



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO EN FITOSANIDAD

FITOPATOLOGÍA

**EVALUACIÓN DE SEVERIDAD DE ANTRACNOSIS EN FRUTOS
DE MANGO USANDO PROYECCIONES GEOMÉTRICAS
OBTENIDAS DE IMÁGENES DIGITALES**

LAURO SOTO ROJAS

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE :

MAESTRO EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MEXICO

2010

La presente tesis titulada: **EVALUACIÓN DE SEVERIDAD DE ANTRACNOSIS EN FRUTOS DE MANGO USANDO PROYECCIONES GEOMÉTRICAS OBTENIDAS DE IMÁGENES DIGITALES**, realizada por la alumno **LAURO SOTO ROJAS**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS
FITOSANIDAD
FITOPATOLOGÍA

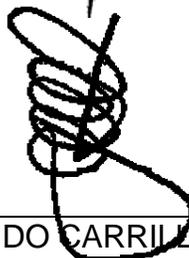
CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO:



DR. DANIEL NIETO ANGEL

ASESOR:



DR. JOSÉ ALFREDO CARRILLO SALAZAR

ASESOR:



M.C. JORGE MANUEL VALDEZ CARRASCO

Montecillo, Texcoco, Estado de México, Julio de 2010

EVALUACIÓN DE SEVERIDAD DE ANTRACNOSIS EN FRUTOS DE MANGO USANDO PROYECCIONES GEOMÉTRICAS OBTENIDAS DE IMÁGENES DIGITALES

RESUMEN

Lauro Soto Rojas, M.C., Colegio de Postgraduados, 2010

Se desarrolló una metodología para estimar el porcentaje de severidad de antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*) en frutos de mango (*Mangifera indica* L.). Se emplearon imágenes digitales para hacer una proyección geométrica, la cual es la representación extendida de la superficie del fruto. Se construyó un goniómetro para girar un fruto sobre su eje longitudinal y tomar una foto cada 90 grados hasta adquirir cuatro imágenes por fruto. Cada imagen fue segmentada manualmente para separar el área enferma de la superficie sana del fruto. Después se desarrolló un módulo en el programa estadístico R para procesar las imágenes digitales y hacer la proyección geométrica. Esta técnica puede emplearse en otros frutos, con forma predominantemente convexa, para evaluar enfermedades que producen lesiones diferenciables por el evaluador. Para obtener la precisión del método se estimó el porcentaje de severidad en 25 frutos y se comparó con el valor real, obtenido de la cáscara retirada del fruto, extendida y digitalizada con un escáner. Con el método de proyección geométrica se obtuvo un error medio de 1.28%, precisión de 0.987 y exactitud de 0.992. El porcentaje de severidad obtenido con la metodología propuesta no fue estadísticamente diferente al método exacto de cuantificación.

Palabras clave: *Colletotrichum gloeosporioides*, *Mangifera indica*, enfermedades postcosecha, estimación de severidad, análisis de imágenes, proyección geométrica.

ASSESSMENT OF ANTHRACNOSE SEVERITY ON MANGO FRUITS USING GEOMETRIC PROJECTIONS OBTAINED FROM DIGITAL IMAGES

SUMMARY

Lauro Soto Rojas, M.C., Colegio de Postgraduados, 2010

A method was developed to estimate the percentage of anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) severity on mango (*Mangifera indica* L.) from digital images, in order to obtain the geometric projection, which is the extended representation of the fruit surface. A goniometer was built to rotate the fruit on its long axis and take a photograph every 90 degrees, thus four images were taken per fruit. Each image was manually segmented with an image analyzer to separate the diseased area from the healthy surface of the fruit. After that, a module was developed in the R statistical software to process the digital images and create a geometric projection. This technique can be used with other fruits with a predominantly convex shape to evaluate diseases that produce lesions differentiable by the evaluator. To obtain the precision of the method, the percentage of severity was estimated in 25 fruits and compared against the value obtained from the peel; separated from the fruit, extended and digitalized with a scanner. The method had a mean error of 1.28%, precision of 0.987, and accuracy of .992. The severity percentage obtained with this method was not statistically different to the exact quantification method.

Index words: *Colletotrichum gloeosporioides*, *Mangifera indica*, post-harvest diseases, assessment of severity, image analysis, geometric projection.

AGRADECIMIENTOS

A mi mejor amigo: **Jesús**. Gracias por procurar mi amistad y mi bienestar; Maestro, gracias por esperarme. Dile a papá que lo quiero mucho y que los regalos están geniales!!

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología**, por el apoyo que otorga a todos los estudiantes del país.

Al **Colegio de Postgraduados**, por darme la oportunidad de recibir una educación de excelencia. Gracias por prepararme para servir mejor a la sociedad.

A mi consejero **Dr. Daniel Nieto Angel**, por su amistad. Gracias por su gran calidad profesional y humana. Gracias por todo el apoyo que me brindó durante mi formación.

Al **Dr. José Alfredo Carrillo Salazar**, por las valiosas aportaciones que impulsaron esta investigación. Gracias porque siempre me enseñó cosas nuevas.

Al **M.C. Jorge Manuel Valdez Carrasco**, por su acertada visión científica y crítica. Gracias por su paciencia, asesoría y por compartir conmigo sus conocimientos sobre procesamiento de imágenes.

Al **Dr. Néstor Bautista Martínez**, por su amistad y su confianza. En verdad, gracias por apoyarme en muchos aspectos de mi vida.

Al **M.C. Juan Diego Hernández Jarquín**, por incorporarse con entusiasmo a este proyecto. Gracias por sus conocimientos en programación.

Al **Dr. Francisco José Zamudio Sánchez**, porque sus enseñanzas trascienden a todos los ámbitos de la vida.

A mis amigos: Alma Rosa, Alma Sánchez, Alfredo Baltazar, Claudio Chavarín, Daniel García, Francisco Lara, Humberto Ramírez, Isabel Ruíz, Juan Emilio, Lety Robles, Luis Alfonso, Maricarmen Sánchez, Marja Liza, Miguel A. Lucero y Moisés Camacho. Nunca es largo el camino que conduce a casa de un amigo –Juvenal-

DEDICATORIA

A mis hijos, Flor Dalí y Enoc Maximiliano. Qué grande es la alegría que han traído a mi vida!! Que Dios les conceda sabiduría para que sean grandes por el camino de la verdad.

A mi esposa, Elisa Ríos Ramírez. Eres una excelente mujer, gracias porque siempre me ayudas. Te amo.

A mi madre, Heriberta Rojas García. Me enseñaste que el Trabajo, el Amor y la Esperanza son las constantes de la ciencia de la vida. Estoy contigo hasta el fin del mundo.

A mis hermanos: Pedro, José Luis, Luis, Flor y Tulia, Laura y Adrián, por estar conmigo a cada instante. Que Dios los bendiga.

A mis sobrinos: Alex, Ángel, Ángelo, Bertha, Cristian, Fernando, Irving, Jonathan, Leslie, Lupita, Michel, Sergio y Sheyla. Porque son la alegría de nuestras vidas. Siempre estaré para ser su amigo.

Cuando las estadísticas nos dicen que la familia mexicana tiene un promedio de cuatro hijos y medio, nos explicamos por qué siempre hay uno chaparrito.

-Marco Aurelio Almazán-

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	II
SUMMARY	III
AGRADECIMIENTOS	IV
DEDICATORIA.....	V
ÍNDICE DE FIGURAS	VIII
ÍNDICE DE CUADROS	VIII
INTRODUCCIÓN GENERAL	1
CAPÍTULO 1	2
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	2
1.1. PRODUCCIÓN DE MANGO EN MÉXICO	2
1.2. PÉRDIDAS POSTCOSECHA OCASIONADAS POR PATÓGENOS.....	3
1.3. ANTRACNOSIS DEL MANGO EN POSTCOSECHA.....	5
1.4. CUANTIFICACIÓN DE ENFERMEDADES EN PLANTAS.....	6
1.5. CUANTIFICACIÓN DE ENFERMEDADES EN FRUTOS	8
CAPÍTULO 2	10
EVALUACIÓN DE SEVERIDAD DE ANTRACNOSIS EN FRUTOS DE MANGO USANDO PROYECCIONES GEOMÉTRICAS OBTENIDAS DE IMÁGENES DIGITALES.....	10
2.1. RESUMEN	10
2.2. INTRODUCCIÓN	11
2.3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	13
2.3.1. Selección de frutos de mango con antracnosis	13
2.3.2. Toma de imágenes	14
2.3.3. Segmentación de imágenes	15
2.3.4. Método de medición a través de la proyección geométrica de la superficie del fruto	16
2.3.5. Método exacto de cuantificación (obtención de valores reales).....	21
2.3.6. Medición de la severidad de antracnosis	22

2.3.7. Comparación de métodos y cálculo de error	22
2.4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	23
2.5. CONCLUSIONES	26
CAPÍTULO 3	28
ESTIMACIÓN DE SEVERIDAD DE ANTRACNOSIS EN FRUTOS DE MANGO CON ANÁLISIS SIMPLE DE IMÁGENES DIGITALES.....	28
3.1. RESUMEN	28
3.2. INTRODUCCIÓN	29
3.3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	30
3.3.1. Selección de frutos de mango con antracnosis	30
3.3.2. Captura de imágenes y segmentación.....	31
3.3.4. Estimación de la severidad de antracnosis.....	31
3.3.5. Métodos de estimación evaluados.....	31
3.3.5.1. Método de estimación simple (MES)	32
3.3.5.2. Muestreo de la superficie óptima para minimizar el error de cálculo de superficie enferma (MSOP)	33
3.3.5.3. Muestreo de la superficie eliminando la curvatura (MEEC)	35
3.3.6. Variables medidas	36
3.3.7. Análisis de datos.....	36
3.4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	36
3.5. CONCLUSIONES	39
CAPÍTULO 4	40
ANÁLISIS COMPARATIVO DE MÉTODOS DE EVALUACIÓN DE SEVERIDAD	40
CONCLUSIONES GENERALES.....	42
LITERATURA CITADA.....	43

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1. Goniómetro, instrumento permite que un objeto sea rotado a una posición angular exacta.....	15
Figura 2.2. Imágenes de 0 y 90° permiten obtener la longitud del eje mayor y menor de la elipse.....	18
Figura 2.3. Proyección geométrica. (a) Representación de la imagen tomada a 0° y (b) representación de la imagen tomada a 180°.....	20
Figura 2.4. Imagen obtenida con el método exacto de cuantificación. Se diferencia el área sana y enferma en la cáscara del fruto.....	21
Figura 2.5. Porcentajes de severidad de antracnosis en 25 frutos. La línea roja representa la recta $y = x$. La línea negra es la recta de regresión entre los valores calculados y los valores reales.....	25
Figura 3.1. Estimación de porcentaje de severidad con el MES para una serie S2. La estimación se hace con base en toda la imagen.....	32
Figura 3.2. Estimación de porcentaje de severidad con el MSOP con una serie S2. La estimación se hace con base en el área inscrita en el rectángulo.....	34
Figura 3.3. Estimación de porcentaje de severidad con el MEEC con una serie S3. La estimación se hace con base en el área central del a imagen.....	35

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 3.1. Comparación de medias de error para la combinación Método-Serie.....	37
Cuadro 4.1. Errores de estimación de severidad obtenidos con 10 evaluadores.....	40

INTRODUCCIÓN GENERAL

La medición de la severidad de enfermedades de frutos en postcosecha sirve para comparar variedades, métodos de control y efectos de plaguicidas, así como para la comprensión de procesos fundamentales de la biología, incluyendo la epidemiología de las enfermedades (Bock *et al.*, 2010). En la historia de la fitopatología, inicialmente la medición de la severidad se realizó de manera subjetiva con la ayuda de escalas visuales. En la actualidad, son explorados nuevos métodos de medición de enfermedades; diversos autores (Bock *et al.* 2008; Nieto *et al.* 2001; Martin y Rybicki, 1998) reportan que mediante el análisis computarizado de imágenes se pueden hacer mediciones confiables y con un alto grado de repetibilidad y reproducibilidad. Aunque existen diferentes analizadores de imágenes para cuantificar enfermedades en plantas (Bock *et al.*, 2010; Wijekoon *et al.*, 2008; Lamari, 2005), generalmente no están diseñados para su uso en frutos.

Debido a la curvatura de los frutos, en general, el análisis computarizado de imágenes no se puede aplicar directamente para medir severidad. Como paso previo a la medición, se debe corregir la imagen mediante algún método de proyección. El objetivo de este trabajo fue desarrollar una metodología alternativa de medición de severidad, a través del procesamiento de imágenes para lograr una proyección geométrica de la superficie del fruto. Tal proyección se obtuvo con un módulo desarrollado en el programa estadístico R.

CAPÍTULO 1

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.1. PRODUCCIÓN DE MANGO EN MÉXICO

El mango (*Manguifera indica* L.) es un cultivo distribuido en países con clima tropical y subtropical; el fruto tiene demanda en prácticamente todos los mercados del mundo y alcanza los mejores precios en países de clima templado (Huerta *et al.*, 2009). El mango ocupa el tercer lugar en cuanto a superficie sembrada de frutales en México (SAGARPA-SIAP, 2010). La mayor oferta en mercados internacionales está a cargo de México, siendo Estados Unidos su principal comprador, ya que recibe 56% del total de las exportaciones mexicanas (Huang y Huang, 2007).

La producción mundial de mango en 2008 fue 34 millones de toneladas, obtenidas en aproximadamente 4.6 millones de hectáreas. En ese año el mayor productor fue la India con 13.6 millones de toneladas, seguido por China y México con 3.9 y 1.8 millones de toneladas, respectivamente. Los mayores exportadores son México, India y Brasil, los cuales en conjunto ofrecen el 55% del mango en mercados internacionales (FAO, 2010).

Para México, las exportaciones de mango tienen un valor aproximado de 120 millones de dólares; el producto se destina principalmente a Estados Unidos, Reino Unido, Francia y Alemania (FAO, 2010).

A nivel nacional, los estados con mayor producción de mango, ordenados por volumen de producción, son: Guerrero, Sinaloa, Nayarit, Oaxaca, Chiapas, Veracruz y Michoacán, que en conjunto contribuyen con el 88% de la producción nacional. En México, las variedades que más se producen son Manila (23.42%), Haden (19.44%), Ataulfo (17.72%), Tommy Atkins (17.14%), Criollo (8.71%) y Kent (8.44%) (SAGARPA-SIAP, 2009).

1.2. PÉRDIDAS POSTCOSECHA OCASIONADAS POR PATÓGENOS

Una cantidad importante de frutos y vegetales se pierden después de la cosecha, principalmente en los países en desarrollo. Esta situación incrementa los precios al consumidor y agrava el problema de la escasez de alimentos. Las causas de las pérdidas en postcosecha, que la Organización Panamericana de la Salud (OPS, 2009) estima entre 15 y 50% de la producción, son muy diversas. Entre ellas figuran la contaminación por microorganismos, la recolección en un momento inadecuado del proceso de maduración, una exposición excesiva a la lluvia, la sequía, las temperaturas extremas y los daños físicos que reducen el valor del producto (FAO, 2009).

Las enfermedades postcosecha son uno de los principales factores causantes de pérdida de fruta en todos los mercados del mundo. Desde un punto de vista fisiológico y en particular de la postcosecha, los frutos afectados por hongos y bacterias se ven demeritados en su aspecto estético y en su calidad nutritiva, aunado a una menor vida comercial en anaquel. Tal problema se agudiza por el

inadecuado manejo en los procesos que se dan desde la cosecha hasta que los frutos llegan al consumidor (Zamora *et al.*, 1999).

Una vez cosechados, los frutos tienen una vida postcosecha limitada. De manera natural, en los frutos ocurre la senescencia y esto conduce a un ablandamiento de los tejidos y frecuentemente a la reducción de sustancias preformadas con actividad antimicrobiana (Mahovic *et al.*, 2007). Esta correlación entre senescencia y susceptibilidad a la descomposición son agravados con la incidencia de enfermedades que aceleran la pérdida de la calidad, la cual es factor indispensable para la comercialización.

Las especies de hongos que causan pérdidas en postcosecha tienen una gran capacidad de adaptación a condiciones adversas, incluso a las bajas temperaturas y a la vida saprofítica (Soto, 2003). Los géneros de importancia económica en postcosecha se caracterizan por colonizar numerosos sustratos y poseer una gran capacidad de fructificación y multiplicación. Los frutos son fácilmente contaminados a partir de esporas presentes en centros de embalaje y cámaras frigoríficas (Morales, 1982).

Históricamente, las pérdidas causadas por enfermedades fungosas en postcosecha se han intentado disminuir mediante la utilización de fungicidas. Este método es actualmente el más utilizado, fundamentalmente a causa de su relativo bajo costo y la comodidad en su aplicación. Entre los sistemas opcionales para el control de enfermedades en postcosecha se puede destacar: atmósferas

controladas, medidas profilácticas, incremento e inducción de la resistencia natural, tratamientos con calor, tratamientos con gases (CO₂, ozono, O₂), pesticidas naturales, irradiación, revestimientos y microorganismos antagónicos (Usall *et al.*, 2002).

1.3. ANTRACNOSIS DEL MANGO EN POSTCOSECHA

El mango está considerado entre los principales productos frutícolas de origen tropical. La comercialización de esta fruta se lleva a cabo en un período corto, pues es un producto perecedero en extremo y susceptible al deterioro causado por agentes patógenos, desordenes fisiológicos y daños mecánicos en postcosecha (Cáceres *et al.*, 2002). Entre las enfermedades que ocasionan mayores pérdidas de mangos en postcosecha, la antracnosis [*Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. y Sacc., (teleomorfo: *Glomerella cingulata*)] es la más importante. El patógeno ataca al cultivo desde la etapa de campo, afectando hojas, inflorescencias y frutos; en casos severos, el hongo ocasiona una muerte descendente de los árboles (Gutiérrez *et al.*, 2003; Arauz, 2000). La antracnosis se encuentra en todas las regiones productoras de mango en México y ocasiona pérdidas de 15 a 50% (Rojas *et al.*, 2008).

Al principio de la enfermedad, las infecciones permanecen quiescentes ya que los frutos verdes tienen una mezcla de compuestos antifúngicos en la cáscara. El proceso infectivo se reactiva cuando los compuestos fungitóxicos reducen su concentración durante la maduración del fruto (Prusky, 1996).

La antracnosis de mangos en postcosecha inicia con manchas poco definidas de color marrón, y conforme avanza la enfermedad las lesiones se tornan de color negro. Las manchas de diferentes tamaños frecuentemente se unen para cubrir áreas extensas en la superficie del fruto; por lo general, el patrón de distribución inicia en el pedúnculo y se extiende hacia el extremo distal. Las lesiones suelen limitarse a la cáscara, pero en casos graves el hongo puede invadir la pulpa. En fases avanzadas de la enfermedad, el hongo produce acérvulos y abundantes conidióforos de color rosa o salmón (Akem, 2006; Arauz, 2000). Los acérvulos formados pueden ser setosos o glabros, dependiendo de las condiciones ambientales (Gutiérrez *et al.*, 2002; Smith y Black, 1990).

1.4. CUANTIFICACIÓN DE ENFERMEDADES EN PLANTAS

En la historia de la fitopatología, inicialmente la medición de la severidad de enfermedades se realizó de manera cualitativa y cuantitativa, a menudo con la ayuda de escalas visuales y claves de evaluación (Horsfall y Barratt, 1945). En la actualidad, se siguen empleando escalas y claves al mismo tiempo que son explorados nuevos métodos de medición de enfermedades. El uso de la tecnología ha demostrado gran utilidad para la detección y medición de enfermedades a diversas escalas, desde visiones moleculares hasta estudios regionales (Bock *et al.*, 2010; Nutter *et al.*, 2006).

De acuerdo con Nutter *et al.* (1991), la severidad de la enfermedad es expresada en porcentaje o proporción y se refiere al área (relativa o absoluta) que muestra síntomas de la enfermedad en unidades de evaluación (hojas, tallos, frutos, etc.). Por su parte, Bock *et al.* (2010) indican que la 'estimación' de la severidad de una enfermedad se hace mediante una evaluación visual; mientras que la 'medición' de la severidad de la enfermedad, se obtiene con métodos más precisos como el análisis de imágenes.

Los síntomas de una enfermedad pueden ser estimados o medidos de diferentes formas, considerando la intensidad (cantidad de enfermedad presente en una población), la prevalencia (porcentaje de campos o ciudades en los que la enfermedad se ha detectado), la incidencia (porcentaje de plantas, ramas, hojas o frutos enfermos) o la severidad (porcentaje de área enferma en hojas, frutos, etc.) (Nutter *et al.*, 2006). Sin embargo, la mayoría de los investigadores emplean el porcentaje de severidad como medida de la cantidad de enfermedad; la medición se hace en órganos individuales como hojas, tallos, frutos o raíces (Bock *et al.*, 2010).

Existen diferentes formas de obtener el porcentaje de severidad real de enfermedades en hojas. Un método confiable consiste en tomar imágenes de las hojas e imprimirlas, después se recortan y separan las áreas enfermas de las sanas y se pesan por separado con una balanza de precisión (Nita *et al.*, 2003; Nieto *et al.* 2001). Sin embargo, en este método, como en cualquier otro, existe la posibilidad de que el operador cometa errores; por ejemplo, en la definición exacta

del punto donde termina la zona enferma y comienza el tejido sano (Bock *et al.*, 2010).

Diversos autores (Bock *et al.* 2008; Nieto *et al.* 2001; Martin y Rybicki, 1998) reportaron que mediante el análisis computarizado de imágenes se pueden hacer mediciones confiables y con un alto grado de repetibilidad. Existen diferentes analizadores de imágenes, de uso general, que se han empleado para medir severidad en follaje; así también hay analizadores específicamente desarrollados para cuantificar enfermedades en plantas (Bock *et al.*, 2010; Wijekoon *et al.*, 2008; Lamari, 2005).

Debido a la curvatura de los frutos, en general, el análisis computarizado de imágenes no se puede aplicar directamente para medir severidad. Como paso previo a la medición, se debe corregir la imagen mediante algún método de proyección. Esta situación se analiza en las siguientes secciones.

1.5. CUANTIFICACIÓN DE ENFERMEDADES EN FRUTOS

Para la evaluación de enfermedades de frutos en postcosecha, de manera convencional, se emplean escalas visuales compuestas por clases que representan diferentes grados de severidad en el fruto (Nieto *et al.*, 2001). Cada fruto es categorizado de acuerdo con el porcentaje de área enferma estimado por el evaluador. Esta categorización no es cuantitativa y depende de la apreciación y experiencia del investigador. La repetibilidad y la reproducibilidad de este método

de estimación pueden ser calculadas; sin embargo, la precisión y la exactitud presentan la dificultad de que para su obtención se necesitan los valores reales de severidad, los cuales regularmente son desconocidos.

En investigaciones sobre patologías de frutos en postcosecha, un conocimiento exacto de la severidad daría gran objetividad a la comparación de métodos de control y efectos de plaguicidas, se podría evaluar la susceptibilidad de variedades, agresividad de cepas y, en general, coadyuvaría al entendimiento de procesos fundamentales de la biología de los patógenos. Es evidente la necesidad de un método de medición de severidad que corrija las áreas deformadas por la curvatura del fruto. Por lo anterior, Corkidi *et al.* (2006) desarrollaron un método de procesamiento de imágenes, que hace una proyección pseudocilíndrica de la superficie de frutos de mango, para cuantificar el área afectada por antracnosis. Este es el único reporte en la literatura en donde se emplea una técnica de procesamiento de imágenes para corregir la deformación de las áreas y cuantificar la severidad de enfermedades en frutos.

CAPÍTULO 2

EVALUACIÓN DE SEVERIDAD DE ANTRACNOSIS EN FRUTOS DE MANGO USANDO PROYECCIONES GEOMÉTRICAS OBTENIDAS DE IMÁGENES DIGITALES

2.1. RESUMEN

Se desarrolló una metodología para medir el porcentaje de severidad de antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*) en frutos de mango (*Mangifera indica* L.). Se emplearon imágenes digitales para hacer una proyección geométrica, la cual es la representación extendida de la superficie del fruto. Se construyó un goniómetro para girar un fruto sobre su eje longitudinal y tomar una foto cada 90 grados hasta adquirir cuatro imágenes por fruto. Cada imagen fue segmentada manualmente para separar el área enferma de la superficie sana del fruto. Después se desarrolló un módulo en el programa estadístico R para procesar las imágenes digitales y hacer la proyección geométrica. Esta técnica puede emplearse en otros frutos, con forma predominantemente convexa, para evaluar enfermedades que producen lesiones diferenciables por el evaluador. Para obtener la precisión del método se estimó el porcentaje de severidad en 25 frutos y se comparó con el valor real, obtenido de la cáscara retirada del fruto, extendida y digitalizada con un escáner. Con el método de proyección geométrica se obtuvo un error medio de 1.28%, precisión de 98.72% y exactitud de 99.20%. El porcentaje de severidad obtenido con la metodología propuesta no fue estadísticamente diferente al método exacto de cuantificación.

2.2. INTRODUCCIÓN

La antracnosis del mango, producida por el hongo *C. gloeosporioides* (teleomorfo: *Glomerella cingulata*), es la enfermedad que ocasiona las mayores pérdidas económicas, afectando hojas, inflorescencias y frutos, y registra el mayor daño en postcosecha (Huerta *et al.*, 2009; Benítez *et al.*, 2003). La antracnosis se encuentra en todas las regiones productoras de mango en México y ocasiona pérdidas de 15 a 50% (Rojas *et al.*, 2008; Becerra, 1995). El proceso infectivo del patógeno tiene un desarrollo óptimo a temperaturas entre 20 y 30°C y humedad relativa mayor a 90% (Dodd *et al.*, 1991). Los conidios de *C. gloeosporioides* son liberados sólo cuando los acérvulos se encuentran húmedos; la infección inicial tiene lugar antes de la cosecha y permanece quiescente hasta que los frutos comienzan a madurar; en esta etapa la enfermedad adquiere mayor severidad (Agrios, 2006). En postcosecha, los síntomas aparecen como manchas circulares hundidas y de color café oscuro a negro. Conforme avanza la enfermedad, las manchas coalescen y se ennegrecen debido a los acérvulos negros que se desarrollan en la subepidermis del fruto; en estados avanzados de la infección se observan masas de esporas de color salmón o rosa (Akem, 2006; Arauz, 2000).

Existen diversas razones por las que se necesita estimar o medir la cantidad de enfermedad en las plantas. Este conocimiento es particularmente importante para tomar decisiones en cultivos en los que la cantidad de enfermedad está estrechamente relacionada con la reducción del rendimiento. La estimación

cuantitativa de la enfermedad sirve para comparar variedades, métodos de control y efectos de plaguicidas, así como para la comprensión de procesos fundamentales de la biología, incluyendo la coevolución y epidemiología de las enfermedades de plantas y frutos (Bock *et al.*, 2010; Nutter *et al.*, 2006).

De manera tradicional, con el fin de estimar la severidad de enfermedades fungosas en postcosecha, se emplean escalas visuales compuestas por clases que representan diferentes grados de lesión en el fruto (Nieto *et al.*, 2001). El procedimiento consiste en categorizar a los frutos de acuerdo con su porcentaje de área enferma y con la escala empleada. Esta categorización no es cuantitativa y depende de la experiencia visual del evaluador; de esta manera, es posible que haya sesgos que conduzcan a conclusiones sistemáticamente diferentes de la realidad, ya que este tipo de error es diferente al error aleatorio. En esta situación, la validez de un experimento se ve comprometida cuando se hacen ensayos con diferentes investigadores, lo anterior se debe a que es difícil estandarizar los criterios de evaluación (Ávila, 2006).

La evaluación realizada con escalas visuales es cualitativa y tiende a ser subjetiva; por lo anterior, Corkidi *et al.* (2006) desarrollaron un método de procesamiento de imágenes, que permite hacer una proyección pseudocilíndrica de la superficie de frutos de mango para cuantificar el área afectada por antracnosis. Sus resultados indican que el método es más exacto que los métodos convencionales basados en escalas visuales. Este es el único reporte en donde se emplea una técnica tridimensional de análisis de imágenes para cuantificar la severidad de

enfermedades en frutos; otros analizadores empleados en fitopatología han sido desarrollados para cuantificar enfermedades en follaje (Bock *et al.*, 2010; Wijekoon *et al.*, 2008; Lamari, 2005).

El objetivo de este trabajo fue desarrollar una metodología alternativa de medición de severidad, a través del procesamiento de imágenes para lograr una proyección geométrica de la superficie del fruto. Tal proyección se obtuvo con un módulo desarrollado en el programa estadístico R. La metodología diseñada tiene un enfoque práctico y puede implementarse sin comprometer recursos económicos en el pago de licencias de *software* especializado.

2.3. MATERIALES Y MÉTODOS

2.3.1. Selección de frutos de mango con antracnosis

El experimento se realizó con 25 frutos de mango (variedad ataulfo) los cuales tenían diferentes grados de infección; es decir, se tomaron desde frutos con severidad cercana a cero hasta frutos que presentaban la mayor parte de la superficie infectada por antracnosis. No se realizaron inoculaciones, se decidió tomar frutos con patrones reales de infección, ya que la distribución de la enfermedad no es aleatoria sino en agregados.

Cada fruto fue evaluado para medir la severidad actual de la antracnosis; se empleó el método de la proyección geométrica y se comparó con el método exacto de cuantificación, el cual consiste en retirar la cáscara del mango y extenderla

cuidadosamente para ser escaneada. Para comparar los métodos de medición se efectuó una regresión lineal y un análisis de varianza considerando un diseño de bloques completos con tratamientos aleatorizados con 25 repeticiones.

2.3.2. Toma de imágenes

Para cada fruto se obtuvieron cuatro imágenes (0°, 90°, 180° y 270°); con este fin se desarrolló un goniómetro (Fig. 2.1), el cual es un instrumento que mide ángulos y permite que un objeto sea rotado a una posición angular exacta. El aparato tiene un brazo de sujeción ajustable que permite fijar frutos de diferentes tamaños. Se tuvo cuidado en alinear firmemente el eje mayor del mango con el eje de rotación del goniómetro. Los puntos de sujeción del fruto minimizaron la superficie de contacto en los 'polos', lo que permitió captar la mayor parte de la información de esas zonas. La medición de la enfermedad en los polos del fruto es de particular importancia; las infecciones cercanas al pedúnculo son frecuentes (Naqvi, 2004; Arauz, 2000), lo anterior se debe a que las esporas del hongo se depositan en el 'hombro' del fruto cuando éste se encuentra prendido del árbol.

Una vez que el fruto estuvo sujeto en el goniómetro, se suministró iluminación con dos lámparas halógenas 65 W (HALOSPOT 111 ECO, OSRAM). Atrás del goniómetro se colocó una pantalla blanca para lograr un buen contraste en los bordes del fruto. La cámara digital (PANASONIC DMC-FS3) se fijó en un tripié a 40 cm del fruto, alineando el lente con el eje de rotación y posicionándolo a la altura media del cuerpo del mango. Las fotos se capturaron accionando

manualmente la cámara, después de cada toma se giró el fruto en 90° hasta conseguir 4 fotos por fruto.

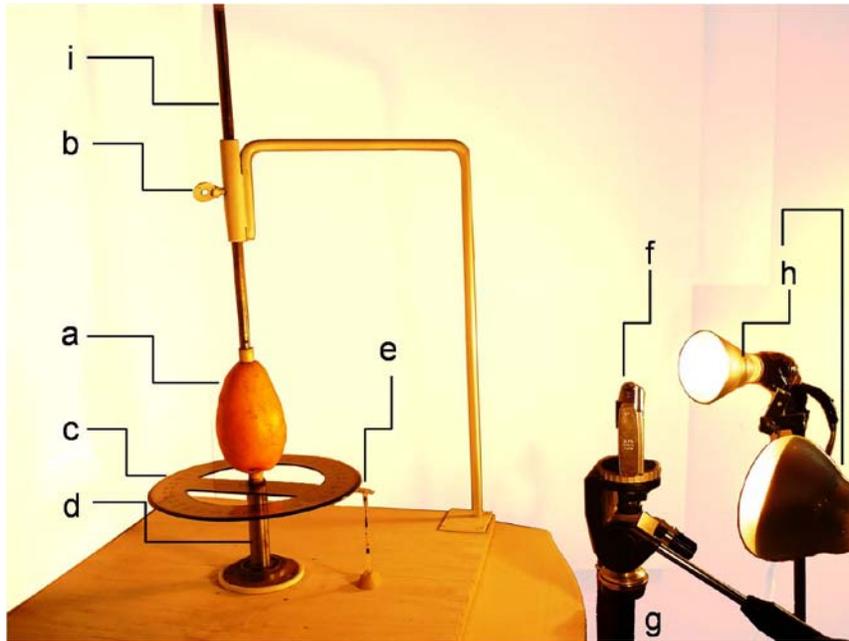


Figura 2.1. Goniómetro, permite que un objeto sea rotado a una posición angular exacta. (a) fruto; (b) tornillo de sujeción; (c) transportador 360°; (d) eje de rotación, desarrollado con un balero de precisión; (e) indicador de la posición angular exacta; (f) cámara digital; (g) trípode; (h) lámparas halógenas 65 W; (i) brazo ajustable a diferentes tamaños.

2.3.3. Segmentación de imágenes

La segmentación (diferenciación de áreas por color) se realizó con el *software* GIMP 2.6 (GNU Image Manipulation Program). El primer paso es 'limpiar' el fondo, el cual parece blanco pero está compuesto por diferentes tonos parecidos al blanco. Al uniformar el fondo con un color blanco puro se obtiene la imagen del fruto con contornos completamente definidos. A continuación se realizó una

reducción de la gama tonal (posterización) a 4 niveles que, en general, presentó buena precisión en la detección del contorno de áreas enfermas. Las lesiones fueron seleccionadas por color y se rellenaron con rojo (R=255, G=0, B=0), se invirtió la selección para obtener la superficie sana y se rellenó con azul (R=0, G=0, B=255). La imagen final segmentada tiene tres colores: blanco (fondo), rojo (área enferma) y azul (área sana).

El nivel de posterización puede ajustarse, de acuerdo con el criterio del experto, para asegurar una definición adecuada de lesiones en diferentes frutos y enfermedades. La segmentación también se consigue por otros métodos, como el descrito por Corkidi *et al.* (2006).

2.3.4. Método de medición a través de la proyección geométrica de la superficie del fruto

La proyección de la superficie de un objeto es una representación corregida conforme a la curvatura del cuerpo en estudio. Particularmente, la proyección pseudo-cilíndrica busca que la representación contenga la información real del objeto cuidando la equivalencia de las áreas (Snyder, 2003). El método de proyección pseudo-cilíndrica han sido aplicado por Corkidi *et al.* (2006) para cuantificar la severidad de antracosis en frutos de mango; tal procedimiento, basado en aproximaciones lineales, demostró tener gran exactitud cuando se capturó una imagen en cada ángulo de rotación hasta conformar un conjunto de 360 imágenes. La exactitud del método depende directamente del número de imágenes que conforman la proyección.

Como alternativa, se presenta un método de proyección geométrica que emplea cálculo integral para aplanar la curvatura del fruto. Este procedimiento analiza pixel a pixel la forma del fruto y define el conjunto de curvas que mejor se amolda al cuerpo en estudio. Posteriormente, se hace la proyección en una imagen digital mediante el cálculo de la longitud de arco particular de cada curva definida. Para aplicar este método es necesario que la imagen haya sido previamente segmentada.

La Figura 2.2 muestra la forma en que cada fila de píxeles es considerada como una elipse cuyos parámetros son determinados por la amplitud del fruto. La longitud del eje mayor de la elipse ($2a$) está dada por la amplitud de la imagen tomada a 0° ; la longitud del eje menor ($2b$) es proporcionada por el promedio de las amplitudes de las imágenes a 90 y 270° . La elipse así obtenida es la curva regular que mejor se amolda al fruto en esa sección. De esta manera, la cáscara del mango puede ser considerada como una estructura formada por un conjunto de elipses particulares que están colocadas una sobre otra. La elipse definida por los puntos P_1 , P_2 , P_3 y P_4 fue derivada de las imágenes de 0 y 90° , obteniendo la longitud de los ejes con base en la amplitud de las dos vistas a la misma altura del fruto.

Se ha comentado que en la segmentación se emplean los colores blanco, azul y rojo; sin embargo, en las figuras de este capítulo se presentan las imágenes con los colores originales para facilitar la interpretación del lector.

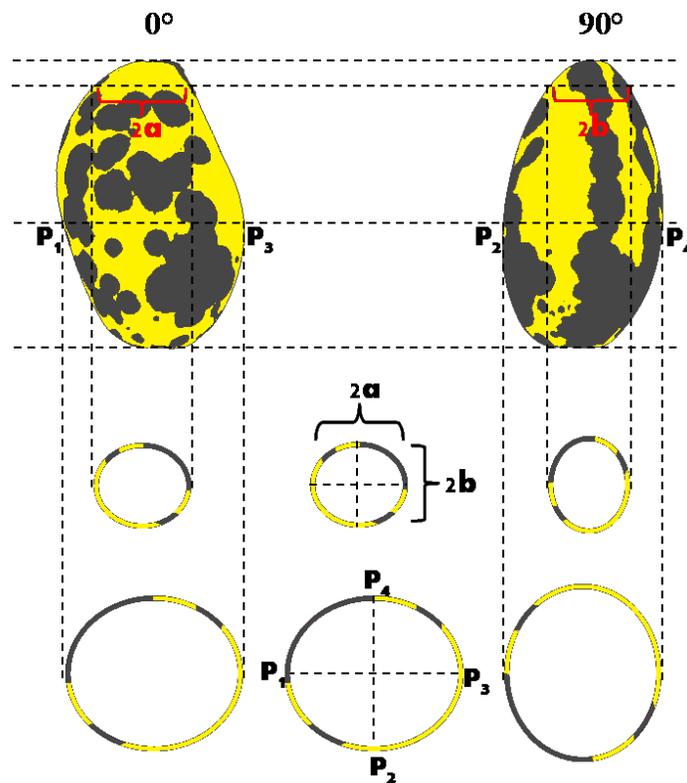


Figura 2.2. Las imágenes de 0 y 90° permiten obtener la longitud del eje mayor y menor, respectivamente. Cada línea de píxeles es considerada como una elipse. Cuando el eje mayor y el eje menor son iguales, se tiene una circunferencia como caso particular de la elipse.

Los parámetros a y b permiten definir la ecuación de la elipse, de acuerdo con Lehmann (1990):

$$\frac{x^2}{a^2} + \frac{y^2}{b^2} = 1 \quad (1)$$

Para dejar la ecuación en función de x , se despeja y de (1):

$$y = f(x) = \frac{b}{a}(a^2 - x^2)^{1/2} \quad (2)$$

Una vez definida la ecuación de la elipse se obtiene la longitud de arco; el cálculo se hace por tramos, diferenciando los pixeles rojos de los pixeles azules. Las longitudes de arco son las ponderaciones que permiten hacer la corrección de curvatura mediante la proyección geométrica; la corrección se aplica a las imágenes de 0 y 180°, con lo cual se obtiene una visión completa de la superficie del fruto. Con el método descrito se corrige la curvatura horizontal, y de forma análoga se corrige la curvatura vertical del fruto. Los elementos de cálculo integral necesarios para la estimación de la longitud de arco de una curva son descritos detalladamente por Leithold (1999). La fórmula general es:

$$L = \int_{x_1}^{x_2} \sqrt{1 + [f'(x)]^2} dx \quad (3)$$

Donde

L es la longitud del arco de la gráfica de la función comprendida entre x_1 y x_2

$f(x)$ es la función que se obtiene despejando y en (1)

$f'(x)$ es la primera derivada de $f(x)$

La integral definida es:

$$L = \int_{x_1}^{x_2} \sqrt{1 + \frac{b^2 x^2}{a^2(a^2 - x^2)}} dx \quad (3)$$

Los resultados del método de proyección geométrica se presentan en la Figura 2.3. El módulo desarrollado en el programa estadístico R acepta imágenes en formato JPG o TIFF y con una subrutina del módulo se transforman al formato PPM para su análisis. La proyección geométrica se realizó en una computadora Core 2 Duo T7300 con 2GB DDR2.



Figura 2.3. Proyección geométrica. (a) Representación de la imagen tomada a 0° y (b) representación de la imagen tomada a 180°.

2.3.5. Método exacto de cuantificación (obtención de valores reales)

Después de la adquisición de las imágenes se procedió a retirar la cáscara de los frutos y se extendió cuidadosamente para ser digitalizada con un escáner. Los cortes en la cáscara se hicieron en forma de husos para lograr que el material se extendiera completamente (Fig. 2.4). Las imágenes obtenidas fueron segmentadas y se analizaron para medir la severidad de la enfermedad. Los resultados de esta medición fueron considerados como los valores reales.

Este procedimiento es destructivo por lo que es inconveniente en estudios que requieren varias evaluaciones sobre el mismo fruto. La mayor utilidad de este método es que permite cuantificar el error de otras técnicas de medición.



Figura 2.4. Imagen obtenida con el método exacto de cuantificación. Se diferencia el área sana y enferma en la cáscara del fruto.

2.3.6. Medición de la severidad de antracnosis

La severidad de la enfermedad está relacionada con la cantidad de tejido enfermo con respecto al total. Teóricamente, el porcentaje de severidad está determinado por el porcentaje de área enferma (Agrios, 2006). La determinación de esta proporción puede hacerse por diferentes métodos como los descritos por Nieto *et al.* (2001); así también, existen diferentes analizadores de imágenes de uso general en las ciencias o específicamente desarrollados para cuantificar lesiones en plantas (Bock *et al.*, 2010; Corkidi *et al.*, 2006; Wijekoon *et al.*, 2008; Lamari, 2005).

En este trabajo se empleó el *software* ImageTool 3.0 (University of Texas Health Science Center at San Antonio). Con este programa se obtuvo la proporción del tejido sano y enfermo de las imágenes segmentadas, obtenidas con la proyección geométrica y el método exacto de cuantificación (cáscara extendida).

2.3.7. Comparación de métodos y cálculo de error

Una medición es precisa cuando la diferencia con respecto al valor real es pequeña, es decir, cuando los errores aleatorios son cercanos a cero. Por otra parte, una medición es exacta cuando los errores sistemáticos asociados con ella tienden a cero. Considerando los valores reales de severidad de los 25 mangos, se hizo una regresión lineal asociada con los valores obtenidos mediante la proyección geométrica. Una medida de la precisión está dada por el coeficiente de determinación R^2 , mientras que la máxima exactitud se logra cuando la pendiente

de la recta de regresión es igual a 1 (Bock *et al.*, 2008; Mora, 2009; Gujarati, 2003).

Mediante un análisis de varianza se compararon los métodos de cuantificación de severidad en frutos de mango. Cada fruto fue analizado con los dos métodos, por lo cual se consideraron 25 bloques para eliminar la variación sistemática asociada con los frutos.

2.4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se desarrolló una metodología que permite hacer la proyección de la superficie de un fruto, con base en cuatro imágenes tomadas a distancias angulares de 90°. El resultado es una representación de la cáscara del fruto conformada por 2 imágenes aplanadas por medio de cálculo integral. Las imágenes resultantes permiten medir las lesiones mediante el programa estadístico R o con un analizador como ImageTool 3.0.

Se hizo un módulo en el programa estadístico R que permite al usuario ubicar las cuatro imágenes previamente segmentadas. Las imágenes son procesadas y su representación plana se despliega en pantalla en 2 minutos para archivos con 2816 x 2112 pixeles. El tiempo de ejecución se acorta cuando se reduce la resolución de las imágenes de entrada. Después de obtener el aplanado de la superficie del fruto, es posible hacer la diferenciación y cuantificación de áreas sanas y con lesión.

Al hacer la regresión de los valores estimados con los valores reales, el coeficiente de determinación ($R^2=0.987$) indica que la técnica tiene una precisión de 98.7%, lo que sugiere un error de 1.28% con respecto a los valores reales. Por otro lado, cuando el porcentaje real de severidad se incrementa en 1%, el porcentaje de severidad medido por proyección geométrica debería de incrementarse en la misma proporción; sin embargo, la pendiente de la recta de regresión indica una tasa de cambio de 0.992, lo que sugiere que el método de proyección geométrica, en general, tiende hacer pequeñas subestimaciones del porcentaje de severidad. La pendiente de la recta de regresión puede considerarse como una medida de la exactitud en una escala de 0 a 1, en donde 1 representa la máxima exactitud (Fig. 2.5).

El análisis de varianza sugiere que el método de proyección geométrica proporciona resultados que son estadísticamente iguales a los resultados del método exacto de cuantificación [(Pr>F)= 0.3696]. Este resultado representa una ventaja para la técnica de proyección geométrica ya que se puede hacer la estimación del porcentaje de severidad sin destruir el fruto.

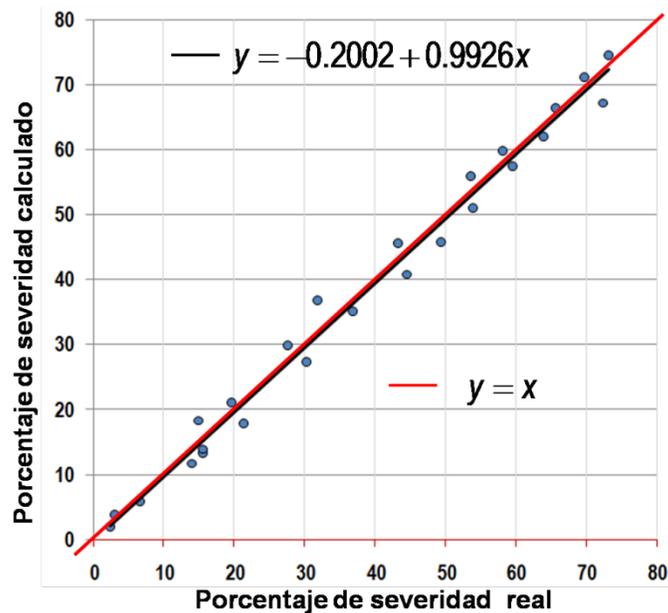


Figura 2.5. Porcentajes de severidad de antracnosis en 25 frutos. La línea roja representa la recta $y = x$. La línea negra es la recta de regresión entre los valores calculados y los valores reales.

Los residuales del modelo tienen una distribución normal $(0,2.6)$; el 65% de los errores están dentro del intervalo $(-2.6,2.6)$, y el 96% dentro del intervalo $(-5.2,5.2)$. La probabilidad de hacer una cuantificación con error mayor a 5.2 es de 0.04.

Los resultados generales indican que el método de proyección geométrica permite hacer una cuantificación precisa y exacta del porcentaje severidad de antracnosis en frutos de mango. Esta técnica tiene un amplio potencial de aplicación en fitopatología; por ejemplo, se puede comparar la agresividad de diferentes cepas

estudiando el incremento de la severidad, comparar agentes de control biológico, métodos de control y efectos de plaguicidas. En general, la cuantificación de la severidad ayuda a comprender los procesos fundamentales de la biología de los patógenos y la epidemiología de las enfermedades de frutos.

La técnica puede aplicarse para estudiar enfermedades de frutos con forma convexa, así también para otros patógenos que ocasionen lesiones que el evaluador pueda identificar por medio de la segmentación. En comparación con el método de Corkidi *et al.* (2006), la técnica desarrollada se basa en la obtención de 4 imágenes tomadas con un goniómetro de fácil construcción, lo anterior puede representar una ventaja en caso de no contar con el equipo descrito por los autores citados.

2.5. CONCLUSIONES

En esta investigación se propone un método, basado en la proyección geométrica de la superficie del fruto de mango, para calcular el porcentaje de severidad de antracnosis. Con este método se obtuvo un error de 1.28% y una exactitud mayor de 99% para estimar la superficie del fruto infectada por la enfermedad. La metodología requiere poco trabajo y tiempo computacional para procesar las imágenes; además utiliza el programa estadístico R, el cual es de distribución libre.

El análisis computarizado de imágenes de frutos de mango proporcionó mediciones confiables y con un alto grado de repetibilidad. Lo anterior coincide con lo que Bock *et al.* (2008) reportan con el uso de estas técnicas para evaluar enfermedades en follaje.

La subjetividad, que caracteriza a la evaluación de enfermedades con escalas, se puede reducir al emplear métodos basados en procesamiento y análisis de imágenes digitales. Con el método de proyección geométrica, la subjetividad se limita al proceso de segmentación de las imágenes.

CAPÍTULO 3

ESTIMACIÓN DE SEVERIDAD DE ANTRACNOSIS EN FRUTOS DE MANGO CON ANÁLISIS SIMPLE DE IMÁGENES DIGITALES

3.1. RESUMEN

Se evaluaron tres métodos y 11 series de imágenes para estimar el porcentaje de severidad de antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*) en frutos de mango (*Manguifera indica* L.). Se construyó un goniómetro para girar un fruto sobre su eje longitudinal y tomar fotos a distancias angulares exactas; para cada fruto se obtuvieron series de imágenes: la serie S2 considera dos imágenes (0° y 180°); la S3, tres imágenes (0°, 120° y 240°); la S4, cuatro imágenes (0°, 90°, 180° y 270°); y así sucesivamente hasta la S12 con doce imágenes (0°, 30°, ..., 330°). Las imágenes digitales se emplearon para estimar la severidad por tres procedimientos: Método de estimación simple (MES), Muestreo de la superficie óptima para minimizar el error de cálculo de superficie enferma (MSOP), y Muestreo de la superficie eliminando la curvatura (MEEC). Cada imagen fue segmentada manualmente para separar el área enferma de la superficie sana del fruto. Para los métodos mencionados, se obtuvo el número óptimo de imágenes que minimiza el error de estimación. Para obtener la precisión de los métodos se calculó el error con respecto al método exacto de cuantificación, obtenido de la cáscara retirada del fruto, extendida y digitalizada con un escáner. El experimento permitió identificar al mejor método (MEEC y MSOP) y a la serie de imágenes (S6) que minimiza el error (2%).

3.2. INTRODUCCIÓN

El uso de imágenes digitales para medir severidad de enfermedades en frutos requiere una proyección de áreas ajustadas con base en la curvatura del fruto (Corkidi *et al.*, 2006). Una técnica de esta índole implica un minucioso procesamiento de imágenes, dando como resultado mediciones con alto grado de exactitud y precisión. Sin embargo, dependiendo de la formalidad del estudio, se puede reducir el número de imágenes y su nivel de procesamiento con base en un criterio de optimalidad para reducir el error. En el presente capítulo se evaluaron métodos ‘simples’ de análisis de imágenes, los cuales requieren un trabajo computacional mínimo.

En este experimento se evaluaron tres métodos ‘simples’ de estimación de antracnosis en frutos de mango; estos métodos no involucran un proceso de corrección de la curvatura del fruto, y las estimaciones se hacen directamente sobre las imágenes segmentadas sin algún proceso adicional. Usando análisis de imágenes, el método más sencillo de estimación es obtener el promedio de severidad de una serie de fotos con diferentes perfiles del fruto, pasando por alto la curvatura. Otros métodos, ensayados con facilidad, están basados en el ‘muestreo’ de la superficie del fruto procurando captar las áreas menos curvadas en una serie de imágenes con diferentes perfiles del cuerpo. La intención de experimentar con estos métodos simples se debe al principio de parsimonia, el cual sostiene que el método más sencillo podría dar los mejores resultados.

Metodológicamente, este principio postula la elección de las hipótesis más sencillas entre varias hipótesis concurrentes (Flórez, 2008).

3.3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.3.1. Selección de frutos de mango con antracnosis

El experimento se realizó con 10 frutos de mango (variedad ataulfo) los cuales tenían diferentes grados de infección; es decir, se tomaron desde frutos con severidad cercana a cero hasta frutos que presentaban la mayor parte de la superficie infectada por antracnosis.

Los tres métodos simples de estimación con imágenes digitales están basados en una serie de fotos captadas en diferentes ángulos. Después de la adquisición de las imágenes, cada fruto fue procesado para medir la severidad real de la antracnosis; para lo anterior se empleó el método exacto de cuantificación, el cual consiste en retirar la cáscara del mango y extenderla cuidadosamente para ser digitalizada con un escáner.

En este capítulo se empleará el término 'estimación' debido a que los métodos ensayados no están diseñados para medir el valor real de severidad. En este caso, únicamente el método exacto de cuantificación permite hacer una medición del área enferma (porcentaje de severidad).

3.3.2. Captura de imágenes y segmentación

Para cada fruto se obtuvieron series de imágenes. La serie S2 indica que se tomaron dos imágenes (0° y 180°); la S3, tres imágenes (0°, 120° y 240°); la S4, cuatro imágenes (0°, 90°, 180° y 270°); y así sucesivamente hasta la S12 con doce imágenes (0°, 30°, ..., 330°). Se experimentó con diferentes series para identificar aquella que minimiza el error de estimación en los diferentes métodos. Las imágenes fueron capturadas con un goniómetro (descrito en el Capítulo 2).

Todas las imágenes fueron segmentadas con el *software* GIMP 2.6, tal como fue expuesto en el Capítulo 2, y se diferenciaron las zonas con tres colores: blanco (fondo), negro (área enferma) y amarillo (área sana).

3.3.4. Estimación de la severidad de antracnosis

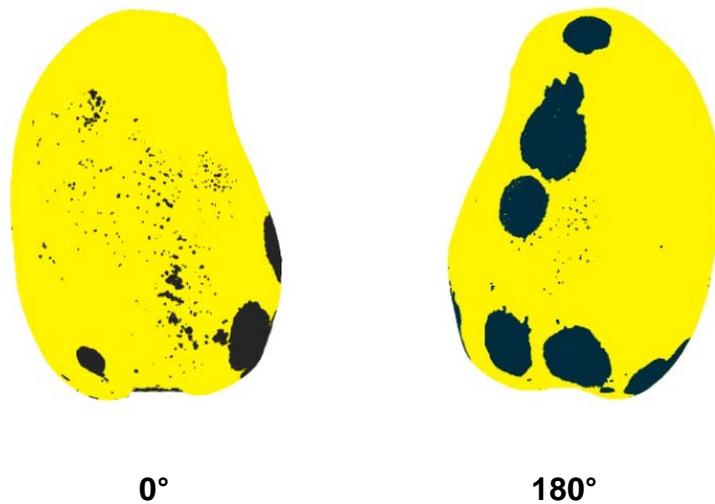
Una vez segmentadas las imágenes, se empleó el *software* ImageTool 3.0 para estimar las proporciones de tejido enfermo y sano. Con este programa también se obtuvo el valor real del porcentaje de área enferma de las imágenes obtenidas con el método exacto de cuantificación (cáscara extendida).

3.3.5. Métodos de estimación evaluados

Se ensayaron tres métodos simples que, además de la segmentación, requieren un procesamiento mínimo para hacer la estimación de la severidad.

3.3.5.1. Método de estimación simple (MES)

Este método consiste en calcular el promedio de severidad de una serie de imágenes complementarias. Por ejemplo, el estimador más simple se obtiene con el promedio de severidad de las imágenes de la serie S2 (Fig. 3.1.); otro estimador es el promedio de severidad de las imágenes de la serie S3 (0°, 120° y 240°). Inclusive, se puede obtener un estimador basado en 360 imágenes, tomadas a distancias angulares de 1°. Sin embargo, tal promedio de severidad está basado en imágenes traslapadas, y existe la posibilidad de que se obtenga una precisión aceptable con un número menor de imágenes.



Porcentaje de severidad estimado: 13.43%

Figura 3.1. Estimación de porcentaje de severidad con el MES para una serie S2. La estimación se hace con base en toda la imagen.

Por su simplicidad, el método descrito puede representar una ventaja operativa si con un número reducido de imágenes se puede minimizar el error.

3.3.5.2. Muestreo de la superficie óptima para minimizar el error de cálculo de superficie enferma (MSOP)

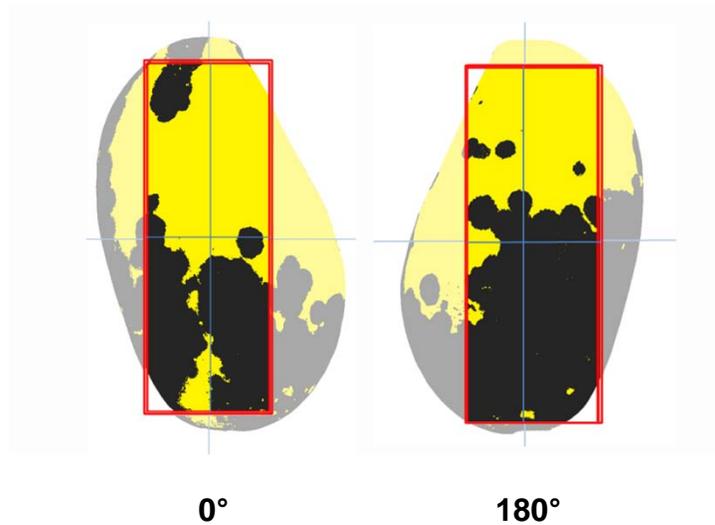
Se diseñó un algoritmo para obtener el largo y ancho óptimo de un rectángulo en la imagen del fruto, y calcular el porcentaje de severidad de antracnosis de la superficie del fruto inscrita en el rectángulo; de tal manera que se minimice el error porcentual entre este valor y el porcentaje real de severidad; esta fue la función objetivo de minimización.

Existen diversos métodos de optimización heurísticos, pero en esta investigación se utilizó el método de algoritmos genéticos que es adaptativo, de búsqueda multipuntual, y generador de soluciones que compiten y evolucionan hasta obtener una solución óptima. La solución elegida es la que tiene mayor probabilidad de dar buenos resultados en las diferentes realidades en las que puede derivar el fenómeno (Maroto *et al.*, 2002).

El proceso inició con la generación aleatoria de 20 soluciones iniciales (cadenas binarias de 15 bits por parámetro) que consisten en valores de largo y ancho de un rectángulo sobre la imagen del fruto, entonces se calculó el porcentaje de severidad en el área inscrita y en seguida se evaluó la función objetivo. La función objetivo consistió en promediar el error porcentual de cada serie de imágenes (S2 a S12). El proceso continuó por 25 generaciones o más, mediante la aplicación de los algoritmos genéticos de mutación (2% de probabilidad), cruzamiento (50% de probabilidad) y selección (10% mejores soluciones pasan a la siguiente

generación) que permitió encontrar exponencialmente las dimensiones del rectángulo que minimizan la función objetivo. El algoritmo fue escrito en Visual Basic (Microsoft Corporation).

Con ese algoritmo se obtuvo que la solución óptima es un rectángulo con dimensiones equivalentes al 90% de la altura y 50% de la anchura del fruto, aproximadamente (Fig. 3.2.). Esta solución elimina la mayoría de las zonas más deformadas por la curvatura, y se centra en la zona media de la imagen para considerar la parte más plana.



Porcentaje de severidad estimado: 38.48%

Figura 3.2. Estimación de porcentaje de severidad con el MSOP con una serie S2. La estimación se hace con base en el área inscrita en el rectángulo.

3.3.5.3. Muestreo de la superficie eliminando la curvatura (MEEC)

Este método consiste en calcular el promedio de severidad de una serie de imágenes a las cuales se les ha eliminado la parte más curvada del fruto (Fig. 3.3) con el programa GIMP 2.6. Una vez segmentada la imagen, se seleccionó el fondo por color (blanco) y se invirtió la selección para referirla al fruto, después se transformó la selección reduciéndola al 50% en el eje horizontal para eliminar la curvatura que más altera las estimaciones; finalmente se invirtió la selección y se rellenó con blanco el área seleccionada.

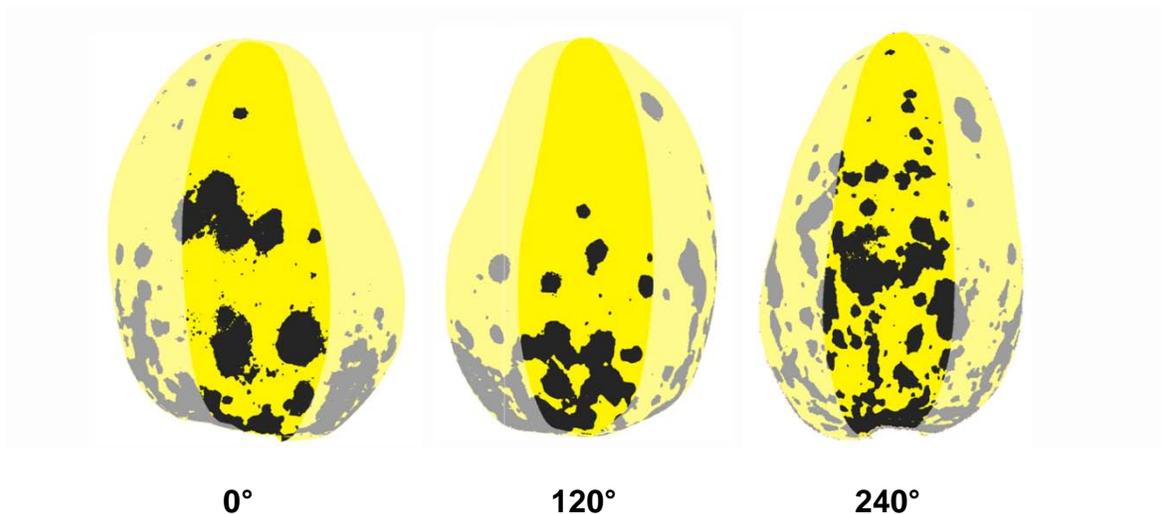


Figura 3.3. Estimación de porcentaje de severidad con el MEEC con una serie S3. La estimación se hace con base en el área central del a imagen.

En los métodos MECC y MSOP se usa el término muestreo, debido a que se toma una muestra de la superficie para hacer una estimación de la condición general de la enfermedad en todo el fruto.

3.3.6. Variables medidas

Para cada fruto se tomaron 77 imágenes considerando las 11 series (S2, S3, S4,..., S12). Se realizó la estimación del porcentaje de severidad aplicando los tres métodos a cada una de las 11 series de imágenes de cada fruto. Para cada estimación se obtuvo el error con respecto al porcentaje real de severidad. La variable analizada es el valor absoluto del error, el cual está dado en puntos porcentuales.

3.3.7. Análisis de datos

Con los datos de error se realizó un análisis de varianza para calcular las diferencias entre métodos y entre series. Posteriormente, se efectuó una prueba de comparación de medias (Tukey $\alpha=0.05$) para identificar al método y serie, así como la combinación, que minimiza el error de estimación. El análisis se hizo con el *software* estadístico R.

3.4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis estadístico sugiere que no hay una diferencia significativa entre los métodos MES, MSOP y MEEC [(Pr>F)= 0.7696]; sin embargo, los menores errores de estimación se registraron con los métodos MSOP y MEEC (Cuadro 3.1.). La evidencia estadística indica que las mejores series son S5, S6, S7 y S8 [(Pr>F) <0.0001], ya que mostraron un error medio entre 2.0 y 2.5%, que en términos generales es el menor registrado en el experimento.

Cuadro 3.1. Comparación de medias de error para la combinación Método-Serie.

Agrupación Tukey ($\alpha=0.05$)						Error medio	Combinación Método-Serie	
A						4.44	MEEC	S2
A	B					4.00	MSOP	S2
A	B	C				3.88	MSOP	S3
A	B	C	D			3.86	MEEC	S3
A	B	C	D	E		3.26	MES	S2
A	B	C	D	E		3.21	MES	S3
	B	C	D	E	F	3.16	MSOP	S4
	B	C	D	E	F	3.13	MEEC	S12
	B	C	D	E	F	3.12	MES	S12
	B	C	D	E	F	3.04	MSOP	S12
	B	C	D	E	F	3.03	MES	S4
	B	C	D	E	F	2.97	MEEC	S10
	B	C	D	E	F	2.89	MSOP	S9
	B	C	D	E	F	2.86	MEEC	S11
	B	C	D	E	F	2.82	MSOP	S11
		C	D	E	F	2.74	MES	S10
		C	D	E	F	2.72	MES	S11
		C	D	E	F	2.72	MEEC	S4
		C	D	E	F	2.71	MES	S9
			D	E	F	2.64	MES	S5
				E	F	2.61	MEEC	S9
				E	F	2.50	MSOP	S5
				E	F	2.44	MES	S8
				E	F	2.42	MSOP	S10
				E	F	2.29	MEEC	S8
				E	F	2.28	MES	S6
				E	F	2.26	MEEC	S5
				E	F	2.26	MSOP	S8
				E	F	2.25	MES	S7
				E	F	2.15	MEEC	S7
				E	F	2.11	MEEC	S6
				E	F	2.07	MSOP	S6
					F	1.97	MSOP	S7

Para los 10 mangos, el menor error de estimación se observó con los métodos MEEC y MSOP con las series S6 y S7 (1.9-2.2% de error). Lo anterior puede deberse a que, por el método, se reducen las áreas traslapadas y curvas y, por la

serie, se capturan todos los segmentos de la superficie del fruto que son aproximadamente complementarios. De manera similar, las combinaciones MES-S6 y MES-S7 tuvieron un error medio entre 2.2 y 2.3%.

El mayor error se obtiene con los métodos MEEC y MSOP con las series S2 y S3 (3.8-4.5% de error). Tal situación puede deberse a que en estas combinaciones se obtiene una estimación considerando una reducida superficie del fruto. Comparativamente, el método MES obtiene mejores estimaciones con las series S2 y S3 (3.2% de error).

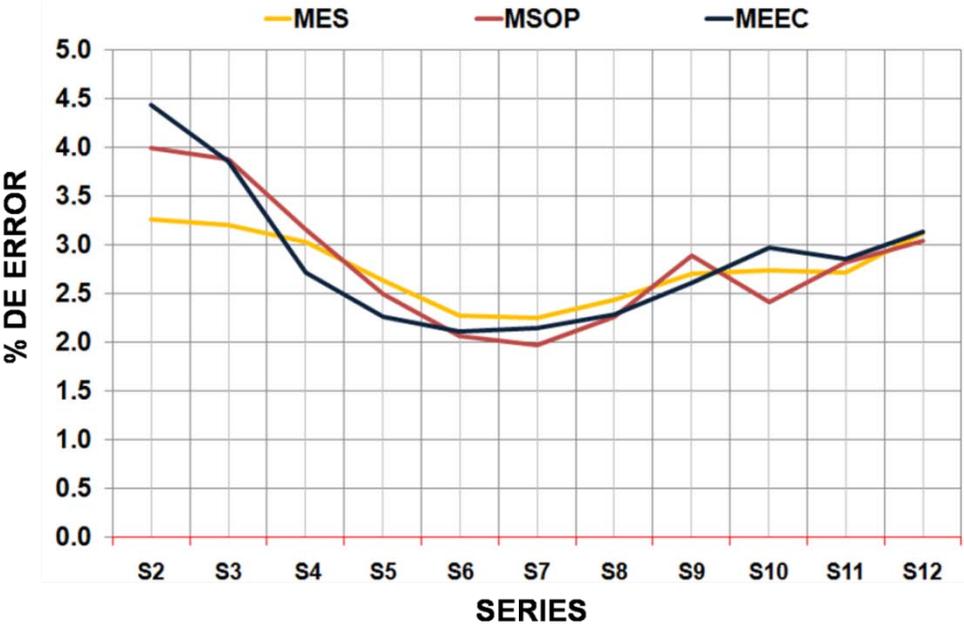


Figura 3.4. Porcentaje de error promedio para los tres métodos de estimación

La figura anterior muestra que las series S9, S10, S11 y S12 no reducen el error de estimación en los métodos ensayados. Los niveles mínimos de error se observan con las series S6 y S7.

Los métodos que tienen los errores de estimación más bajos, con el menor número de imágenes (MSOP-S6 y MEEC-S6), tienen una desviación estándar de 2.8. Para estos métodos, los resultados indican que el 65% de errores se encuentran en el intervalo $(-2.8, 2.8)$ y 90% en el intervalo $(-5.6, 5.6)$.

3.5. CONCLUSIONES

En investigaciones en las que se necesite estimar el porcentaje de severidad de antracnosis en frutos de mango, dependiendo de la exactitud deseada, se puede implementar alguno de los métodos ensayados, los cuales implican un procesamiento mínimo de las imágenes digitales.

Dentro de los métodos simples estudiados, los que mostraron errores más bajos son MSOP y MEEC con una serie S6 (error 2%); sin embargo, la combinación MES-S6 genera errores que son estadísticamente iguales (2.28%), con menor trabajo computacional.

Si se desea minimizar el número de imágenes, por ejemplo usando una S2, la mejor opción es el método MES el cual tiene un error promedio de 3.26%. En contraste, al incrementar al número de imágenes, por ejemplo con una serie S12, no disminuye significativamente error de estimación pero si incrementa el trabajo computacional.

CAPÍTULO 4

ANÁLISIS COMPARATIVO DE MÉTODOS DE EVALUACIÓN DE SEVERIDAD

El método de evaluación convencional, en el que el experto observa el fruto y asigna un porcentaje de severidad con base en su criterio, fue ensayado con el apoyo de 10 evaluadores, considerando 10 frutos de mango con diferente grado infección. Con los resultados se calculó la desviación media de las estimaciones con respecto al valor real; bajo este criterio se estudió la distribución de los errores.

Cuadro 4.1. Errores de estimación de severidad obtenidos con 10 evaluadores.

	Porcentaje real de severidad	Errores por evaluador									
		E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8	E9	E10
Mango 1	7.39	0.61	-2.39	-2.39	-1.39	-3.39	-2.39	-2.39	0.61	-1.39	-2.39
Mango 2	13.64	5.36	8.36	4.36	2.36	0.36	3.36	6.36	-0.64	3.36	2.36
Mango 3	16.45	2.55	3.55	6.55	6.55	5.55	1.55	6.55	2.55	3.55	3.55
Mango 4	23.41	0.59	-3.41	2.59	4.59	0.59	7.59	-3.41	3.59	3.59	3.59
Mango 5	31.81	0.19	0.19	3.19	0.19	5.19	-1.81	6.19	1.19	-1.81	4.19
Mango 6	39.07	-7.07	6.93	3.93	4.93	0.93	-0.07	-4.07	-0.07	2.93	-1.07
Mango 7	44.10	-7.10	-1.10	-4.10	-4.10	-2.10	-0.10	2.90	-4.10	-9.10	-0.10
Mango 8	49.50	-4.50	-2.50	5.50	-3.50	-5.50	7.50	0.50	4.50	-2.50	-9.50
Mango 9	65.23	-5.23	-2.23	-0.23	-3.23	4.77	0.77	-6.23	-5.23	-10.23	4.77
Mango 10	73.11	-3.11	-6.11	-10.11	1.89	4.89	-6.11	-1.11	2.89	-8.11	1.89

Los resultados indican que la desviación estándar es de 4.4, lo cual indica que, en el mejor de los casos, si los datos tienen distribución normal, el 65% de las estimaciones tendrán un error de hasta 4.4%; el 35% registrará un error mayor a 4.4%; además, el 4% de las estimaciones registrará un error mayor a 8.8%.

Mediante una regresión de los porcentajes de severidad estimados contra los valores reales, se observó mayor precisión (0.95) que exactitud (0.91). Lo anterior indica que los evaluadores tienen un criterio que se puede considerar consistente pero no exacto.

Por su parte, el método de proyección geométrica registró mayor precisión (0.987) y exactitud (0.992). De acuerdo con Mora (2009), un método de medición con estas características puede considerarse con una precisión “muy alta” y una exactitud “perfecta”. Adicionalmente, ya que se emplea análisis computarizado, el procedimiento tiene las cualidades de repetibilidad y reproducibilidad.

Dentro de los métodos ‘simples’ estudiados, los que mostraron errores más bajos son MSOP y MEEC con una serie S6 (error 2%). Estos métodos producen errores mayores a 5% con más frecuencia que el método de proyección geométrica. Los métodos MSOP y MEEC requieren mayor cantidad de trabajo humano, en comparación con el método de proyección geométrica; En contraste, este último requiere mayor trabajo computacional debido al procesamiento de las imágenes.

En comparación con el método de Corkidi *et al.* (2006), la proyección geométrica se basa en la obtención de 4 imágenes tomadas con un goniómetro de fácil construcción. Además se utilizan los programas GIMP, ImageTool y R los cuales son de distribución libre.

CONCLUSIONES GENERALES

Los resultados generales indican que el procesamiento y análisis de imágenes digitales es un recurso útil para medir enfermedades en frutos. Además, esta técnica proporciona mediciones exactas y precisas y tiene buenas cualidades de repetibilidad y reproducibilidad.

Los métodos simples de estimación pueden ser empleados en estudios en los que se requieran un error máximo de 2.0%. Son recomendables los métodos MSOP y MEEC, con una serie S6, por registrar los errores promedio más bajos, además de que están diseñados para considerar únicamente la superficie con menor curvatura.

El método MES, con una serie S6, tiene un error medio de 2.28%. Debido a que su concepción no tiene un fundamento teórico definido, este método puede considerarse informal.

El método de proyección geométrica permite hacer una cuantificación precisa y exacta del porcentaje severidad de antracnosis en frutos de mango. Este procedimiento conjunta una alta exactitud y un bajo requerimiento de trabajo humano y computacional.

LITERATURA CITADA

Agrios, G. N. (2006) Fitopatología. Segunda edición. Editorial Limusa. México Distrito Federal. 856 p

Akem, C. N. (2006) Mango anthracnose disease: Present status and future research priorities. *Plant Pathol. J.*, 5: 266-273.

Arauz, L. F. (2000) Mango anthracnose: economic impact and current options for integrated management. *Plant Disease* 84, 600–10.

Ávila, B. H. L. (2006) Introducción a la Metodología de la Investigación. Instituto Tecnológico de Cd. Cuauhtémoc, en México. Editorial Eumed. Cd. Cuauhtémoc, Chihuahua, México.

Benítez, C. F.A., Huerta, P. G., Holguín, M. F., y Toledo, A. J. (2003) Efecto de *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. y Sacc. en la caída de frutos de mango Cv. Ataulfo en el Soconusco, Chiapas, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 21:223-227.

Bock, C. H., Poole, G. H., Parker, P. E., and Gottwald T. R. (2010) Plant Disease Severity Estimated Visually, by Digital Photography and Image Analysis,

and by Hyperspectral Imaging. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 29: 2, 59 — 107

Bock, C. H., Parker, P. E., Cook, A. Z., and Gottwald T. R. (2008). Visual rating and the use of image analysis for assessing different symptoms of citrus canker on grapefruit leaves. *Plant Disease*. 92: 530–541.

Cáceres, I., Mulkay, T., Rodríguez, J., Paumier, A., Sisino, A., Castro, L. T., Alonso, O., Bango, G., y Gutiérrez, P. (2002). Influencia del encerado y tratamiento térmico en la calidad postcosecha del mango. Instituto de Investigaciones en Fruticultura Tropical. Ciudad de La Habana, Cuba.

Corkidi, G., Balderas, R. K. A., Taboada, B., Serrano C. L., and Galindo, E. (2006) Assessing mango anthracnose using a new three-dimensional image analysis technique to quantify lesions on fruit. *Plant Pathology*, 55(6): 250-257.

Dodd, J.C. and Estrada, A.B. and Matcham, J. and Jeffries, P and Jeger, M.J. (1991) The effect of climatic factors on *Colletotrichum gloeosporioides*, causal agent of mango anthracnose, in the Philippines. *Plant Pathology*, 40 (4). pp. 568-575. ISSN 0032-0862.

FAO, 2010. FAOSTAT Database Results. Estadísticas anuales.
<http://faostat.fao.org/site/291/default.aspx>

Gujarati, D. N. (2003) Econometría 4 ed. McGraw-Hill Interamericana. 972 p.

Gutiérrez, A. J. G., Gutiérrez, A. O., Nieto, A. D., Téliz, O. D., Zavaleta, M. E., Delgadillo S. F., y Vaquera H. H. (2003). Evaluación de resistencia a imazalil, prochloraz y azoxystrobin en aislamientos de *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. y Sacc. y control de la antracnosis del mango (*Mangifera indica* L.) en postcosecha. Revista Mexicana de Fitopatología 21:379- 383.

Gutiérrez, A. O., Nieto Á. D., Gutiérrez A. J. G., Delgadillo S. F. y Domínguez, Álvarez, J. L. (2002). Características morfológicas, culturales y patogenicidad de aislamientos de *Colletotrichum* spp. obtenidos de frutos de guayaba (*Psidium guajava* L.). Revista Mexicana de Fitopatología 20:24-30.

Horsfall, J. G. and Barrat, R.W. (1945) An improved grading system for measuring plant disease. Phytopathology 35: 655 (Abstract)

Huang, S., Huang, K. (2007) Increased U.S. Imports of Fresh Fruit and Vegetables. A Report from the Economic Research Service, United States Department of Agriculture.

Lamari, L. (2005) ASSESS: Image Analysis Software for Plant Diseases. St Paul, MN, USA: APS Press.

Lehmann, C. H. (1990) Geometría Analítica. Noriega Editores. 536 p.

Leithold, L., (1999) El Cálculo 7 ed. Oxford University Press. 1360 p.

Mahovic, M. J., Sargent, S. A., Bartz, J. A., y Lon, K. E. E. (2007). Identificación y control postcosecha de las enfermedades del tomate en Florida. Horticultural Sciences Department, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida.

Maroto, A. C., Alcáraz, S. J., y Ruíz, G. R., 2002. Investigación operativa: modelos y técnicas de optimización. Ed. Univ. Politéc. Valencia, 2002. 424 páginas

Mora, A. G., (2009). Programa Validar-PER v 2.0. Material del curso de Epidemiología Agrícola. Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo.

Morales, M. A. R., (1982). Considerations on fungicides applied on fruit trees post-harvest. Revista Frutícola (Chile). (Oct-Dic 1982). v. 3(3) p. 92-93.

Naqvi, S. A. M. H. (2004) Diseases and disorders of mango pp.522. *In:* Naqvi, S. A. M. H. 2004. Diseases of fruits and vegetables. Kluwer Academic Publishers, The Netherlands.

Nieto, A. D., Acosta, R. M., Valencia, A. M., y Mena, N. G. (2001) Estudios de Efectividad Biológica con Fungicidas. pp. 106-129. *In:* Bautista-Martínez, N., y Díaz-Gómez, O. (eds.). Bases Para Realizar Estudios de Efectividad Biológica de Plaguicidas. Colegio de Postgraduados, Montecillo, México. 150 p.

Nita, M., Ellis, M. A., and Madden, L. V. (2003). Reliability and accuracy of visual estimation of Phomopsis leaf blight of strawberry. *Phytopathology* 93, 8; ProQuest Biology Journals

Nutter, Jr., F.W., Esker, P. D., and Coelho, N. R. A. (2006) Disease assessment concepts and the advancements made in improving the accuracy and precision of plant disease data. *Euro. J. Plant Path.* 115:95–103.

Nutter, F. W., Jr., Teng, P. S., and Shokes, F.M. (1991). Disease assessment terms and concepts. *Plant Dis.* 75: 1187–1188.

Organización Panamericana de la Salud OPS, (2009). Boletín: Las pérdidas postcosecha agravan el hambre. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.

Prusky, D. (1996). Pathogen Quiescence in Postharvest Diseases. Annu. Rev. Phytopathol. 1996. 34:413–34

Rojas, M. R. I., Zavaleta, M. E., Nieto, A. D., y Acosta, R. M. (2008) Virulence and Genetic Variation of isolates of *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. y Sacc. on Mango (*Manguifera indica* L.) cv. Haden. Revista Mexicana de Fitopatología. Vol. 26, número 001, pp. 21-26.

SAGARPA-SIAP, (2009). Producción Sistema Producto Mango
<http://www.mango.gob.mx/index.php?portal=mango>, 6 de agosto de 2009

Smith, J.B. and Black, L.L. (1990). Morphological, cultural and pathogenic variation among *Colletotrichum* species isolated from strawberry. Plant Disease 74:69-76.

Snyder, J. P. (1993) Flattering the earth: two thousand years of map projections. University Chicago Press.

Soto, A. S. (2003). Evaluación de la aplicación en postcosecha del fungicida “Pyrimethanil” vía termonebulización en el control de *Botrytis cinerea* en manzana. Universidad de Talca, Facultad de Ciencias Agrarias, Escuela de Agronomía. Talca, Chile.

Usall, J., Teixidó, N., Abadías, M., Torres, R., y Viñas I. (2002). Perspectivas del empleo de control biológico en postcosecha de fruta. Revista Vida Rural, Julio (2002), p 40-43.

Wijekoon, C.P., Goodwin, P.H., and Hsiang T. (2008) Quantifying fungal infection of plant leaves by digital image analysis using Scion Image software. Journal of Microbiological Methods, 74 (2-3), pp. 94-101.

Zamora, M. M. T., Cajuste, B. J., Colinas, L. M. T., y Santacruz U. H. (1999). Efecto de los daños mecánicos sobre el comportamiento postcosecha de fruto de aguacate. Revista Chapingo Serie Horticultura 5: 319-328.