement for targeted control of field crop diseases. *Annual Review of Phytopathology*, 41(1), 593-614. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.41.121702.103726>