

## DOSIER :: Sanidad vegetal

# Avances en teledetección para la prevención y detección temprana de *Xylella fastidiosa* en el marco de los proyectos H2020 POnTE y XF-ACTORS

J. Blasco<sup>1\*</sup>, R. Calderon<sup>2,3</sup>, N. Aleixos<sup>4</sup>, C. Camino<sup>2</sup>, P.S.A. Beck<sup>5</sup>, B. Rey<sup>4</sup>, A. Hornero<sup>6</sup>, S. López<sup>1</sup>, R. Hernández-Clemente<sup>6</sup>, V. Alegre<sup>7</sup>, T. Kattenborn<sup>8</sup>, M. Montes-Borrego<sup>4</sup>, L. Susca<sup>9</sup>, M. Morelli<sup>10</sup>, C. Ruiz<sup>7</sup>, V. Gonzalez-Dugo<sup>2</sup>, P.R.J. North<sup>6</sup>, E. Aguilar<sup>7</sup>, B. B. Landa<sup>2</sup>, D. Boscia<sup>10</sup>, M. Saponari<sup>10</sup>, P. Chueca<sup>1</sup>, P.J. Zarco-Tejada<sup>5,11,12</sup>, S. Cubero<sup>1</sup>, J.A. Navas-Cortes<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup> Centro de Agroingeniería, Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA). Carretera CV-315, Km 10.7, 46113 Moncada, (Valencia). Email: [blasco\\_josiva@gva.es](mailto:blasco_josiva@gva.es)

<sup>2</sup> Instituto de Agricultura Sostenible (IAS), Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Menéndez Pidal s/n, 14004 Córdoba, Spain. Email: [j.navas@csic.es](mailto:j.navas@csic.es)

<sup>3</sup> School of Environment and Life Sciences, University of Salford, M5 4WT Manchester, United Kingdom.

<sup>4</sup> Departamento de Ingeniería Gráfica. Universitat Politècnica de València. Camino de Vera, s/n, 46022 Valencia.

<sup>5</sup> European Commission (EC), Joint Research Centre (JRC), Directorate D-Sustainable Resources, Via E. Fermi 2749 – TP 261, 26a/043, I-21027 Ispra (VA), Italy.

<sup>6</sup> Department of Geography, Swansea University, SA2 8PP Swansea, United Kingdom.

<sup>7</sup> TRAGSA. CV-315, km 10.7 – 46113 Moncada (Valencia).

<sup>8</sup> Institute of Geography and Geoecology, Karlsruhe Institute of Technology (KIT), Kaiserstraße 12, 76131 Karlsruhe, Germany

<sup>9</sup> Dipartimento di Scienze del Suolo, della Pianta e degli Alimenti dell'Università di Bari Aldo Moro, Bari, Italy.

<sup>10</sup> CNR, Istituto per la Protezione Sostenibile delle Piante, Sede Secondaria di Bari, Bari, Italy.

<sup>11</sup> School of Agriculture and Food, Faculty of Veterinary and Agricultural Sciences, University of Melbourne, Melbourne, Victoria, Australia.

<sup>12</sup> Department of Infrastructure Engineering, Melbourne School of Engineering, University of Melbourne, Melbourne, Victoria, Australia.



Una de las plagas más peligrosas que amenazan la agricultura europea y que recientemente se ha detectado en España es *Xylella fastidiosa*. Los proyectos financiados por la Unión Europea en el marco del H2020 *Xylella Fastidiosa Active Containment Through a Multidisciplinary-Oriented Research Strategy (XF-ACTORS)* y *Pest Organisms Threatening Europe (POnTE)*, luchan contra esta amenaza desde un punto de vista multidisciplinar, siendo uno de los principales objetivos de este proyecto la creación de sistemas de prevención y detección temprana de la enfermedad mediante tecnología de teledetección.

## ¿Sabías qué?

El uso de teledetección permite detectar enfermedades en plantas antes de que presenten síntomas visibles mediante imágenes térmicas e hiperespectrales de los cultivos.



**E**l Instituto de Agricultura Sostenible del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IAS-CSIC) y el Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA) de la Generalitat Valenciana (GVA), trabajan desarrollando equipos y técnicas aéreas y terrestres basadas en esta tecnología que sean capaces de detectar la plaga antes incluso de que aparezcan los primeros síntomas, lo que permitirá desarrollar estrategias inteligentes para su control. Los resultados obtenidos por el IAS-CSIC mediante sistemas ubicados en vehículos aéreos son prometedores. Por otro lado, el IVIA continúa trabajando en el desarrollo de equipos de detección temprana que se puedan embarcar en robots terrestres e incluso en vehículos agrícolas.

### Introducción

La detección de la bacteria *Xylella fastidiosa* (*Xf*) en Italia en 2013 (Martelli et al., 2016) y su rápida expansión en toda la región de Apulia, causando graves daños a los cultivos de olivos puso en guardia a la Unión Europea frente a esta grave amenaza. Posteriormente se detectó en Córcega (Francia) y en el sureste de Francia y más recientemente en Mallorca (2016), Alicante (2017) y Madrid (2018) en España (Olmo et al., 2017), convirtién-

dose en una amenaza directa para nuestra agricultura. Los proyectos europeos PONTE y XF-ACTORS abordan la lucha contra esta bacteria desde un enfoque de investigación multidisciplinar. Las soluciones propuestas incluyen la creación de herramientas de teledetección como ayuda a los programas de diagnóstico y vigilancia temprana.

Los sensores utilizados en teledetección (cámaras espectrales, térmicas, etc.) capturan la radiación emitida, reflejada y transmitida por la vegetación (firma espectral) para determinar su estado. Esta radiación está influida por los rasgos funcionales de las plantas. En condiciones de estrés, se producen cambios en estos componentes que influyen en la radiación (Pu, 2011). Por ello, las plantas sanas y las enfermas tienen firmas espectrales particulares, lo que permite la detección de los efectos fisiológicos y bioquímicos de las primeras etapas de una enfermedad (Vicent y Blasco, 2017). Además, la propia estructura de la planta puede verse afectada como resultado de una enfermedad grave, por lo que el estudio de su estructura 3D puede contribuir a su detección e identificación (Hernández-Clemente *et al.*, 2014). La representatividad de los diagnósticos se basa en gran medida en el diseño de muestreo adecuado. Muestreos a nivel de planta se pueden obtener a pie de campo mediante sensores manuales o embarcados en vehículos o robots agrícolas. Una de las ventajas que presentan estos equipos son una gran resolución, incluso a nivel de hoja, y la posibilidad de realizar actuaciones en el campo en caso necesario. Por el contrario, en zonas de difícil acceso o para cubrir grandes extensiones, es necesario utilizar sistemas aerotransportados (Calderón *et al.*, 2013). Zarco-Tejada *et al.*, (2018) han demostrado que mediante imágenes aerotransportadas hiperespectrales y térmicas se pueden detectar cambios en los olivos relacionados con la infección por Xf antes de que los síntomas sean visibles. Este artículo ilustra las investigaciones realizadas por el Instituto de Agricultura Sostenible del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IAS-CSIC) en colaboración con el Joint Research Center de la Comisión Europea entre otros organismos, y el Instituto Valenciano de Investigaciones

Agrarias (IVIA) para crear herramientas de teledetección capaces de detectar de manera temprana olivos infectados por Xf en el marco de los proyectos PONTE y XF-ACTORS. Todos los ensayos se han realizado en la provincia de italiana de Lecce, dentro de la zona de contención de la infección demarcada por la UE en la región de Apulia.

### DetECCIÓN MEDIANTE EQUIPOS TERRESTRES

Para abordar el problema, el IVIA ha desarrollado un robot teledirigido que incorpora una cámara térmica, diversas cámaras de alta resolución, dos cámaras espectrales capaces de capturar imágenes en diferentes longitudes de onda entre 400 y 1000 nm y un escáner láser LiDAR

para obtener la estructura 3D del cultivo (Figura 1). El equipo se completó con un sistema de posicionamiento global (GPS) y una unidad de medición inercial (IMU) para corregir los movimientos del robot al desplazarse por un terreno irregular. Una plataforma elevadora permitió variar la altura de los sensores (entre 80 y 200 cm) para adaptarse al gran tamaño de los árboles a analizar. Se ha optado por un robot teledirigido debido a la flexibilidad que ofrece para trabajar en entornos y cultivos diferentes. Los ensayos de puesta a punto del robot se realizaron en un campo de olivos de 3 Ha potencialmente infectados por Xf. Sin embargo, al ser un campo activo se suelen podar las ramas con síntomas apreciables, por lo que su aspecto puede no corresponderse con su estado real. Hasta la fecha, se han

## “Las soluciones propuestas incluyen la creación de herramientas de teledetección como ayuda a los programas de diagnóstico y vigilancia temprana”

Figura 1. Ensayos del robot en el campo



realizado ensayos en septiembre de 2017 y junio de 2018. En ellos, se ha analizado el rendimiento del robot en un entorno exterior real, probando aspectos técnicos como la mecánica, la electrónica, los sensores, la geolocalización y la vida útil de las baterías, y aspectos de rendimiento como la adquisición de datos e imágenes, la idoneidad de los sensores para abordar este problema o la exactitud de la geolocalización para caracterizar cada árbol individual en un mapa. Durante los ensayos, el robot recorrió cada fila dos veces para capturar los árboles de ambos lados. Posteriormente, se repitió la inspección de las filas en sentido perpendicular para obtener así información de las cuatro caras de cada árbol.

El robot se programó para capturar una imagen georreferenciada por cada metro de avance. El LiDAR se programó para capturar datos de la estructura del campo a una frecuencia mayor (aproximadamente cada 4 cm de avance) para obtener los datos tridimensionales de todo el campo. Se tomaron referencias de color y espectrales para corregir cambios en las condiciones ambientales y en la luz. Adicionalmente, como estimación de la incidencia y severidad de la sintomatología, en junio de 2018 se realizó una evaluación visual de cada una de las cuatro caras de cada árbol inspeccionadas por el robot, anotando para cada cara un valor de 0 (árbol sano) a 4 (abundancia de ramas muertas) (Zarco-Tejada et al., 2018).

## - Resultados

Solamente el 41% de los olivos mostraban síntomas visuales de enfermedad, principalmente en los lados oeste y norte, probablemente debido a una poda selectiva. El robot operó de forma adecuada durante todos los ensayos, tardando aproximadamente seis horas en inspeccionar todo el campo. Durante cada ensayo, el robot capturó alrededor de 35.000 imágenes con todas las cámaras y recolectó información estructural (nubes de puntos en 3D) de todos los árboles. Los datos se georreferenciaron empleando la información del GPS con una precisión relativamente baja (unos 5 cm). La información obtenida sobre la estructura de cada árbol se usó para calcular dimensiones como altura, diámetro,

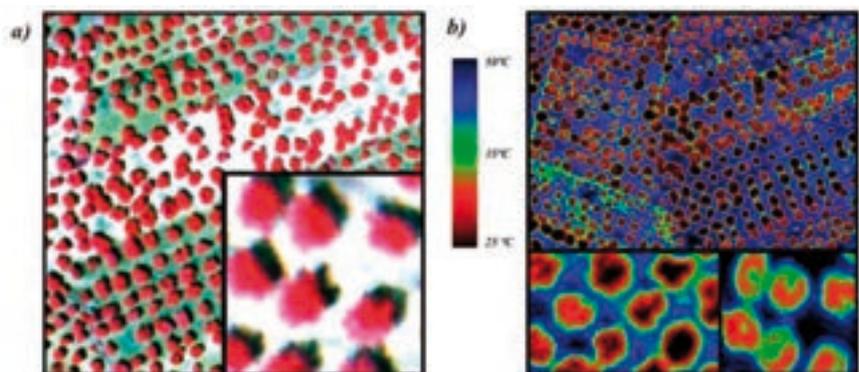
**Figura 2.**

Captura de una pantalla de la aplicación Google Earth® mostrando la información obtenida de un árbol



**Figura 3.**

Mosaicos obtenidos con el sensor hiperespectral (a) y térmico (b) a una resolución espacial de 40 y 60 cm/píxel, respectivamente



volumen, área proyectada en suelo e índice de área foliar (LAI). El análisis preliminar de las imágenes ha revelado que índices muy usados como el NDVI (en inglés, *Normalised Difference Vegetation Index*) o el BNDVI (en inglés, *Blue NDVI*) no permiten obtener buenas correlaciones con la observación visual del árbol, por lo que será necesario estudiar otros más apropiados. Las imágenes térmicas y espectrales aún se están analizando mediante modelos predictivos multivariantes que incorporan toda la información obtenida por el robot. Posteriormente, más allá de los síntomas visuales, será necesario contrastar los resultados de teledetección con información del árbol obtenida mediante técnicas moleculares. Este trabajo aún está en marcha y solo así se podrá determinar la validez de los resultados.

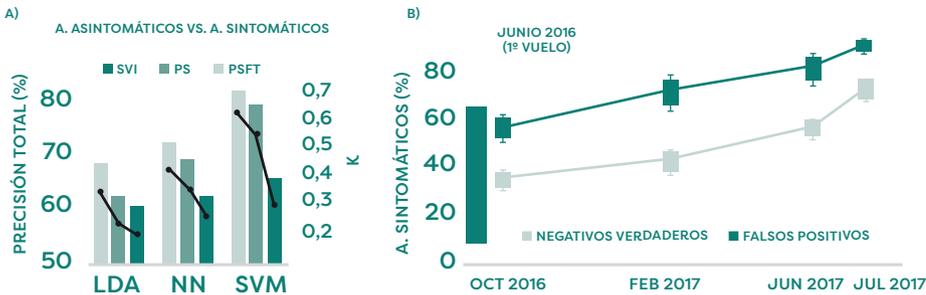
A partir de la información obtenida, se han creado archivos compatibles con Google Earth® de forma que la información individual de cada árbol se puede consultar sobre el mapa del campo (**Figura 2**). El estudio de la evolución temporal de estas características e índices puede proporcionar información clave para aplicaciones de diagnóstico y vigilancia tempranas que utilizan herramientas de detección remota o proximal.

## Detección mediante equipos aerotransportados

En el IAS-CSIC se está trabajando para la obtención de métodos eficaces que permitan prevenir esta enfermedad y detectarla antes de que los síntomas sean visibles, mediante la inspección

**Gráfico 1.**

**Precisión de los tres modelos de clasificación para los tres conjuntos de rasgos funcionales obtenidos por teledetección para discriminar entre árboles asintomáticos y árboles con síntomas; (b) Evolución temporal del porcentaje de árboles Sintomáticos detectados por teledetección en junio de 2016.**



aérea de grandes superficies. En este proyecto, se realizaron dos vuelos en 2016 y 2017 a bordo de un avión tripulado. El equipo estaba compuesto por un sensor hiperespectral que capturó imágenes con una resolución espacial de 40 cm y 260 bandas espectrales en el rango 400-1000 nm y por una cámara térmica que obtuvo imágenes de 60 cm de resolución espacial. La **Figura 3** muestra un ejemplo de imágenes obtenidas con las cámaras hiperespectral y térmica. En paralelo a los vuelos, se evaluó visualmente la incidencia y severidad (SE) de la infección en más de 7000 olivos de 15 parcelas, estableciendo un valor de 0 (árbol sano) a 4 (abundancia de ramas muertas). Además, otras tres evaluaciones se llevaron a cabo después del primer vuelo en octubre 2016, febrero y junio de 2017. Para completar el ensayo, se realizaron análisis moleculares (qPCR) en todas las parcelas para comprobar la infección por Xf.

Se obtuvieron algunos rasgos funcionales y algunas características fisiológicas de las plantas estimados a partir de índices espectrales y térmicos. Los rasgos funcionales obtenidos se usaron como entrada de algoritmos de clasificación basados en máquinas de vector soporte (SVM), redes neuronales (NN) y análisis discriminante lineal (LDA), para detectar olivos infectados frente a no infectados. Dentro los árboles clasificados como infectados, se distinguió entre infección leve (SE=1) e infección avanzada (SE >1). Para ello, se evaluaron los tres algoritmos

de clasificación con tres conjuntos diferentes de rasgos funcionales basados en: i) en pigmentos, estructura, fluorescencia y temperatura (PSFT); ii) en pigmentos y efectos estructurales (PS); y iii) el conjunto de bandas espectrales (SVI) localizadas en las regiones visible y del infrarrojo cercano.

**- Resultados**

Un análisis basado en la curva ROC (Receiver Operating characteristic Curve) reveló que el rasgo espectral basado en la feofitización de la degradación de la clorofila (NPQI) y en el índice de estrés hídrico CWSI (en inglés, Crop Water Stress Index), relacionado con la transpiración y conductancia estomática, fueron los que mejor permitieron distinguir los árboles sintomáticos de los asintomáticos, seguidos de la concentración de antocianinas, carotenoides y fluorescencia. Sin embargo, la fluorescencia resultó ser el rasgo funcional más sensible para discriminar entre árboles con síntomas iniciales y árboles con síntomas más severos de infección por Xf. El conjunto de rasgos funcionales PSFT obtuvo el mejor resultado de clasificación utilizando SVM para discriminar árboles asintomáticos de sintomáticos, alcanzando una precisión en la clasificación del 80,9% (**Gráfico 1a**). Por el contrario, los conjuntos de rasgos PS y SVI obtuvieron resultados menos precisos aunque siempre superiores al 65%. Los resultados de la determinación de la

severidad de la infección determinaron que el conjunto PSFT con SVM volvió a obtener el mejor rendimiento global con una precisión del 73%. El modelo de clasificación PSFT-SVM se validó en una parcela escogida al azar frente a los resultados obtenidos con un análisis qPCR, logrando una precisión en la detección de la infección del 94% muy superior a la evaluación visual que sólo fue del 77,6%. Para evaluar si el modelo basado en teledetección estaba realmente detectando síntomas causados por Xf en etapas pre-visuales, se realizaron una serie de revisitas para corroborar los resultados incluyendo un análisis de la evolución temporal (**Gráfico 1b**). Cuatro meses después del primer vuelo (Octubre de 2016), el 61% de los árboles asintomáticos clasificados como sintomáticos por el modelo de teledetección (falsos positivos) habían desarrollado síntomas de la enfermedad, mientras que solo el 39% de los árboles asintomáticos clasificados como no afectados por el modelo (negativos verdaderos) lo hicieron. Esta diferencia en el desarrollo de los síntomas visibles se mantuvo a lo largo de las evaluaciones posteriores. Los resultados obtenidos tras observar la evolución temporal, apoyados por análisis qPCR, confirmaron que el modelo de detección remota basado en los rasgos PSFT y SVM podía detectar los síntomas de infección por Xf incluso varios meses antes que las inspecciones visuales tradicionales. Sin duda, este trabajo demuestra el potencial de la teledetección como herramienta de ayuda a la vigilancia para la detección temprana y pre-visual en grandes extensiones de una enfermedad tan peligrosa como la causada por la bacteria Xf.

**Agradecimientos**

Este trabajo se ha financiado parcialmente por los proyectos H2020 N° 727987 Xylella Fastidiosa Active Containment Through a Multidisciplinary-Oriented Research Strategy (XF-ACTORS) y N° 635646 Pest Organisms Threatening Europe (POnTE).

**Bibliografía**

Queda a disposición del lector interesado en los correos electrónicos: [blasco\\_josiva@gva.es](mailto:blasco_josiva@gva.es) y [j.navas@csic.es](mailto:j.navas@csic.es)