

ESTUDIO HIPERESPECTRAL DE LA REFLECTANCIA DE HOJAS DE BRÓCOLI NO INFESTADAS E INFESTADAS POR PULGÓN *Myzus persicae* Sulzer, 1776 Y *Brevicoryne brassicae* Linnaeus, 1758 (HEMIPTERA-STENORRYNCHA:APHIDIDAE)

Kenya Arriaga-Jiménez¹, Manuel Darío Salas-Araiza², Noé Saldaña-Robles³, Mónica Trejo-Durán⁴, Agustín Zavala-Segoviano⁵, Ruth Artemisa Aguilera-Hernández^{6*}.

^{1,2,3,5,6} División de Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca, Universidad de Guanajuato. Ex Hacienda el Copal, Carretera Irapuato-Silao km 9, C.P. 36500.

⁴ División de Ingenierías, Campus Irapuato-Salamanca, Universidad de Guanajuato. Av. Universidad, Col. Yacatitas, Yuriria, Gto.

*Autor para correspondencia: ruth.aguilera@ugto.mx.

Recibido: 13/03/2019, Aceptado: 17/04/2019

RESUMEN: La detección hiperespectral de estrés biótico y abiótico, se ha estudiado con buenos resultados en cultivos como el trigo y el maíz. Esta técnica se basa en que cada objeto, tiene una reflectancia espectral característica conocida como firma o huella espectral que cambia según el estado de salud del cultivo. El presente trabajo tiene como objetivo estudiar el comportamiento hiperespectral de la reflectancia de hojas de brócoli no infestadas e infestadas por pulgones de las especies *Myzus persicae* y *Brevicoryne brassicae*. Lo anterior con el fin de obtener las longitudes de onda que muestren diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos 0 (0 pulgones/hoja), 1 (1-20 pulgones/hoja), 2 (21-50 pulgones/hoja) y 3 (≥ 51 pulgones/hoja). Las firmas espectrales se obtuvieron con el espectrómetro OceanOptics® HR4000. Los datos se procesaron en Excel® 2016 y se analizaron en el paquete estadístico Statgraphics® Centurion 16.1. El ANOVA multifactorial al 95% de confianza arrojó que se puede diferenciar entre los tratamientos 0-1 con la longitud de onda de 601.88 nm, entre 0-2 con 959.77 nm y entre 0-3 con 601.88 y 959.77 nm. Estos resultados muestran la factibilidad de detectar espectralmente poblaciones de pulgones en etapas tempranas de infestación.

Palabras clave: Firma espectral, espectrómetro, longitud de onda.

Hyperspectral study of the reflectancy of broccoli leaves not infested and infested by the aphid *Myzus persicae* Sulzer, 1776 and *Brevicoryne brassicae* Linnaeus, 1758 (Hemiptera-Stenorrhyncha: Aphididae)

ABSTRACT: The hyperspectral detection of biotic and abiotic stress has been studied with good results in crops such as wheat and corn. This technique is based on the fact that each object has a characteristic spectral reflectance known as a signature or spectral trace. This signature changes according to the state of health of the crop. Therefore, the present work aims to study the hyperspectral behavior of the reflectance of broccoli leaves not infested and infested by aphid *Myzus persicae* and *Brevicoryne brassicae*. The above in order to obtain the wavelengths that show statistically significant differences between treatments 0 (0 aphids / leaf), 1 (1-20 aphids / leaf), 2 (21-50 aphids / leaf) and 3 (≥ 51 aphids / leaf). The spectral signatures were obtained with the OceanOptics® HR4000 spectrometer. The data were processed in Excel® 2016 and analyzed in the statistical package Statgraphics® Centurion 16.1. The 95% confidence multivariate ANOVA showed that it is possible to differentiate between the 0-1 treatments with the wavelength of 601.88 nm, between 0-2 with 959.77 nm and between 0-3 with 601.88 and 959.77 nm. These results show the feasibility of spectrally detect populations of aphids in early stages of infestation.

Key words: Spectral signature, spectrometer, wavelength.

INTRODUCCIÓN

Las técnicas de producción agrícola actual como la Agricultura de Precisión incitan al productor a hacer uso eficiente de los recursos naturales y químicos, al tomar en cuenta la variabilidad de los campos de producción. El monitoreo y control de plagas es una de las actividades que tienen mayor impacto económico y ambiental. Se estima que las plagas son responsables de entre el 20 y 40% de las pérdidas agrícolas en campo (FAO, 2011). En México, más de 80% de las asociaciones de producción agrícola reportan altos costos de insumos y servicios, mientras que el 78.2% indica pérdidas debidas a causas climáticas, plagas y enfermedades (INEGI, 2014). Por tanto, es importante que la identificación de los focos de alta infestación en campo se realice en etapas tempranas, para así disminuir el impacto de la plaga en el cultivo (Moshou *et al.*, 2004). Específicamente para el cultivo de brócoli en la zona del Bajío Guanajuatense, la plantación del cultivo tiene veda a partir del primero de mayo al 14 de junio y todos los productores tienen que sujetarse a ésta para evitar la propagación de plagas (SDAyR, 2018). El Estado de Guanajuato aportó en 2018 el 64.2 % de la producción nacional de brócoli, seguido a distancia por Puebla y Michoacán (SIAP, 2018). Por tanto, el monitoreo y control de plagas es de suma importancia para mantener la alta producción del cultivo y de esta forma satisfacer las demandas del mercado. En cuanto a las plagas de pulgones más comunes en el brócoli se encuentran el pulgón de la col (*Brevicoryne brassicae*) Linnaeus, 1758 y el pulgón verde (*Myzus persicae*) Sulzer, 1776 (Hemiptera: Stenorrhyncha: Aphididae). La relación entre el estrés biótico que causan las plagas en los cultivos agrícolas y su reflectancia espectral se puede obtener por medio de sensores hiperespectrales, tal como un espectrómetro. Estos equipos otorgan mediciones con resolución espectral de hasta 0.26 nm y pueden proporcionar información que permita diferenciar entre hojas infestadas de no infestadas por medio de ciertas longitudes de onda. Lo anterior se debe a que la energía electromagnética que llega a la superficie terrestre, interactúa con cada tipo de material ya sea por reflexión, absorción o transmisión, de acuerdo con un patrón de respuesta espectral particular. Este comportamiento distintivo de cada tipo de material se aprovecha en procesos de clasificación de imágenes, y comúnmente se refiere a él como “firma espectral” (Hernández y Montaner, 2009). El comportamiento espectral de la vegetación varía dependiendo de la zona del espectro electromagnético, por ejemplo, la reflectancia del espectro visible VIS (400 a 700 nm), está controlada por la concentración de pigmentos en la hoja, principalmente carotenoides y clorofila. Esta última absorbe fuertemente la radiación alrededor de las bandas de azul y roja, mostrando un decremento en la reflectividad. En la cercanía de la banda verde (500 nm) el porcentaje de reflectancia es mayor, dando la característica del color verde de las hojas. En el dominio del espectro del infrarrojo cercano y medio cercano (700 a 1300 nm), la reflectividad de las hojas se controla por su estructura celular, y es ahí donde se muestran los valores más altos de reflectividad de la vegetación. En el espectro de infrarrojo medio cercano al medio (1300 a 2500 nm), la reflectividad de las hojas se controla por la absorción de agua, y muestra valores medios en reflectividad (Paz *et al.*, 2005).

El uso de espectrometría para detección de plagas en el cultivo de Brócoli es relativamente nuevo, sin embargo, en algunos cultivos como el trigo, se ha aplicado con éxito para obtener las longitudes de onda que son sensibles a la presencia de las plagas de pulgones como lo son el pulgón verde (*Schizaphis graminum* (Rondani)) y el pulgón ruso del trigo (*Diuraphis noxia* (Mordvilko)) (Riedell y Blackmer, 1999; Yang *et al.*, 2005; Mirik *et al.*, 2006; Mirik *et al.*, 2006b). De manera general, ellos detectaron cambios en las reflectancias del cultivo en las longitudes de onda de 537, 572, 691, 698, 740, 747 887, 901 nm. Otros investigadores han estudiado el estrés de cultivos atribuido no solo a pulgones, sino también a enfermedades. Zhang *et al.* (2003), encontraron que los cambios más significativos en la reflectancia de las hojas de tomate debido a la presencia de tizón tardío (*Phytophthora infestans*) se presenta en las longitudes de onda de 750-930, 950-1030 y 1040-1130 nm; Kumar *et al.* (2013), encontraron que se puede detectar la infestación de pulgones en mostaza con

los rangos de 550-560, 700-1250 y 1950- 2450 nm; Atherton, *et al.* (2017) concluyeron que las mejores longitudes de onda para detectar la presencia de tizón temprano (*Alternaria solani*) en el cultivo de papa son 665, 670, 695, 735, 770 y 945 nm y Adam *et al.* (2017) que determinaron que el mejor subconjunto de longitudes de onda se localiza en los 420, 795, 779, 1543, 1747 y 1010 nm, para identificar manchas en las hojas de maíz a causa de *Phaeosphaeria*.

Con base en lo anterior, el presente trabajo tiene como objetivo estudiar el comportamiento hiperespectral de la reflectancia de hojas de brócoli no infestadas e infestadas por pulgón *Myzus persicae* y *Brevicoryne brassicae*, para encontrar longitudes de onda que muestren diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos denotados por los niveles de infestación de las hojas y hojas no infestadas.

MATERIALES Y MÉTODO

El experimento se realizó en el ciclo otoño-invierno del año 2018, en el cual se plantó brócoli (*Brassica oleracea* L. var *italica* Plenck) en un invernadero ubicado en la localidad de “El Copal”, en la ciudad de Irapuato, Gto., cuyas coordenadas son 20° 44’ 21.28’’ N y 101° 19’ 36.41’’ O. Las dimensiones de la parcela fueron de 7 x 2.5 m.

El cultivo de brócoli se plantó el día 6 de septiembre del 2018, con una densidad de plantación de aproximadamente 33000 plantas por hectárea (Santoyo y Martínez, 2011). Como fertilización base en la plantación se utilizó la mezcla 20-14-05. Inmediatamente después de la plantación de brócoli se aplicó RAIZAL® 400 (Arysta LifeScience Colombia S.A.), de acuerdo con la recomendación del fabricante 1 kg de RAIZAL® 400 por cada 100 L de agua. La solución de RAIZAL® 400, se aplicó otras tres ocasiones con diferencia de 15 días entre cada aplicación. El control de malezas se realizó de manera manual. El riego se dio por goteo. El 5 y 9 de octubre del 2018 se realizaron las infestaciones del cultivo con pulgón, los cuales se obtuvieron del pie de cría de los laboratorios de la Universidad. La proporción de áfidos fue 50-50 para cada especie. Las hojas de brócoli se recolectaron los días 18 y 19 de octubre. Se clasificaron según el nivel de infestación en 4 tratamientos. El tratamiento 0 o sin pulgón (0 pulgones/hoja), 1 o bajo presencia de pulgón (1-20 pulgones/hoja), 2 o media presencia de pulgón (21-50 pulgones/hoja) y 3 o alta presencia de pulgón (≥ 51 pulgones/hoja). En total se tomaron al azar 14 hojas de cada tratamiento.

Inmediatamente después de la recolección de las hojas, se realizaron las mediciones espectrales. El equipo utilizado fue el espectrómetro Ocean Optics® HR 4000, el cual tiene resolución espectral de 0.26 nm con capacidad de medir entre los 200 a 1100 nm. Las fibras ópticas y las hojas para medir se colocaron en una caja oscura para evitar la presencia de ruido generado por la luz ambiental. La calibración del equipo se realizó con el estándar de reflectancia WS-1-SL de Ocean Optics®, que tiene reflectancia del 100% en las longitudes de onda de 200 a 1100 nm. Los datos que otorgó el espectrómetro se procesaron en MatLab® R2017a, con el fin de eliminar las reflectancias de antes de los 300 nm y después de los 990 nm, debido a que el equipo presenta ruido espectral en dichos rangos. Además, a las reflectancias en el rango de los 300 a los 990 nm, se aplicó una media móvil de 40 datos para minimizar los ruidos generados por el espectrómetro y de esta forma suavizar la firma espectral (Rodríguez *et al.*, 2013). A partir de los datos anteriores se utilizó el programa Excel® 2016, para procesar los datos y obtener la primera derivada de las reflectancias. Para cada longitud de onda, los datos de la primera derivada de las reflectancias se correlacionaron con los diferentes niveles de infestación. Con centro en las longitudes de onda con mejor correlación, se promediaron las reflectancias de 5 nm hacia atrás y 5 nm hacia adelante. A partir de los promedios anteriores, se realizaron los estadísticos para determinar si dichas longitudes de onda permiten diferenciar entre los distintos tratamientos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La figura 1 muestra un ejemplo de la firma espectral (tratamiento 0, repetición 1: T0R1) que otorga el espectrómetro contra la firma espectral que se obtiene una vez que los datos se introducen en MatLab® R2017a. Se puede apreciar que los datos que elimina el filtro son aquellos que presentan ruido debido al equipo de medición, además de disminuir la variación en el porcentaje de reflectancia en el rango de los 300 a los 990 nm.

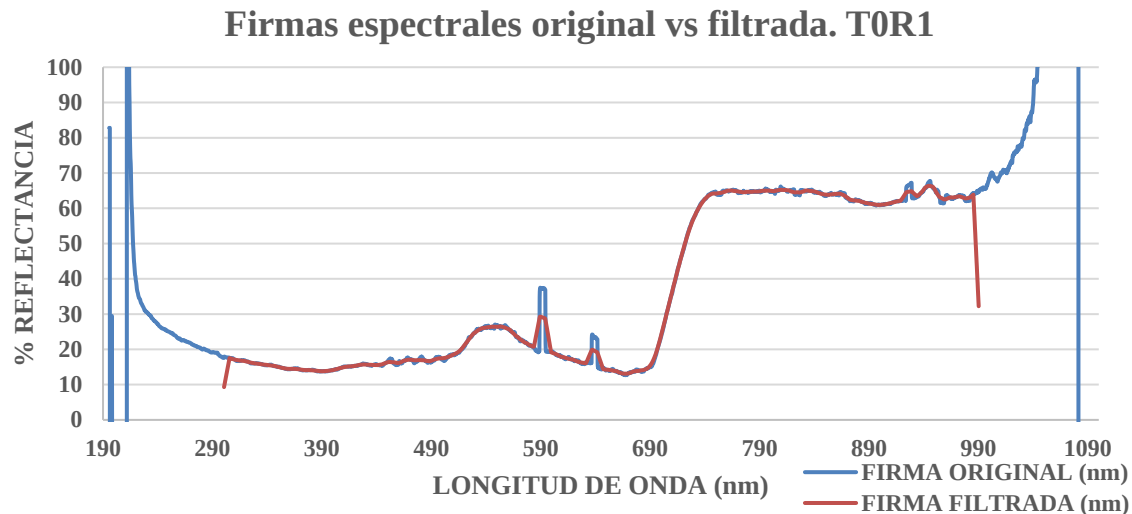


Figura 1. Firma espectral original vs filtrada. T0R1

Las firmas filtradas de las repeticiones de todos los tratamientos se introdujeron en Excel® 2016 para calcular el promedio de las reflectancias por tratamiento. Este sirvió para el cálculo de la primera derivada de las reflectancias de todos los tratamientos. La primera derivada se utilizó para calcular el coeficiente R^2 (Fig. 2). Con esta gráfica se obtuvieron las reflectancias que mostraron una R^2 cercana a 1. Dichas longitudes de onda fueron 307.25, 377.94, 508.99, 601.88, 659.63, 679.79, 741.68, 763.06, 826.57, 869.02, 931.12 y 959.77 nm.

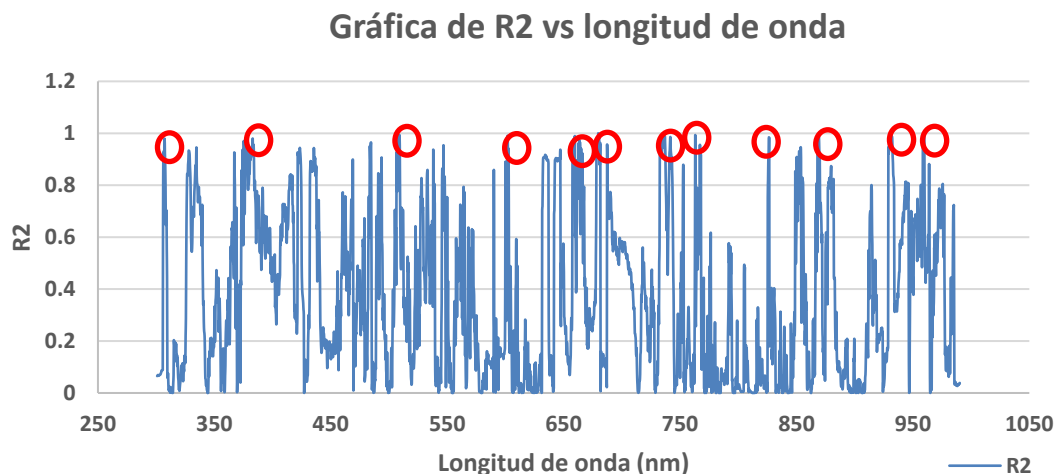


Figura 2. R^2 vs longitud de onda

Sin embargo, a pesar de que las longitudes antes mencionadas muestran alta correlación con los tratamientos planteados, se realizó un análisis multifactorial ANOVA, con el fin de obtener las diferencias estadísticamente significativas. Para esto se utilizó el programa estadístico Statgraphics® Centurion. Como primer paso se comprobó la normalidad de los datos y se obtuvo que los datos provienen de una distribución normal. Una vez que se comprobó la normalidad de los datos, se realizó el ANOVA multifactorial. La variable dependiente para cada caso fue la Derivada y los factores fueron Nivel de infestación y Repetición.

El cuadro 1 muestra el resumen del ANOVA multifactorial, para aquellas longitudes de onda donde el valor-P es menor a 0.05. Como se aprecia, el nivel de infestación es el único factor que muestra diferencias significativas, no así el factor repetición. Lo anterior es deseable, debido a que no quiere que los datos se vean influenciados por el número de repetición. Además del ANOVA multifactorial, se realizó la prueba de múltiples rangos para la Derivada por Nivel de infestación (Cuadro 2).

Cuadro 1. Longitudes de onda con valor-P significativo. ANOVA Multifactorial.

Longitud de onda (nm)	Factor	Valor-P
601.88	Nivel de infestación	0.0395
959.77	Nivel de infestación	0.0324

Valor-P menor a 0.05, indica diferencia significativa al 95 % de confianza.

Cuadro 2. Prueba de múltiples rangos para la Derivada por Nivel de infestación.

Long. de onda (nm)	Tratamientos		
	0-1	0-2	0-3
601.88	*		*
959.77		*	*

*indica diferencia significativa al 95 % de confianza.

La prueba anterior indica que las longitudes de onda de 601.88 y 959.77 nm, permiten diferenciar al 95 % de confianza, entre los tratamientos sin pulgón (0) y los tratamientos con baja, media y alta presencia de pulgón (1, 2 y 3, respectivamente).

Estos resultados indican que la reflectancia espectral del brócoli varía dependiendo de si existe o no presencia de las plagas de pulgón *M. persicae* y *B. brassicae*. Es importante mencionar que el daño que causan ambas plagas genera el mayor cambio en la región del espectro electromagnético del rojo e infrarrojo cercanos. El cambio en la primera región mencionada, puede deberse a que las plagas causan un cambio en el contenido del pigmento clorofila. Por su parte, el cambio en la región del infrarrojo cercano indica que la estructura celular de la planta sufre modificaciones, esto puede deberse a que las plagas al alimentarse succionan agua y con ello pueden modificar en el contenido de agua de la célula. Específicamente para pulgones, esta situación se presenta también en los trabajos realizados en trigo para detección de las plagas pulgón verde y pulgón ruso (Riedell y Blackmer, 1999; Yang *et al.*, 2005; Mirik *et al.*, 2006; Mirik *et al.*, 2006b) en los cuales las longitudes de onda sensibles a la presencia de las plagas pertenecen a la región del rojo e infrarrojo cercano. Estas investigaciones han sido el pilar para utilizar imágenes multiespectrales de campos de cultivo y con base en cálculos de índices espectrales de vegetación y métodos de clasificación como el Minimizador de Energía, generar mapas de infestación (Mirik *et al.*, 2014).

En resumen, con el presente trabajo se lograron detectar las longitudes de onda sensibles la presencia de las plagas en hojas de cultivo de brócoli, sin embargo, aún queda trabajo por hacer para lograr la aplicación de esta técnica en áreas extensas de producción de brócoli.

CONCLUSIÓN

A partir de la reflectancia espectral de hojas de brócoli no infestadas e infestadas por *M. persicae* y *B. brassicae*, se obtuvo que las longitudes de onda de 601.88 y 959.77 nm tienen Valores-*p* de 0.0395 y 0.0324, respectivamente. Esto indica que dichas longitudes permiten diferenciar estadísticamente entre hojas de brócoli con presencia de las plagas y hojas sin infestación.

Se recomienda realizar repeticiones del experimento para corroborar los resultados y a partir de ellos desarrollar un Índice Espectral de Vegetación que permita diferenciar el daño que las plagas en cuestión causan al cultivo de otro tipo de daño (ejemplo factores nutricionales). Además, de investigar si es posible o no diferenciar espectralmente a ambas plagas.

Literatura citada

- ADAM, E., DENG, H., ODINDI, J., ABDEL-RAHMAN, E. M. AND O. MUTANGA. 2017. Detecting the early stage of phaeosphaeria leaf spot infestations in maize crop using in situ hyperspectral data and guided regularized random forest algorithm. *Journal of Spectroscopy*, 2017. Article ID 6961387, 8 pp. <https://doi.org/10.1155/2017/6961387>.
- ATHERTON, D., CHOUDHARY, R. AND D. WATSON. 2017. Hyperspectral remote sensing for advanced detection of early blight (*Alternaria solani*) disease in potato (*Solanum tuberosum*) plants prior to visual disease symptoms. In: *ASABE Annual International Meeting* (p. 1). American Society of Agricultural and Biological Engineers.
- FAO (ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA ALIMENTACIÓN Y LA AGRICULTURA). 2011. *El Estado de los Recursos de Tierras y Aguas del Mundo para la Alimentación y la Agricultura*. Autor: Roma. 47 pp.
- HERNÁNDEZ, H. J. AND D. MONTANER, D. 2009. *Patrones de respuesta espectral. Tecnologías Geoespaciales: Experiencias Aplicadas al Estudio y Gestión del Territorio*. ISBN, 978-956.
- INEGI (INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICA Y GEOGRÁFICA). 2014. *Encuesta Nacional Agropecuaria (ENA): Conociendo al campo de México*. Resultados. Levantamiento del 16 de octubre al 28 de noviembre de 2014.
- KUMAR, J., VASHISTH, A., SEHGAL, V. K. AND V. K. GUPTA. 2013. Assessment of aphid infestation in mustard by hyperspectral remote sensing. *Journal of the Indian Society of Remote Sensing*, 41(1): 83–90.
- MIRIK, M., MICHELS JR, G. J., KASSYMZHANOVA-MIRIK, S., ELLIOTT, N. C. AND R. BOWLING. 2006. Hyperspectral spectrometry as a means to differentiate uninfested and infested winter wheat by greenbug (Hemiptera: Aphididae). *Journal of economic entomology*, 99(5): 1682–1690.
- MIRIK, M., MICHELS, G. J., MIRIK, S. K., ELLIOTT, N. C. AND V. CATANA. 2006B. Spectral sensing of aphid (Hemiptera: Aphididae) density using field spectrometry and radiometry. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 30(6): 421–428.
- MIRIK, M., ANSLEY, R. J., STEDDOM, K., RUSH, C. M., MICHELS, G. J., WORKNEH, F., CUI, S. AND N. C. ELLIOTT. 2014. High spectral and spatial resolution hyperspectral imagery for quantifying Russian wheat aphid infestation in wheat using the constrained energy minimization classifier. *Journal of applied remote sensing*, 8: 083661–083661.
- MOSHOU, D., BRAVO, C., WEST, J., WAHLEN, S., MCCARTNEY, A. AND H. RAMON. 2004. Automatic detection of ‘yellow rust’ in wheat using reflectance measurements and neural networks. *Computers and Electronics in Agriculture*, 44, 173–188.
- PAZ, P. F., PALACIOS V. E., MEJÍA S. E., MARTÍNEZ M. M. Y S. L. A. PALACIOS. 2005. Análisis de los espacios espectrales de la reflectividad del follaje de los cultivos. *Agrociencia*, 39(3): 293–301.
- RIEDEL, W. E. AND T. M. BLACKMER. 1999. Leaf reflectance spectra of cereal aphid-damaged wheat. *Crop Science*, 39(6): 1835–1840.
- RODRÍGUEZ-GERMADE, I., RUBIO, B., REY, D., VILAS, F., MARTINS, V. Y F. ROCHA. 2013. Evaluación de técnicas de procesamiento de datos geoquímicos en sedimentos marinos analizados con un Itrax Core Scanner. *Geogaceta*, 53.
- SANTOYO, J. J. Y A. C. MARTÍNEZ. 2011. *Tecnología de Producción de Brócoli*. Fundación Produce. SAGARPA. Sinaloa.

- SECRETARÍA DE DESARROLLO AGROPECUARIO Y RURAL (SDAYR). 2018. Se aplicará veda a crucíferas del 1 de mayo al 14 de junio en el Bajío. Boletín. Recuperado de: <https://boletines.guanajuato.gob.mx/2018/04/17/se-aplicara-veda-a-cruciferas-del-1-de-mayo-al-14-de-junio-en-el-bajio/>
- SIAP (SERVICIO DE INFORMACIÓN AGROALIMENTARIA Y PESQUERA). 2018. México produjo 567 mil toneladas de brócoli en 2017. Recuperado de: <https://www.gob.mx/siap/articulos/mexico-produjo-567-mil-toneladas-de-brocoli-en-2017?idiom=es>
- YANG, Z., RAO, M. N., ELLIOTT, N. C., KINDLER, S. D. AND T. W. POPHAM. 2005. Using ground-based multispectral radiometry to detect stress in wheat caused by greenbug (Homoptera: Aphididae) infestation. *Computers and electronics in agriculture*, 47(2): 121–135.
- ZHANG, M., QIN, Z., LIU, X. AND S. L. USTIN. 2003. Detection of stress in tomatoes induced by late blight disease in California, USA, using hyperspectral remote sensing. *International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformation*, 4(4): 295–310.