

Universidad Pública de Navarra

Nafarroako Unibertsitate Publikoa

**ESCUELA TECNICA SUPERIOR
DE INGENIEROS AGRONOMOS**

***NEKAZARITZAKO INGENIARIEN
GOI MAILAKO ESKOLA TEKNIKOA***

***IDENTIFICACIÓN DE LOS SÍNTOMAS CAUSADOS POR YESCA EN
HOJAS DE VID MEDIANTE LA APLICACIÓN DE IMÁGENES
HIPERESPECTRALES***

presentado por

ANA BELÉN GARCÍA ASO*k*

aurkeztua

**MASTER UNIVERSITARIO EN INGENIERÍA AGRONÓMICA
*UNIBERTSITATE MASTERRA NEKAZARITZA INGENIARITZAN***

FEBRERO, 2019/ 2019, *OTSAILA*

RESUMEN

Las imágenes hiperespectrales (HSI) para la detección de enfermedades concretas es una de las técnicas más utilizadas en la actualidad. El poder detectar e identificar de manera fiable dichas enfermedades en las plantas supone un reto para los agricultores. Frecuentemente estos síntomas visibles se manifiestan en etapas tardías de la enfermedad, como ocurre con la yesca, reduciendo la probabilidad de evitar los daños que causan a la vid.

Por este motivo, la tecnología de imágenes hiperespectrales se plantea como una herramienta para obtener datos que, una vez tratados y analizados mediante técnicas quimiométricas, permitan diferenciar entre hojas sanas, afectadas sin síntomas visibles y con síntomas. Estos resultados posibilitarían el uso de esta técnica en viñedos con el fin de mejorar el manejo del cultivo y su rentabilidad. En este estudio se ha conseguido diferenciar los tres grupos de hojas con unos resultados de clasificación elevados, siendo los mejores para el grupo de hojas sanas (80-100%) y el de afectadas sin síntomas visibles (80-90%) aplicando un análisis discriminante PLS-DA.

PALABRAS CLAVE

Imágenes hiperespectrales, *Vitis vinífera L.*, Yesca, análisis PLS-DA.

ABSTRACT

Hyperspectral imaging (HSI) for specific diseases detection is one of the most widely used techniques nowadays. Being able to reliably detect and identify such diseases in plants is a challenge for farmers. These visible symptoms often manifest in late stages of the disease, such as yesca, reducing the likelihood of avoiding the damage they cause to vineyards.

For this reason, hyperspectral imaging technology is proposed as a tool to obtain data that, once treated and analyzed by chemometric techniques, can differentiate between healthy leaves, affected leaves without visible symptoms and with visible symptoms. In order to improve crop management and profitability these results would allow the use of this technique in vineyards. The results obtained enable a discrimination of the three types of leaves with an accuracy of 80-100% for healthy leaves and 80-90% for affected leaves without visible symptoms by applying a PLS-DA discriminant analysis.

KEY WORDS

Hyperspectral imaging, *Vitis vinífera L.*, Yesca, PLS-DA Analysis.

ÍNDICE GENERAL

1. Introducción	7
1.1 Objetivo	8
2. Revisión bibliográfica	9
2.1 La vid	9
2.1.1 Origen.....	9
2.1.2 Importancia económica	11
2.2 Yesca.....	15
2.2.1 Ciclo biológico e influencia de factores externos	16
2.2.2 Síntomas y daños.....	17
2.2.3 Medios de control.....	17
2.3 Infrarrojo cercano (NIR).....	19
2.4 Imágenes hiperespectrales	19
2.4.1 Base teórica	19
2.4.2 Ventajas y desventajas	20
2.4.3 Métodos de adquisición de imágenes hiperespectrales	21
2.4.4 Componentes para la adquisición de imágenes hiperespectrales	22
2.4.5 Procesado de imágenes.....	23
2.5 Quimiometría	26
2.5.1 Análisis cuantitativos	26
2.5.2 Análisis cualitativos	27
2.6 Aplicación de las imágenes hiperespectrales en la agroalimentación	28
3. Material y métodos.....	30
3.1 Diseño experimental	30
3.2 Localización del ensayo	31
3.3 Material vegetal	32

3.4	Identificación de las muestras	32
3.5	Sistema de adquisición de imágenes hiperespectrales	34
3.5.1	Referencias para calibrar las imágenes	35
3.6	Procesado de las imágenes.....	35
3.7	Tratamiento de los datos: Análisis multivariante	38
4.	Resultados y discusión	42
4.1	Modelos de calibración para la identificación de la yesca.....	42
4.2	Validación de los modelos de clasificación de la yesca	49
5.	Conclusiones	54
6.	Bibliografía.....	55

ÍNDICE TABLAS

<i>Tabla 1: Identificación muestras ensayo</i>	<i>33</i>
<i>Tabla 2: Resumen y resultados de los análisis PLS-DA</i>	<i>42</i>
<i>Tabla 3: Matriz de confusión para Co-Y1-Y2 con Smoothing+SNV</i>	<i>46</i>
<i>Tabla 4: Sensibilidad y especificidad Co-Y1-Y2 con Smoothing+SNV</i>	<i>46</i>
<i>Tabla 5: Matriz de confusión para Co-Y1 con Smoothing+SNV</i>	<i>47</i>
<i>Tabla 6: Sensibilidad y especificidad Co-Y1 con Smoothing+SNV</i>	<i>47</i>
<i>Tabla 7: Matriz de confusión para Y1-Y2 con Smoothing.</i>	<i>48</i>
<i>Tabla 8: Sensibilidad y especificidad para Y1-Y2 con Smoothing.....</i>	<i>48</i>
<i>Tabla 9: Matriz de confusión para Co-Y2 con Smoothing+SNV</i>	<i>49</i>
<i>Tabla 10: Sensibilidad y especificidad para Co-Y2 con Smoothing+SNV</i>	<i>49</i>

ÍNDICE FIGURAS

<i>Figura 1: El pámpano o sarmiento (Fuente: Benito, 2015)</i>	11
<i>Figura 2: Superficie mundial vid cultivada (ha)(Fuente:Adaptado de FAO, 2018)</i>	12
<i>Figura 3:Países con mayor superficie de vid cultivada en 2016(Fuente: Adaptado de FAO, 2018)</i>	12
<i>Figura 4: Producción mundial uva (t) (Fuente: Adaptado de FAO, 2018)</i>	13
<i>Figura 5: Países más productivos en 2016(Fuente: Adaptado de FAO, 2018)</i>	13
<i>Figura 6: Evolución exportaciones internacionales (mil.hl.) (Fuente: Adaptado de FAO, 2018)</i>	14
<i>Figura 7: Representación hipercubo (Fuente: Dorrepaal et al., 2016)</i>	20
<i>Figura 8: Métodos de adquisición del hipercubo que contiene información espacial (x e y) y espectral (λ). (Fuente: Sun, 2010)</i>	22
<i>Figura 9: Diagrama de flujo del análisis de imágenes hiperespectrales (Fuente: Modificado de ElMasry et al., 2010)</i>	23
<i>Figura 10: Esquema diseño experimental</i>	30
<i>Figura 11: Localización parcela ensayo. (Fuente: SITNA, 2019)</i>	31
<i>Figura 12: Selección píxeles y sus respectivas longitudes de onda</i>	37
<i>Figura 13: Longitudes de onda con ruido espectral y su eliminación</i>	37
<i>Figura 14: Representación Variables Latentes (LV)</i>	39
<i>Figura 15: Espectros de reflectancia matriz X sin pretratamientos</i>	44
<i>Figura 16: Espectros de reflectancia matriz X: a) Smoothing b) SNV c)Smoothing+SNV</i>	45
<i>Figura 17: Porcentaje de pixeles clasificados dentro de cada muestra, caso Co-Y1-Y2</i>	50
<i>Figura 18: Comparativa entre visualización (rojo: sano, verde: enfermo) y hoja real</i>	51
<i>Figura 19: Porcentaje de pixeles clasificados como sanos dentro de cada muestra, caso Co-Y1</i>	52
<i>Figura 20: Comparativa entre visualización (naranja: enfermo no visible, gris: sano) y hoja real</i>	53

1. Introducción

El sector vitivinícola tiene una gran importancia mundial debido a su valor económico, cultural, medioambiental y social. La importancia económica del sector está ligada principalmente a la producción del vino, aunque también se destina a uva de mesa y uvas pasas. España es el país que encabeza la mayor cantidad de superficie cultivada de viña, es el quinto país más productivo y se prevé que en el presente año sea el tercer productor de vino a nivel mundial por detrás de Italia y Francia (FAO, 2018). En Navarra conviven dos Denominaciones de Origen: D.O. Navarra y D.O. Rioja, por ello la Comunidad contribuye con más del 2% producción a nivel nacional, lo que la sitúa entre las diez comunidades autónomas que más uva produce (MAPAMA 2016). A pesar de que en términos generales se ha producido una pérdida de la superficie cultivada, en los últimos años las producciones han aumentado, como consecuencia entre otras de la especialización de las labores y técnicas de producción, la incorporación de nuevas variedades, etc.

Actualmente, las enfermedades fúngicas de la madera de la vid, como es el caso de la yesca, son muy graves y han sido señaladas en muchos foros como una de las principales preocupaciones actuales del sector vitivinícola, si no la mayor (Armengol, 2017) debido a los impactos económicos que los daños producen en el sector. Estos varían desde la desecación de las hojas lo que da lugar a la reducción de cosecha, hasta la muerte de la planta. Por tanto, la yesca es una enfermedad compleja en la que es insuficiente el diagnóstico visual, dado que los síntomas externos son visibles cuando la infección ya se ha producido en años anteriores, y además existen gran diversidad de hongos patógenos asociados a la misma. A lo que hay que añadir que para su control no existen métodos curativos, es decir, los tratamientos deben tener carácter preventivo. Lo óptimo es la identificación de la presencia de síntomas previusuales del hongo antes de que estos se manifiesten con el fin de realizar a tiempo las actuaciones pertinentes.

La utilización de imágenes hiperespectrales (HSI) para la detección de enfermedades concretas es una de las técnicas preferibles en la actualidad. La detección fiable e identificación de enfermedades en las plantas son actualmente un desafío para los agricultores, siendo en muchos casos ellos mismos los encargados de la detección visual de los síntomas. Frecuentemente estos síntomas visibles se manifiestan en las etapas tardías de la enfermedad, como ocurre con la yesca, haciendo poco probable evitar los daños que causan al cultivo.

INTRODUCCIÓN

Por este motivo, la tecnología HSI se plantea como una ayuda para obtener datos que, una vez analizados mediante técnicas quimiométricas y pretratamientos aplicados a los datos, permiten obtener resultados que posibilitan el uso de esta herramienta en viñedos con el fin de mejorar el manejo del cultivo y su rentabilidad.

1.1 Objetivo

El presente estudio tiene como objetivo la utilización de imágenes hiperespectrales en el infrarrojo cercano (HSI-NIR) con el fin de identificar la presencia de síntomas previsuales de la enfermedad de la yesca en hojas de vid de la variedad Tempranillo antes de que se manifiesten los síntomas.

2. Revisión bibliográfica

2.1 La vid

2.1.1 Origen

La vid (*Vitis vinifera* L.) pertenece a la familia Vitaceae, la cual comprende alrededor de 60 especies de *Vitis* distribuidas en Asia, América del Norte y Europa. Esta es la única especie de *Vitis* que adquirió un interés económico significativo con el tiempo (Terral *et al.*, 2010).

El cultivo y la domesticación de la vid parece haber ocurrido entre el séptimo y el cuarto milenio a. C, en una zona geográfica entre el Mar Negro e Irán. Desde esta área, las formas cultivadas las habrían propagado los humanos en el Cercano Oriente, Medio Oriente y Europa Central (Terral *et al.*, 2010).

La vid en estado silvestre era una liana que crecía, durante la Era Terciaria, apoyada sobre los árboles del bosque templado del Círculo Polar Ártico. Así aparece *Vitis praevinifera*, *V. salyorum* y *V. teutónica*; posteriormente en la Era Cuaternaria tenemos fósiles de *V. aussoniae* y *V. vinifera* (Yáñez, s.f.).

2.1.1.1 Características agroclimáticas

Se trata de una planta sobria, con pocas exigencias edáficas, por lo que se suele reservar a los terrenos menos productivos: pedregosos, con pendiente y pobres en nutrientes.

La temperatura óptima para el desarrollo del fruto está entre los 20-30 °C. A temperaturas comprendidas entre 6-10 °C se detiene el crecimiento, y a temperaturas entre 35-40 °C o superiores la planta sufre daños.

Los requerimientos de horas frío de la vid son muy variables. En la mayoría las necesidades son de unas 150-400 HF, en general son inferiores a 200 HF.

La vid es resistente a la sequía por poseer raíces profundas, el cultivo es adecuado en regiones con una precipitación anual de 600 a 800 mm. (De Cara, s.f).

2.1.1.2 Características morfológicas

La planta de vid cultivada está formada por dos individuos, uno constituye el sistema radical (*Vitis spp. del grupo americano*) denominado patrón o portainjerto y, otro la parte aérea (*Vitis vinifera* L.), denominada variedad.

Sistema radical (UPM, s.f.):

Funciones: Anclaje de la planta al suelo, absorción de agua y elementos minerales y acumulación de sustancias de reserva.

Se origina a partir de:

- La radícula de la semilla: Desarrolla raíz principal y pivotante. Las plantas procedentes de semillas solo se utilizan para mejora genética.
- Origen adventicio: Este tipo de sistema radical procede de la multiplicación por estaquilla. El sistema radical está formado por entre 3 y 6 raíces primarias. De las raíces principales parten las secundarias que tienden a colonizar el suelo en profundidad. A partir de estas salen las raíces terciarias y así sucesivamente hasta llegar a las últimas ramificaciones, llamadas pelos absorbentes.

El 90% del sistema radical se desarrolla por encima del primer metro de suelo, estando la gran mayoría entre los 40 y 60 cm de profundidad.

Parte aérea:

- Tronco: Sus funciones son: Almacenamiento de reservas, sujeción de los brazos y pámpanos y transporte de agua y savia.
- Brazos con funciones como: Transporte de nutrientes, sujeción de vegetación y frutos. Los brazos portan los tallos del año, llamados pámpanos cuando son herbáceos y sarmientos cuando están lignificados.
- Hojas con funciones de fotosíntesis, respiración y transpiración. Se encuentran insertadas en los nudos de los pámpanos y sarmientos. Son simples, alternas y dísticas. Compuestas por peciolo y limbo.
 - Hoja joven: Etapa desde su aparición hasta que alcanza el 80% de su tamaño definitivo. Consume más fotosintetizados de lo que produce.
 - Hoja adulta: Ha alcanzado el 80% de su tamaño y produce más fotosintetizados de lo que precisa, por lo que el excedente los reconduce a los ápices, inflorescencias, racimos, hojas viejas, etc.
 - Hojas envejecidas: Producen más fotosintetizados de lo que necesitan. Sitas en la zona basal de los sarmientos. Interesa que predominen las hojas adultas desde el envero hasta la vendimia con el fin de que la cepa tenga una fotosíntesis neta elevada y favorecer la maduración de la uva, además de mantenerse después de la vendimia ya que todo lo fotosintetizado lo acumularán en las raíces (Benito, 2015).

Otros órganos de la parte aérea son (Figura 1):

- Yemas: Insertas en el nudo, a partir de estas se producirán los nuevos brotes y racimos.
- Zarcillos: Con función de sujeción o trepadora.
- Racimos: Es la inflorescencia de la vid. De 1 a 3 racimos por pámpano.

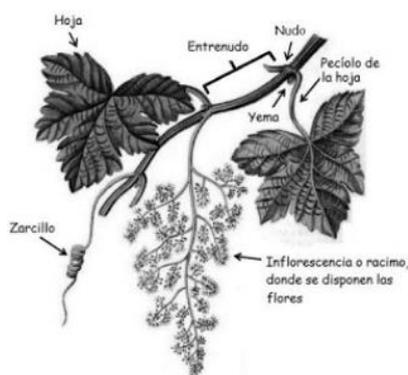


Figura 1: El pámpano o sarmiento (Fuente: Benito, 2015)

2.1.2 Importancia económica

El sector vitivinícola tiene una gran importancia debido a su valor económico, cultural, medioambiental y social, lo que ha permitido potenciar las zonas que componen las diferentes Denominaciones de Origen. Por ello, se va a analizar la relevancia económica del sector vitivinícola en cuanto a superficie y producciones a nivel mundial, nacional y autonómico.

2.1.2.1 Superficie y producción mundial

En términos generales, se ha producido una pérdida de la superficie cultivada en el mundo, dicha disminución fue más acusada desde los años 80 hasta principios del siglo XXI. No obstante, en los últimos años la superficie de viña sigue en descenso (Figura 2).

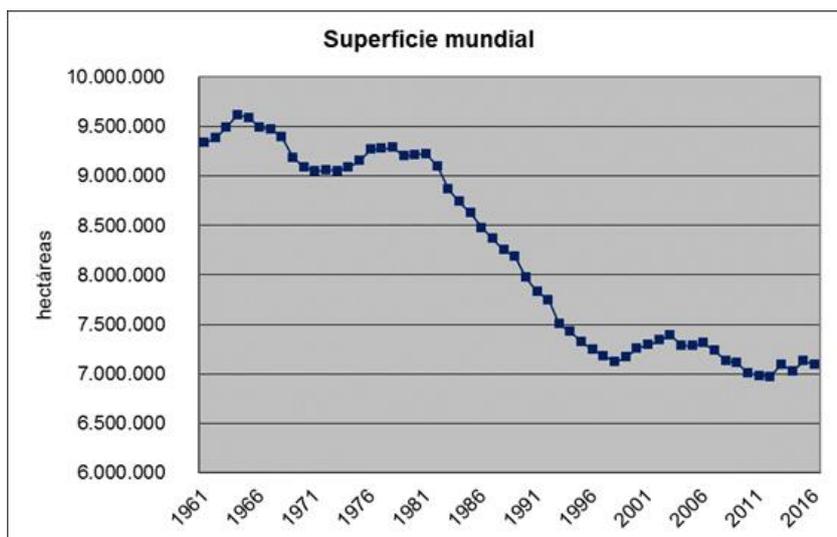


Figura 2: Superficie mundial vid cultivada (ha) (Fuente: Adaptado de FAO, 2018)

Se estima que la superficie total de vid cultivada es de 7,1 millones de hectáreas en el 2016 aproximadamente. Por continentes, Europa se encuentra a la cabeza en el cultivo de vid. Los principales países vitícolas en orden decreciente son España con un 19% del total, China, Francia, Italia y Turquía (Figura 3).

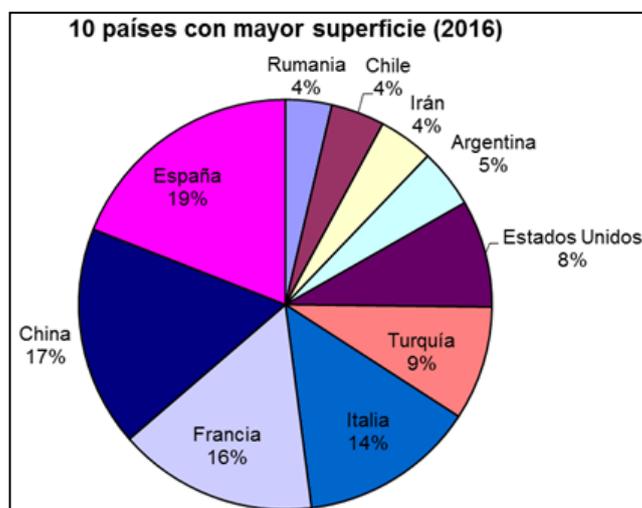


Figura 3: Países con mayor superficie de vid cultivada en 2016 (Fuente: Adaptado de FAO, 2018)

La producción de uva ha variado en gran medida a lo largo de los años, como consecuencia entre otras de la influencia de la climatología, especialización de las labores, nuevas variedades, etc, alcanzando en 2016 aproximadamente las 77,5 millones de toneladas (Figura 4).

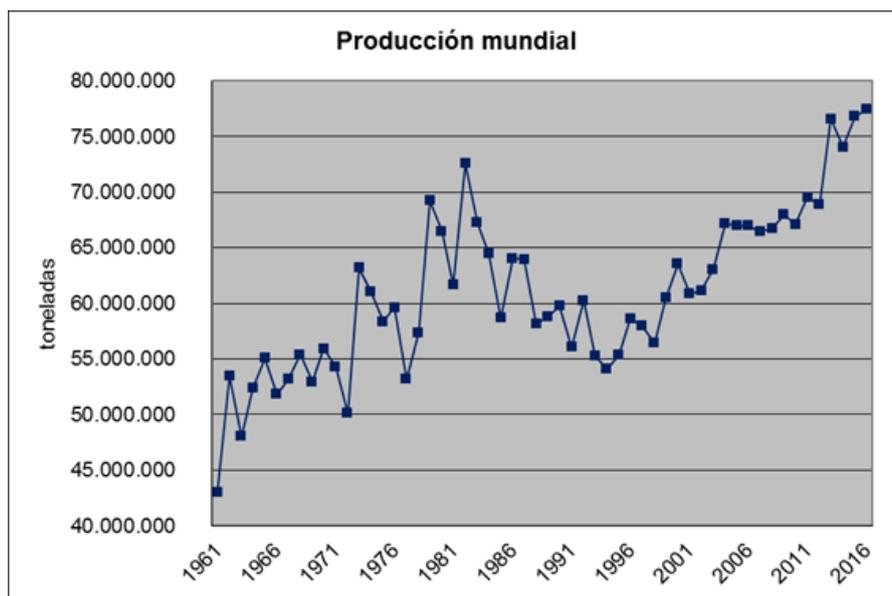


Figura 4: Producción mundial uva (t) (Fuente: Adaptado de FAO, 2018)

En 2016 los principales países productores son China (14,7 millones de t), Italia, Estados Unidos, Francia y España (11% del total) (Figura 5).

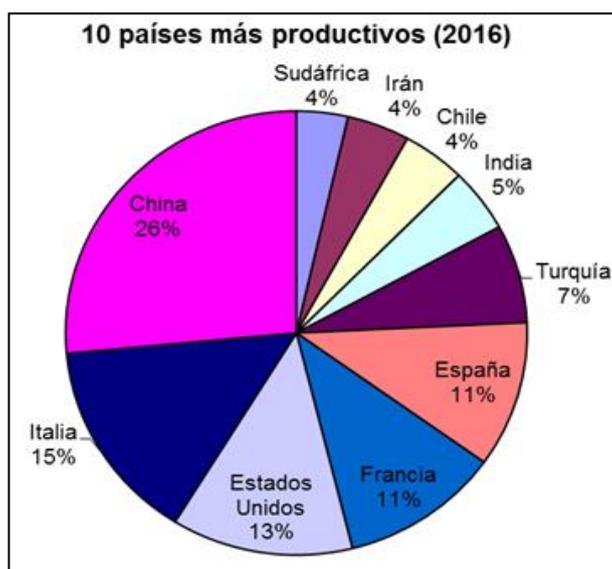


Figura 5: Países más productivos en 2016 (Fuente: Adaptado de FAO, 2018)

Por otro lado, la importancia económica del sector está ligada principalmente a la producción del vino, aunque también se destina a uva de mesa y uvas pasas. Respecto a la producción de vino en los principales países productores se prevé que Italia junto con Francia y España en el 2018 sean los principales productores de vino (OIV, 2018).

Durante los años analizados el mercado internacional, el cual engloba la suma de las exportaciones de todos los países, ha evolucionado con tendencia creciente, a excepción del año 2009, el cual corresponde con el inicio de la crisis económica (Figura 8). En 2017, alcanza un volumen de 107,9 millones de hectolitros de vino y esto supone un valor de 30.400 millones de euros (3,4% y 4,8 % más con respecto al 2016, respectivamente).



Figura 6: Evolución exportaciones internacionales (mil.hl.) (Fuente: Adaptado de FAO, 2018)

2.1.2.2 Superficie y producción nacional

Como se ha comentado, España es el país que encabeza la mayor cantidad de superficie cultivada de viña, con 920 mil hectáreas en 2016. Al igual que a nivel mundial, la tendencia de superficie cultivada ha ido a la baja, con pequeños repuntes insignificantes, como en los años 70 y 80 y a principios de siglo.

La producción en España se asemeja a la mundial, oscila bruscamente. En el 2016 se produjeron 5,9 millones de toneladas en España. Por ello, a pesar de que cada vez se destina menos superficie al cultivo de vid en los últimos años las producciones se mantienen o incluso se producen record históricos como en el 2013.

Además, la producción vitivinícola de 2018 se prevé que sea una de las más altas del 2000 con 40,9 millones de hl de vino. Cabe destacar la gran variación con respecto al 2017 (26%) puesto que se produjeron 32,5 millones de hl. (OIV, 2018) y se consumieron en España 10,3 millones de hl (Abad *et al.*, 2018).

Dado que las cifras de consumo son menores que las de producción total se da una situación de excedentes que originan problemas de mercado. Para ello, la Unión Europea ha desarrollado políticas encaminadas a la eliminación de estos excedentes,

como ayudas para arrancar viñedos o para la reconversión a plantaciones de viñedos más demandados por los consumidores. Estos excedentes, unidos a que los países de producción son más reducidos que los de consumo, es imprescindible el comercio internacional. Las exportaciones en España se redujeron un 6% en 2017 con respecto a 2016. En 2017 España exportó 22,9 millones de hl. Y una cuota de mercado del 22%, con lo que España es el mayor exportador en cuanto a volumen, lo que supone 2.814 millones de € (OIV, 2017).

2.1.2.3 Superficie y producción en Navarra

El cultivo de la viña en Navarra tiene una gran importancia tanto por la superficie que ocupa como por su relevancia social y económica. En Navarra conviven dos Denominaciones de Origen: D.O. Navarra y D.O. Rioja. Hasta el 2007 la superficie cultivada estaba en aumento, sin embargo, a partir de dicho año comenzó a disminuir bruscamente y en los últimos años se mantiene constante. Desglosándolo, se observa como se ha perdido superficie registrada bajo la D.O. Navarra (en 2016 había 10.835 ha) sobretodo en el caso de viñas en secano, mientras que ha aumentado la superficie de D.O. Rioja, pasando de 5.283 ha en 2001 a 6.825 ha en 2016.

A pesar de que la superficie descienda por lo que se repite la tónica mundial y nacional, la producción de vid aumenta de forma progresiva especialmente en los últimos años, llegando a las 130.714 toneladas totales. Esto supone unos rendimientos entorno a 7,5 t/ha en regadío y algo menos en secano (Gobierno de Navarra, 2018).

2.2 Yesca

La yesca es una enfermedad de la madera conocida desde muy antiguo en los países donde se cultiva la vid. Solo se manifiesta en ambientes cálidos pero en la actualidad también ha sido detectada en el norte.

La yesca en los años 80 se asociaba a dos hongos Basidiomicetos, *Stereum hirsutum* y *Phellinus igniarius* (actualmente identificado como *Fomitiporia punctata*) (Gramaje, 2017). Sin embargo, en trabajos más recientes diversos autores sostienen que se produce una sucesión de hongos en la colonización de la madera. Se conoce que es causada por los hongos Basidiomicetos *Fomitiporia mediterránea* y, con menos frecuencia *Stereum hirsutum*; y por los hongos Ascomicetos *Phaeoconiella chlamydospora* y *Phaeoacremonium spp* (Gramaje, 2017). Esta enfermedad afecta a vides adultas, plantas de más de ocho o diez años.

Actualmente, las enfermedades fúngicas de la madera de la vid son muy graves y han sido señaladas en muchos foros como una de las principales preocupaciones actuales del sector vitivinícola, si no la mayor (Armengol, 2017). Producen una serie de impactos económicos en el sector vitícola, como es el caso del coste anual de replante (1%) de

plantas muertas debido a las enfermedades de madera de la vid en el mundo supone 1.132 millones de € (Hofstetter *et al.*, 2012; Gramaje, 2017), o una crisis nacional en Francia con un 12% de los viñedos improductivos debido a las enfermedades de la madera de la vid, dando lugar a 100.000 ha con unas pérdidas estimadas en 1 billón de € (Van Ruyskensvelde, 2014; Gramaje, 2017).

En la década de los 90 se produjo un aumento de la incidencia de las enfermedades de la vid. Las causas de este incremento de los problemas fúngicos son bastante complejas, habiéndose atribuido a factores tan diversos como la intensificación del cultivo del viñedo, el cambio en las prácticas culturales, la escasa protección de las heridas de poda debido al incremento en el coste, la producción masiva de plantas en viveros, la eliminación de los tratamientos con arsenito sódico, etc. (Beltrán *at al.*, 2004).

2.2.1 Ciclo biológico e influencia de factores externos

Como se ha comentado, se conoce que es causada por los hongos Basidiomicetos *Fomitiporia mediterránea* y, con menos frecuencia *Stereum hirsutum*; y por los hongos Ascomicetos *Phaeomoniella chlamydospora* y *Phaeoacremonium spp.*

En unos casos, *Phaeomoniella chlamydospora* y *Phaeoacremonium spp.* pasan los meses desfavorables en los restos de material vegetal infectado, como los restos de poda, o bien en las raíces de la planta. Al encontrarse en el suelo, cuando se presentan las condiciones idóneas, infectan las raíces o la base del portainjerto. Las esporas germinan y se produce la infección del sistema vascular (xilema) y la podredumbre blanda de la madera, dando lugar a la forma crónica de la enfermedad con síntomas foliares o, en su lugar si se extiende por la planta, a la forma severa de la enfermedad produciendo la apoplejía y por ende la muerte de la vid. Asimismo, tanto los dos hongos anteriores como los Basidiomicetos, pueden permanecer también en la madera infectada muerta, en forma de cuerpos fructíferos (Basidiocarpos, Peritecios y Picnidios) como fuente de inóculo. Mediante el viento, lluvia y artrópodos se dispersan las basidiosporas, ascosporas y conidios, infectando la planta a través de las heridas producidas en la poda. De forma que, en el momento que germinan las esporas da lugar a la infección de la vid, volviéndose a generar el ciclo de la enfermedad (Gramaje *et al.*, 2018).

Los primeros en penetrar (*Phaeomoniella chlamydospora* y *Phaeoacremonium spp.*) son los precursores. Estos confieren a la madera un color oscuro y una consistencia dura. Posteriormente se produce la invasión de los hongos Basidiomicetos que convierten la madera en blanda y amarillenta (yesca).

Las heridas gruesas y la mayor edad del viñedo son favorables a la instalación de la enfermedad. Durante la primavera, merced a la intensa circulación del agua en las cepas, se facilita su avance con la difusión de las enzimas.

La aparición de síntomas externos es provocada por las dificultades opuestas a la circulación de la savia. Cuando las temperaturas se elevan con rapidez, los tejidos afectados no pueden compensar la intensa evapotranspiración y la parte de la vegetación afectada se marchita bruscamente (desequilibrio hídrico). Esta forma rápida se produce sobretodo en los terrenos arcillosos, profundos y frescos, en tanto que la lenta se da más bien en los silicios y calizos (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, 1998).

2.2.2 *Síntomas y daños*

Los daños se pueden dar sobre órganos verdes o, bien sobre los brazos y troncos (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, 1998):

- Sobre órganos verdes: Se puede presentar externamente bajo dos formas: lenta o crónica y rápida o apoplejía. La forma crónica es más lenta, puede provocar deterioro en el follaje y pasificación de los racimos. Las hojas muestran coloraciones en las zonas internerviales, que son amarillentas en los cultivares de uva blanca y rojizas en los de uva tinta, y que posteriormente evolucionan a necrosis. Estos síntomas pueden manifestarse de forma crónica en algunas plantas y de forma errática en otras, de manera que aquellos se desarrollan un año pero no el siguiente. También se puede dar una forma más rápida, en la que se produce la muerte repentina de la planta. Esta segunda forma se observa sobre todo en verano, durante los meses de alta demanda hídrica, y no tiene por qué estar asociada a síntomas en años anteriores (Gramaje, 2017).
- Sobre brazos y tronco: En las plantas afectadas por yesca si realizamos cortes en la madera se observan punteaduras necróticas. La madera se seca y aparecen coloraciones rosáceas y rojizas después del corte, que son resultado de sustancias fenólicas que emite la planta y que acaban agotándose, favoreciendo al colonización de los hongos basidiomicetos, capaces de degradar la lignina. Al realizar cortes longitudinales y transversales se observa una descomposición blanca/amarillenta y una necrosis esponjosa en la madera que proviene de las heridas de poda (Gramaje, 2017).

Su diagnóstico se ve dificultado porque la expresión de estos síntomas externos en una vid afectada es muy discontinua a lo largo del tiempo (Beltrán *at al.*, 2004).

2.2.3 *Medios de control*

La enfermedad de la Yesca es un problema complejo en el que es insuficiente el diagnóstico visual, dado que los síntomas externos son visibles cuando la infección se produjo en años anteriores, y además existen gran diversidad de hongos patógenos asociados a la misma.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

De este modo, es difícil encontrar una solución manejando un único producto fitosanitario que resolviera la situación. A lo que hay que añadir que para su control no existen métodos de control curativos, los tratamientos contra la enfermedad deben tener carácter preventivo, principalmente prácticas culturales y de manejo del viñedo.

- Precauciones en la poda: Las esporas de los hongos son transportadas por el viento, lluvia, artrópodos y herramientas de poda. Por tanto, es imprescindible la correcta desinfección de las herramientas de poda para minimizar la posibilidad de que se infecten cepas sanas. Por otro lado, las heridas de poda son una vía preferente de entrada de infecciones (Armengol, 2017). Existen opciones para mantener protegidas las heridas, como pintar manualmente cada corte con un mastic o pasta selladora (Royo *et al.*, 2017). En algunos viñedos se está incorporando el uso de tratamientos fitosanitarios a las heridas de poda. Esta es la vía que están tomando zonas importantes del cultivo de la viña como Nueva Zelanda, Australia o California, donde los agricultores están empezando a realizar uno o dos tratamientos después de la poda (Armengol, 2017). Además, están a punto de salir al mercado agentes de biocontrol (tricoderma) y antifúngicos naturales (extracto de ajo, cítricos...) (Royo *et al.*, 2017).
- Gestión restos de poda: En general las esporas se originan en plantas enfermas o muertas, y también en los restos de poda. La mejor forma para acabar con las esporas es mediante la quema de los restos de poda. Sin embargo, no es fácil en algunas regiones, por las restricciones a la quema por riesgos de incendios, pero hay que buscar un modo adecuado de gestión, ya que los restos no deberían situarse cerca del viñedo en momentos de máxima sensibilidad (poda y brotación) (Armengol, 2017).
- Material vegetal certificado: Es importante que desde los viveros se asegure que el material vegetal empleado en las nuevas plantaciones posea una buena calidad sanitaria. Para conseguir esto, los viveristas están utilizando diferentes estrategias, como mejorar la higiene del proceso de producción de planta injertada, el uso de fungicidas y agentes de control y tratamiento con agua caliente (Armengol, 2017).
- Técnica Timely Trunk Renewal (Renovación del tronco en el momento adecuado): Esta técnica establecida en Australia se está aplicando en todo el mundo. Se trata de un procedimiento barato, simple y efectivo que puede rejuvenecer cepas con síntomas y reducir la infección renovando las plantas enfermas, que permite la renovación de troncos en uno o dos años sin pérdida de cosecha. El TTR está basado en renovar troncos o brazos afectados por otros, empleando para ello chupones que surgen de las yemas basales como pequeños brotes. Eso sí, es necesario que estén a unos 10-20 cm por debajo de la zona afectada por las enfermedades de la madera. (Smart, 2017).

2.3 Infrarrojo cercano (NIR)

La espectroscopia de infrarrojo cercano (NIRS) se utiliza ampliamente para la clasificación automática debido a las capacidades de exploración rápida, bajos costes y ser de naturaleza no destructiva (Amigo *et al.*, 2015).

El infrarrojo cercano está formado por un conjunto de longitudes de onda del espectro electromagnético, comprendidas entre los 780 y 2500 nm.

Las longitudes de onda correspondientes al infrarrojo cercano son frecuentemente usadas en el estudio de muestras de la industria agroalimentaria. Este hecho se debe a que los materiales biológicos tienen una fuerte interacción con las ondas comprendidas en ese rango (Siesler, 2008).

Cuando la radiación (NIR) entra en contacto con la muestra puede actuar de diferentes formas según su composición. Las moléculas que entran en contacto con la radiación vibran, los enlaces moleculares de moléculas como C-H, O-H o enlaces N-H que están presentes en diferentes proporciones en las muestras agroalimentarias son tendentes a este hecho. Gracias a estas vibraciones se generan espectros de reflectancia con los cuales se pueden diferenciar las muestras según su composición (Siesler, 2008).

2.4 Imágenes hiperespectrales

Una imagen hiperespectral (HSI) es un gran conjunto de datos en el que cada pixel corresponde a un espectro, proporcionando así detalle de alta calidad de una superficie de la muestra. Las imágenes hiperespectrales se caracterizan por una información dual, espectral y espacial, que permite la adquisición de información cualitativa y cuantitativa de una muestra. Una imagen hiperespectral, conocida comúnmente como un hipercubo, comprende dos dimensiones espaciales y una dimensión espectral. Los datos de un archivo de este tipo contienen tanto información física como química. Dichos archivos deben ser analizados con un enfoque quimiométrico con el fin de reducir la dimensión de los datos, al tiempo que conserva la información espectral más útil. Los datos de las series de tiempo de las imágenes hiperespectrales comprenden múltiples hipercubos, cada uno de los cuales representa diferentes puntos en el tiempo, que requieren consideraciones adicionales en los análisis de datos. (Dorrepaal *et al.*, 2016).

2.4.1 Base teórica

Como se ha comentado, las imágenes hiperespectrales en el infrarrojo cercano (HSI-NIR) son una herramienta poderosa para el análisis no destructivo, permitiendo la supervisión en tiempo real de la información espacial conociendo previamente la información espectral del material a estudiar. (Dorrepaal *et al.*, 2016).

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Las HSI-NIR tienen dos dimensiones espaciales (I y J) formando una matriz, donde cada elemento de la matriz puede ser considerado como un pixel de una imagen. Además de las dimensiones espaciales, las imágenes hiperespectral tienen una dimensión espectral (λ). Por tanto, un archivo de imagen hiperespectral se conoce como un cubo hiperespectral, o un “hipercubo”, ya que es tridimensional (3x3x3), ver Figura XX. Los hipercubos representan más de 100 longitudes de onda pero solo se muestran tres para mayor claridad. (Dorrepaal *et al.*, 2016).

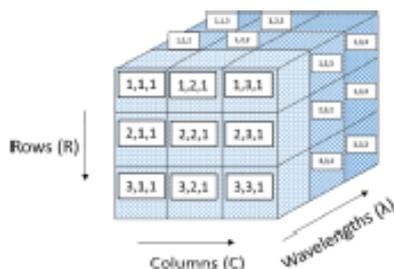


Figura 7: Representación hipercubo (Fuente: Dorrepaal *et al.*, 2016)

Cada matriz de una longitud de onda del hipercubo puede ser conceptualizada como un corte bidimensional del hipercubo. Cada uno de estos cortes bidimensionales puede ser visualizados como una imagen que muestra la absorbancia espacial relativa

2.4.2 Ventajas y desventajas

Una vez conocidas las características de las imágenes hiperespectrales, se determinan las principales ventajas e inconvenientes de esta herramienta de análisis (Sun *et al.*, 2013):

Entre las ventajas destaca:

1. Análisis no invasivo ni destructivo de las muestras.
2. Evaluación libre de químicos, sostenible medioambientalmente.
3. Mínima preparación de la muestra.
4. Ahorro de mano de obra, costes de los reactivos, coste de los tratamientos de residuos comparado con métodos tradicionales y tiempo. Es rápida y económica.
5. Aplicaciones para análisis cualitativos y cuantitativos. Capacidad de captar en un mismo punto de la imagen distintas longitudes de onda.
6. Delimitación múltiple de diferentes componentes dentro de una muestra de forma simultánea.

No obstante, también posee una serie de inconvenientes como:

1. Requiere gran velocidad del hardware para mejorar la adquisición y el análisis de datos ya que proporciona muchos datos redundantes.
2. Necesidad de calibración precisa y modelos robustos.
3. Menores límites de detección en comparación a los métodos de análisis químicos.
4. Problemas de multicolinealidad (bandas superpuestas).
5. No es aplicable a muestras líquidas u homogéneas, se pierde capacidad para relacionar la información espacial.

Como se observa el número de ventajas supera al de desventajas lo que evidencia la importancia de la obtención de las imágenes hiperespectrales.

2.4.3 Métodos de adquisición de imágenes hiperespectrales

El modelo más común de adquisición de imágenes hiperespectrales es mediante reflectancia, aunque las mediciones también se pueden llevar a cabo por medio de transmisión o fluorescencia (Gowen *et al.*, 2007; López Maestresalas, 2016).

Hay tres configuraciones convencionales de sistemas de imágenes hiperespectrales (Figura 8): escaneo del área, escaneo por puntos y escaneo por líneas. Dado que estos sistemas capturan únicamente una o dos dimensiones del subconjunto de hipercubos, requieren ser escaneadas para obtener los componentes restantes (ElMasry *et al.*, 2012; López Maestresalas, 2016).

- Escaneo del área (Area-scanning design): También conocido como escaneo de plano focal. En este, el campo de visión de la imagen se mantiene fijo, y las imágenes se obtienen a una longitud de onda tras otra. Este modelo requiere un filtro sintonizable para adquirir una imagen en diferentes longitudes de onda y los datos del hipercubo resultantes se almacenan en formato de Banda Secuencial (BSQ).
- Escaneo por puntos (Point-scanning method): Mide el espectro de un solo punto. Posteriormente la muestra se mueve para tomar otro espectro y así sucesivamente para producir una imagen hiperespectral completa. Los datos del hipercubo obtenidos se almacenan en formato de banda intercalada por pixel (BIP).

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

- Escaneo por líneas (Line scanning): La cámara posee una fila de detectores que registran una línea completa de una imagen en una única vez en lugar de un solo pixel, y el hipercubo resultante se almacena en el formato de banda intercalada por línea (BIL).

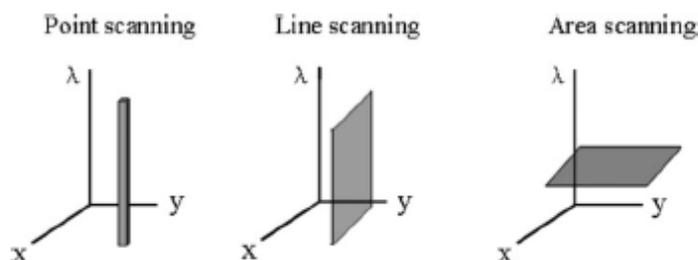


Figura 8: Métodos de adquisición del hipercubo que contiene información espacial (x e y) y espectral (λ). (Fuente: Sun, 2010)

Los métodos de escaneo por puntos y por líneas se consideran métodos de escaneo espacial ya que la muestra es escaneada en el dominio espacial moviendo el objeto punto por punto o línea por línea. Mientras que el escaneo de área es un método de escaneo espectral (ElMasry *et al.*, 2012).

2.4.4 Componentes para la adquisición de imágenes hiperespectrales

Un sistema de imágenes hiperespectrales consta principalmente de tres componentes para su adquisición: fuentes de luz, un detector y un dispositivo de selección de longitud de onda (López Maestresalas, 2016).

- Fuentes de luz: Las lámparas halógenas son el tipo de fuentes de iluminación más común utilizado en las regiones espectrales del visible (VIS) y el infrarrojo cercano (NIR). Según la región del espectro que se analice se pueden emplear LED o láser. Deben colocarse en una disposición en la que se proporcione iluminación difusa para lograr una iluminación uniforme del objeto.
- Dispositivo de selección de longitud de onda: Se encargan de dispersar la luz en diferentes longitudes de onda. Se pueden emplear distintos dispositivos como un espectrógrafo de imágenes, filtros sintonizables de cristal líquido (LCTF) o filtros ajustables acústico-ópticos (AOTF).
- Detector: Se emplean para adquirir la información que pasa por el dispositivo de selección de longitud de onda. Su función es medir la intensidad de la luz recolectada convirtiendo la energía de la radiación en señales eléctricas. Para ello, se utiliza un detector bidimensional, un dispositivo de carga monocromática (CCD) o una cámara semiconductor complementaria de óxido de metal (CMOS) para

recopilar simultáneamente la información espectral y espacial (ElMasry & Sun, 2010).

Además de estos tres componentes descritos, las muestras se deben colocar en una plataforma por lo que es necesario una plataforma portadora de muestras, así como un sistema que permita desplazar las muestras en función de si el método de adquisición de las imágenes es escaneo por puntos, líneas o área. Hay que tener en cuenta que es imprescindible aislar el sistema.

2.4.5 Procesado de imágenes

Una vez que se ha elegido la configuración, el modo de adquisición y la iluminación y se ha adquirido una imagen hiperespectral para una muestra analizada, hay una serie de pasos a seguir para extraer información de esa imagen (ElMasry *et al.*, 2010) (Figura 9).

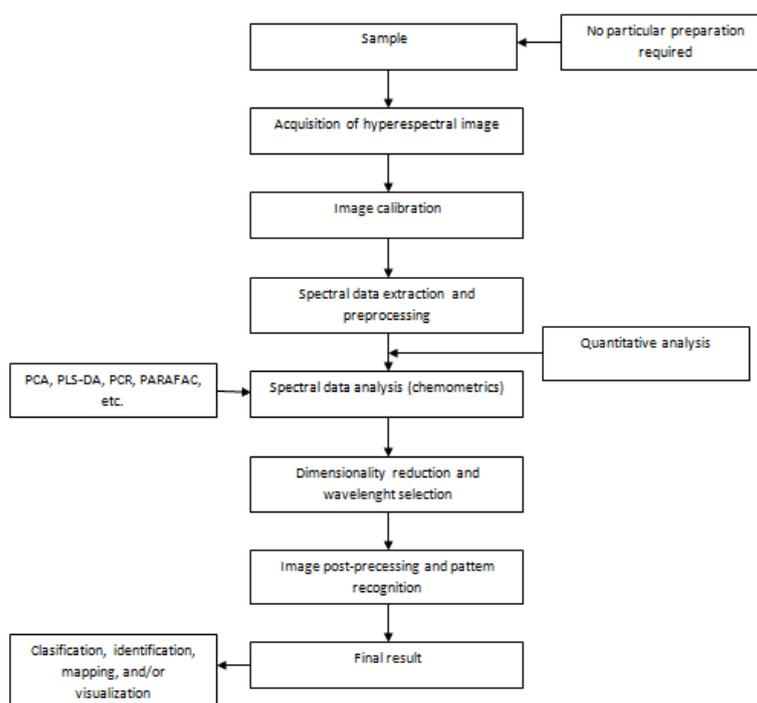


Figura 9: Diagrama de flujo del análisis de imágenes hiperespectrales (Fuente: Modificado de ElMasry *et al.*, 2010)

El procedimiento de análisis es el siguiente:

1. Construcción del hipercubo:

En este paso se reorganiza la información partiendo de las imágenes raw o imágenes puras. Las imágenes se apilan unas sobre otras para formar el hipercubo.

2. Calibración:

La imagen adquirida debe ser corregida en el dominio espacial y espectral, a través de la normalización de la imagen teniendo como referencia las imágenes hiperespectrales del blanco y el negro. Este tipo de condicionante se llama calibración radiométrica, ya que convierte los valores de intensidad digital registrados por el sensor en valores de reflectancia reales o relativos. La imagen oscura se adquiere capturando una imagen en la oscuridad, estando con la fuente de iluminación apagada y la lente de la cámara con la tapa. Mientras que, la imagen de referencia del blanco se obtiene utilizando una superficie estándar, por ejemplo teflón con ca. 99,9% de reflectancia, para obtener la intensidad máxima posible de cada pixel en cada longitud de onda (ElMasry *et al.*, 2016).

3. Pre-procesado de las imágenes y selección de las ROIs (Regiones de Interés):

Los datos espectrales se extraen de diferentes regiones de interés (ROI) en la imagen calibrada. Antes de construir el modelo, estos datos espectrales deben preprocesarse para evitar la influencia de efectos no deseados con el fin de reducir el ruido, mejorar la resolución de los datos superpuestos y minimizar las contribuciones de los instrumentos de las imágenes que no representan características de la muestra que se está analizando (ElMasry *et al.*, 2016).

El preprocesado incluye operaciones espectrales y espaciales. Las operaciones espaciales incluyen Filtros de paso bajo, Filtros de paso alto y otros filtros espaciales. Por otro lado, el preprocesado espectral lo forman métodos o pretratamientos agrupados dependiendo de su finalidad en:

- Ajuste y centrado: Mean Center (MC): Se encarga de eliminar el desplazamiento medio de cada variable. Interpreta los datos en términos de su varianza con respecto a la media y resta la media a cada variable.
- Normalización: Multiplicative Signal Correction (MSC): Se trata de una normalización ponderada y eliminación de la línea de base, a través de una regresión lineal adaptando cada espectro a un espectro objetivo. Standard Normal Variate (SNV): Esta técnica ajusta los datos restando la media y dividiéndolos por la desviación estándar del modelo, por lo que también es una normalización ponderada.
- Filtrado: Derivate (1ª derivada y 2ª derivada): Eliminan variaciones en la línea del espectro. Detrend: Al igual que en el caso anterior, se consigue una corrección de la variación. Smoothing: Produce un suavizado del ruido de los espectros.

En la generación del modelo puede haber datos, llamados outliers, que no concuerdan con el resto de información de la muestra. Estos se deben eliminar de forma manual, para garantizar que los datos son representativos de la muestra con la que se genera el modelo.

4. Análisis quimiométrico de los datos

Posteriormente, una vez que los datos espectrales han sido pre-procesados se aplica el análisis cualitativo para descomponer los diferentes componentes presentes en la muestra y como se distribuyen estos. Para ello, se emplean una serie de herramientas quimiométricas. El aspecto más importante de este proceso es el análisis de datos utilizando métodos de análisis multivariante mediante una o más herramientas de quimiometría, que incluye técnicas de correlación como la correlación del coseno y la correlación de la distancia Euclidiana; así como técnicas de clasificación como el análisis de componentes principales (PCA), análisis cluster, análisis discriminante (DA) y análisis de múltiples vías. Además, se utilizan técnicas de deconvolución espectral (ElMasry et al., 2010). Este análisis multivariante permite extraer información de los datos hiperespectrales. El desarrollo del análisis quimiométrico aparece detallado en el *Apartado 2.5 Quimiometría*.

5. Reducción de la dimensionalidad:

Además, con la ayuda del análisis multivariado, la enorme dimensionalidad y los problemas de colinealidad de los datos hiperespectrales se pueden reducir o eliminar, seleccionando los datos espectrales en las longitudes de onda más informativas.

En la mayoría de los casos, no todas las bandas espectrales son necesarias para abordar un atributo particular. La selección de la longitud de onda más informativa es un paso opcional basado en los requisitos de velocidad de todo el proceso. En general, la selección de estas longitudes de onda óptimas reduce el tamaño de los datos necesarios de medición mientras conserva la información más importante contenida en el espacio de datos.

6. Repetición del análisis quimiométrico con las mejoras aplicadas para el objetivo concreto:

Para finalizar el procesado de imágenes, en algunas ocasiones es necesario volver a aplicar un análisis quimiométricos utilizando métodos de análisis multivariante, tal y como se ha citado con anterioridad.

2.5 Quimiometría

La quimiometría es actualmente una disciplina muy conocida que ha sido utilizada durante muchos años también en las imágenes hiperespectrales. Esto ha generado que, dependiendo de la finalidad, pueden ser elegidos diferentes procedimientos (Amigo *et al.*, 2015).

El término quimiometría lo incorporó Wold hace más de 40 años. La quimiometría es una disciplina química que emplea métodos matemáticos y estadísticos que descomponen datos multivariantes complejos en estructuras interpretables de forma simple y fácil, que pueden mejorar la comprensión de la información química y biológica de las muestras analizadas (ElMasry *et al.*, 2012).

Como se ha comentado, una de las ventajas del desarrollo de sistemas de imágenes hiperespectrales, es la riqueza de los datos. Dado que el volumen de datos de una imagen hiperespectral suele ser muy grande y se producen problemas de colinealidad (bandas superpuestas), los algoritmos matemáticos, mediante la aplicación de diferentes modelos estadísticos, permiten extraer adecuadamente información significativa de manera eficiente.

Este análisis se implementa para analizar la información espectral y construir modelos de calibración y predicción, con el fin de visualizar la información química oculta en las imágenes (ElMasry *et al.*, 2012).

Este proceso se conoce como desarrollo de modelos cuantitativos o cualitativos. El método de análisis multivariante se conoce como uno de los grupos de herramientas quimiométricas más comúnmente aplicados para el análisis de datos espectrales (Wold *et al.*, 1998; López Maestresalas, 2016).

2.5.1 Análisis cuantitativos

Estos modelos de análisis relacionan la información espectral con la concentración o el porcentaje de uno o más compuestos en una muestra, o bien con un parámetro físico de un producto (López Maestresalas, 2016). Entre estas técnicas se encuentran:

- **Algoritmos lineales:** Establecen una relación matemática lineal entre los datos espectrales y el parámetro de la muestra estudiada. Las principales técnicas estadísticas son (López Maestresalas, 2016):
 - **Regresión lineal múltiple (MLR):** este algoritmo calcula un modelo de regresión teniendo en cuenta todas las variables espectrales disponibles y los valores de referencia. Si las variables están correlacionadas, como en los datos espectrales, la calibración resultante es inestable y proporciona varias

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

soluciones. Por lo tanto, este método solo es apropiado si se seleccionan longitudes de onda no correlacionadas.

- **Regresión del componente principal (PCR):** la matriz de datos espectrales se descompone mediante un análisis de componentes principales (PCA), que genera nuevas variables ortogonales no correlacionadas (PC) y se realiza un proceso de regresión por mínimos cuadrados con la matriz de datos de referencia. El principal inconveniente es que solo utiliza datos espectrales para calcular las nuevas variables
 - **Regresión de mínimos cuadrados parciales (PLS):** se definen combinaciones lineales ortogonales, variables latentes (LV), de las variables originales. La diferencia con la PCR es que las nuevas variables se calculan considerando las matrices de datos X e Y
- **Algoritmos no lineales:** A veces, la relación entre los datos espectrales y de referencia no es lineal. Esto puede deberse a efectos multiplicativos de la señal instrumental o a la naturaleza del objeto a estudiar. Esas no linealidades se pueden corregir con algunos datos de tratamiento previo, o bien se necesitan algoritmos no lineales específicos como:
- Redes neuronales artificiales (ANN)
 - Máquinas de vectores de soporte (SVM)

2.5.2 *Análisis cualitativos*

Estos modelos de análisis consisten en comparar espectros de muestras desconocidas con espectros de muestras con características conocidas. Este tipo de análisis se utiliza generalmente para clasificar muestras según variables categóricas como, por ejemplo, su variedad, origen geográfico o presencia de defectos (López Maestresalas, 2016).

- **Algoritmos no supervisados:** identifican las fuentes de agrupación de las muestras disponibles considerando solo la información. No requieren ningún conocimiento previo sobre las muestras a agrupar (López Maestresalas, 2016).
- **Clúster:** este método se puede realizar visualmente o mediante uno de los métodos jerárquicos. Estos métodos identifican muestras que están cerca entre sí utilizando distancias entre los objetos. Como resultado, se crea una representación gráfica de los diferentes grupos identificados.

- Algoritmos supervisados: También conocidos como análisis discriminante. Además de la información espectral de las muestras, hay información sobre los grupos o categorías existentes en el conjunto de muestras. Estos métodos correlacionan la información espectral con la información de la variable categórica, construyendo reglas de clasificación para el número de clases predefinidas (López Maestresalas, 2016).
- Vecino más cercano a K (KNN): uno de los métodos de clasificación más simples. Se basa en la distancia euclidiana entre muestras. Este enfoque utiliza los datos de entrenamiento en el momento de la prueba para hacer predicciones teniendo en cuenta las K muestras de entrenamiento más similares
 - Análisis discriminante lineal (LDA): este método busca una combinación lineal de características que explique mejor los datos y pueda separar dos o más clases. Se basa en el supuesto de una matriz de covarianza igual para cada grupo
 - Modelado suave independiente de analogías de clase (SIMCA): Al ser un método supervisado requiere conocimientos sobre a qué clase pertenecen las muestras en el conjunto de prueba. Se construye un modelo PCA separado para cada clase. Las muestras se proyectan en los diferentes modelos de PCA y se usa una métrica que combina la distancia del modelo (Q-residual) con la distancia desde el centro del modelo (Hotelling, T2) para calcular la asignación de la clase.
 - Análisis discriminante de mínimos cuadrados parciales (PLS-DA): es una técnica de reconocimiento de patrones donde la asignación de clase se predice a partir de los espectros de muestra por medio de la regresión PLS. Para poder utilizar la regresión PLS con fines discriminatorios, la variable de clase debe transformarse en una matriz ficticia codificada en binario con el mismo número de filas que datos y el mismo número de columnas como clases existan.

2.6 Aplicación de las imágenes hiperespectrales en la agroalimentación

En las últimas décadas, los avances en la fotogrametría y espectrometría han dado lugar a la aparición de sensores hiperespectrales, cuyas imágenes se han empleado en numerosas aplicaciones a fin de conseguir mejoras en el sector agroalimentario.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Estas nuevas tecnologías han permitido optimizar el uso de diversos insumos como fertilizantes y fitosanitarios, dado que las imágenes captadas permiten comprobar el estado de la cubierta vegetal, es decir, detectar si el cultivo se encuentra en condiciones de estrés por la falta de nutrientes, o bien por competir con un agente patógeno o malas hierbas. Por lo tanto, posibilita a los agricultores implementar métodos de monitoreo de cultivos en las explotaciones, lo que les facilita realizar una gestión y manejo de precisión. Con ello, pueden predecir los rendimientos de los cultivos y realizar las medidas oportunas para mejorar la rentabilidad de sus explotaciones agrícolas, además de ser sostenibles medioambientalmente. De esta forma ha surgido el concepto de Agricultura de Precisión, definido como el conjunto de técnicas de cultivo que utilizan tecnologías de la información para ajustar el uso de semillas y de agroquímicos considerando la diversidad del medio físico y del medio biológico (Martín *et al.*, s.f.)

Estas condiciones del medio también se identifican a través del uso de imágenes hiperespectrales debido a que se pueden llevar a cabo estudios de la humedad del suelo, así como calcular las necesidades hídricas de los cultivos mediante el cálculo de la evapotranspiración. Esto permite detectar si la vegetación sufre estrés hídrico y aplicar la cantidad de agua necesaria en el momento oportuno con el propósito de que su rendimiento no se vea afectado. Asimismo, permiten obtener mapas de suelos.

Por otro lado, el desarrollo de métodos de inspección eficientes, no destructivos, rápidos y de bajo coste es importante para la industria alimentaria, a fin de garantizar la seguridad y trazabilidad de la producción (Sun *et al.*, 2013).

Las imágenes hiperespectrales también son aplicadas en el procesamiento postcosecha de productos hortofrutícolas para estimar parámetros de calidad (firmeza, color, contenido de sólidos solubles, etc.) de las frutas y hortalizas. Por ejemplo, permiten detectar defectos de la piel, además de diferenciarlos entre defectos que tienen un color y textura similar o incluso detectar defectos que no son visibles (Li *et al.*, 2017).

En lo que concierne a la vid, las imágenes hiperespectrales tienen la capacidad de detectar automáticamente y precozmente enfermedades de las viñas como mildiu en las hojas (Picon *et al.*, s.f). Las enfermedades de la madera también representan un gran problema. Una forma de detectarlas es mediante la espectroscopia del infrarrojo, el cual es un método rápido y no destructivo. Esto, por ejemplo, puede ayudar a los viveristas a eliminar las plantas infectadas (Levasseur-García *et al.*, 2016).

3. Material y métodos

3.1 Diseño experimental

El presente estudio tiene como objetivo evaluar la utilidad de las imágenes hiperespectrales en el infrarrojo cercano (HSI-NIR) para detectar la presencia de yesca en hojas de vid antes de que se manifiesten los síntomas visibles.

Se presenta un esquema de los pasos desarrollados a lo largo del estudio (Figura 10):

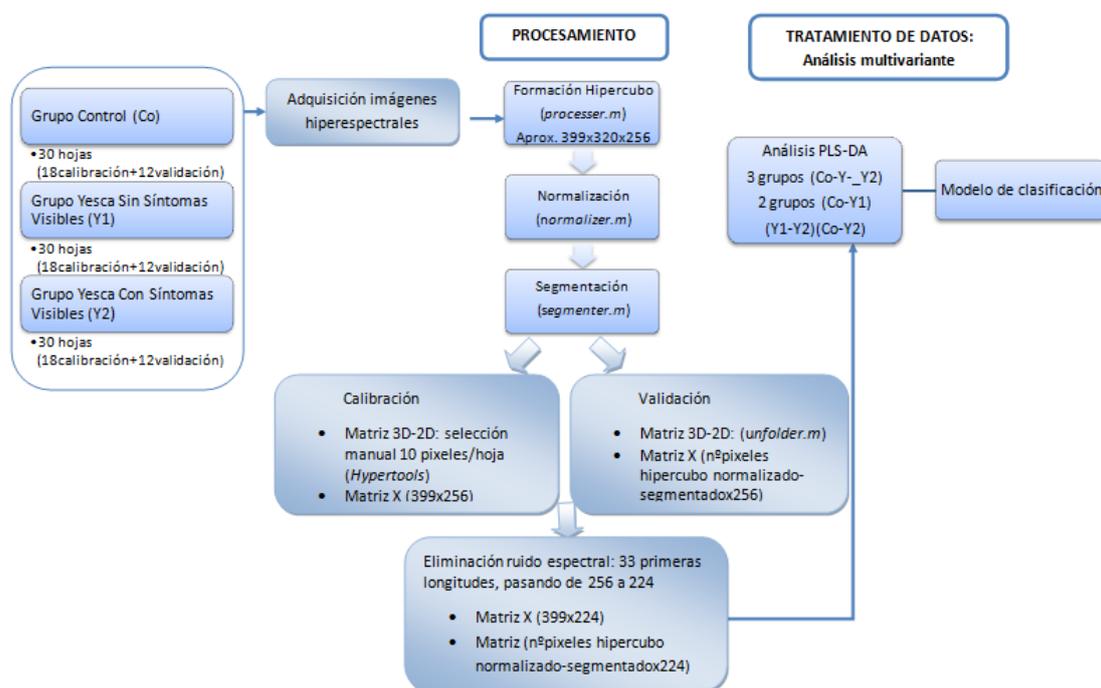


Figura 10: Esquema diseño experimental

Se utilizaron un total de 90 hojas de vid de la variedad Tempranillo, procedentes de un viñedo de Olite: 30 hojas de cepas sanas (Co), 30 hojas de cepas afectadas por yesca sin síntomas a simple vista (Y1) y 30 hojas de cepas afectadas con síntomas visibles (Y2).

Tras la recogida e identificación de las muestras, se adquirieron las imágenes hiperespectrales del haz de cada hoja en laboratorio, con un sistema hiperespectral de escaneo lineal sensible en el rango NIR de 900-1700nm. Estas imágenes fueron procesadas en MATLAB, obteniendo así información espectral y espacial de cada muestra.

La información obtenida se analizó mediante el método discriminante PLS-DA, con el fin de generar un modelo de clasificación de hojas con distintos niveles de síntomas de yesca visibles según sus diferencias espectrales.

3.2 Localización del ensayo

El presente estudio se ha llevado a cabo en una parcela localizada dentro del término municipal de Olite (Navarra), en el paraje conocido como “El Extremal”, en el polígono 7, parcela 566, reciento A (coordenadas UTM dentro del huso 30N: X: 611.212, Y: 4.699.380), y perteneciente a la Estación de Viticultura y Enología de Navarra (EVENA).

El total de la parcela cuenta con 2,3 ha, sin embargo para este ensayo se ha escogido un área experimental de cepas de la variedad Tempranillo, de aproximadamente 0,2 ha, compuesta por 4 repeticiones con 12 filas de 8 cepas en cada repetición (figura 15)

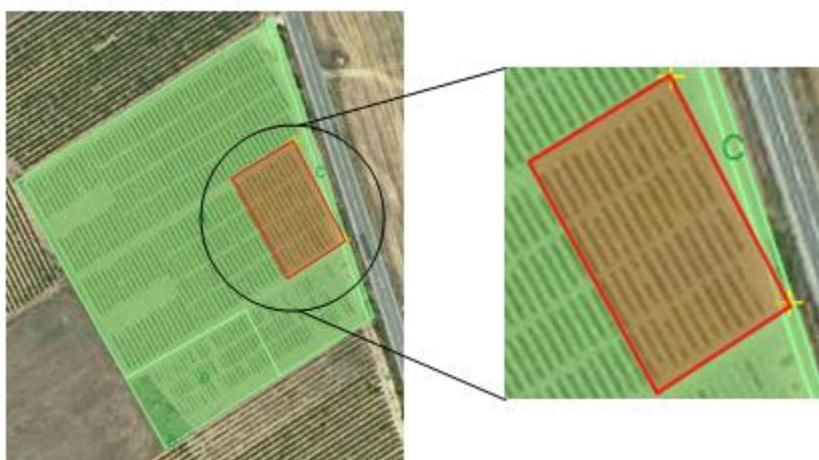


Figura 11: Localización de la parcela de ensayo. (Fuente: SITNA, 2019)

La zona de estudio mencionada presenta inviernos fríos y veranos calurosos, siendo la temperatura media anual de 13,5 °C. Enero es el mes más frío con una temperatura media de 5,3 °C y los meses más cálidos julio y agosto con una temperatura media de 22,2 °C.

En cuanto a las precipitaciones, estas son escasas a lo largo del año con una media anual es de 503,3 l/m² (98,1 días de lluvia al año). Los meses más lluviosos son mayo y noviembre con 54,3 l/m² 53,6 l/m² respectivamente, mientras que julio es el mes más seco con 24,90 l/m². Por tanto, según la Clasificación Climática de Papadakis el clima de Olite es mediterráneo templado seco (Gobierno de Navarra, 2019).

Este clima particular de Olite repercute en la calidad de la uva, y por ende en la de los vinos, haciéndolos de una calidad excepcional. Sin embargo, estas temperaturas suaves durante todo el año y la escasez de precipitaciones y humedad en verano hacen que se propicie la aparición de la yesca.

3.3 Material vegetal

En este estudio se han empleado hojas de vid, agrupadas en función del grado de síntomas de yesca visibles. De esta forma, se distinguen 3 grupos: Control (Co) (hojas de cepas sanas), Yesca1 (Y1) (hojas de cepas afectadas sin síntomas de yesca a simple vista), y Yesca2 (Y2) (hojas de cepas afectadas con síntomas visibles de yesca). Además, un registro de datos de cada una de las cepas de la parcela, realizado por EVENA desde 2014, permite tener conocimiento de las cepas afectadas y sanas.

De las 4 repeticiones ensayadas en parcela únicamente se han recogido hojas de las 3 primeras, muestreando para cada grupo 2 cepas por repetición y 5 hojas por cepa. Por tanto, se han seleccionado 30 hojas de cepas sanas (Co), 30 hojas afectadas por yesca sin síntomas visibles (Y1) y 30 hojas afectadas con síntomas visibles de yesca (Y2).

Del total de muestras recogidas (90 hojas), 2/3 de las hojas de cada repetición (18 por grupo) se han seleccionado de forma aleatoria para la calibración del modelo y el 1/3 restante (12 hojas por grupo) para la validación.

En cuanto a los análisis a realizar se han establecido cuatro casos de estudio:

- Co-Y1-Y2: comparación de los grupos Co, Y1 e Y2. Con el objetivo de analizar la capacidad de discriminación de la técnica HSI-NIR para identificar cada grupo.
- Co-Y1: comparación de los grupos Co e Y1, que nos permitirá diferenciar las hojas sanas de las hojas sin síntomas visibles.
- Y1-Y2: comparación de los grupos Y1 e Y2, que nos permitirá diferenciar las hojas sin síntomas visibles y con síntomas.
- Co-Y2: comparación de los grupos Co e Y2, con el objetivo de diferenciar las hojas sanas de las hojas con síntomas visuales.

3.4 Identificación de las muestras

Para tener un buen control y trazabilidad de los datos es imprescindible realizar la identificación de las muestras a la vez que se adquiere el material vegetal en campo. En este estudio la nomenclatura que se ha seguido para la identificación es la siguiente:

$\underbrace{\text{Co}}_1 \underbrace{01}_2 \underbrace{73}_3 \underbrace{\text{H2}}_4$

1. Síntomas: Co: Hojas sanas. Y1: Hojas sin síntomas visibles. Y2: Hojas con síntomas visibles.
2. Repetición: 01, 02, 03. En cada grupo se han realizado tres repeticiones.

MATERIAL Y MÉTODOS

3. Fila: 01 a 12. En el ensayo hay 12 filas.

Cepa: 01 a 08. En cada fila hay 8 cepas. Por tanto en la parcela hay 96 cepas en total nombradas de 01 a 96.

4. Hoja: H1 a H5. De cada cepa se han recogido 5 hojas.

En la Tabla 1 se detalla el total de muestras empleadas en el estudio.

Tabla 1: Identificación muestras ensayo

	Co		Y1		Y2	
	Calibración	Validación	Calibración	Validación	Calibración	Validación
Repetición 1	Co0173H1	Co0173H4	Y10126H1	Y10126H4	Y20126H1	Y20126H5
	Co0173H2	Co0173H5	Y10126H2	Y10126H5	Y20126H2	Y20126H6
	Co0173H3		Y10126H3		Y20126H3	
	Co0154H1	Co0154H4	Y10141H1	Y10141H4	Y20126H4	
	Co0154H2	Co0154H5	Y10141H2	Y10141H5	Y20127H1	Y20127H3
	Co0154H3		Y10141H3		Y20127H2	Y20127H4
					Y20141H1	Y20141H5
					Y20141H2	Y20141H6
				Y20141H3		
Repetición 2	Co0216H1	Co0216H4	Y10234H1	Y10234H4	Y20234H1	Y20234H4
	Co0216H2	Co0216H5	Y10234H2	Y10234H5	Y20234H2	Y20234H5
	Co0216H3		Y10234H3		Y20234H3	
	Co0259H1	Co0259H4	Y10248H1	Y10248H4	Y20248H1	Y20248H4
	Co0259H2	Co0259H5	Y10248H2	Y10248H5	Y20248H2	Y20248H5
	Co0259H3		Y10248H3		Y20248H3	
Repetición 3	Co0334H1	Co0334H4	Y10319H1	Y10319H5	Y20328H1	Y20328H4
	Co0334H2	Co0334H5	Y10319H2	Y10319H6	Y20328H2	Y20328H5
	Co0334H3		Y10319H3		Y20328H3	
	Co0352H1	Co0352H4	Y10319H4			
	Co0352H2	Co0352H5	Y10328H1	Y10328H4		
	Co0352H3		Y10328H2	Y10328H5		

3.5 Sistema de adquisición de imágenes hiperespectrales

Las imágenes hiperespectrales de las hojas se han adquirido en el Laboratorio de Ingeniería de Pos-recolección y Manipulación de Productos Agrarios de la Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos de la Universidad Pública de Navarra.

Este laboratorio cuenta con un equipo compuesto por una cámara Xeva 1.7-320-100Hz (Xenics, Leuven, Bélgica) de escaneo lineal, sensible en el rango NIR de 900-1700 nm, que incorpora un detector InGaAs de resolución 320 x 256 píxeles y conexión USB, acoplada a un espectrógrafo ImSpector N17E (Specim, Spectral Imaging Ltd., Oulu, Finlandia) con una abertura (*slit*) de 30 μm , y a una lente OPT-000034 (SWIR, 16, mm. f/1.4, Xenics, Leuven, Bélgica) con una distancia focal de 16 mm.

Por otro lado, una plataforma móvil provista de una placa portamuestras (de color negro) desplaza las muestras bajo el campo de visión de la cámara. En este caso, se ha utilizado una plataforma movida por un actuador eléctrico con un motor de pasos (Servo/24 VDC), y controlada a través de un ordenador por medio del software ACT Controller.

Para la iluminación de las muestras, se han utilizado cuatro lámparas halógenas de 46W (Lexman). Estas emiten radiación desde una parte del espectro ultravioleta, pasando por el visible, hasta el infrarrojo. Han sido colocadas de tal forma que cada fuente de iluminación enfoca una esquina de la placa portamuestras, con el objetivo de conseguir una iluminación homogénea en el campo visual de la cámara y, a su vez, evitar un exceso de iluminación que da lugar a imágenes saturadas.

A través de una tela negra se cubre todo el sistema durante el escaneo de las hojas, con el fin de evitar interferencias con la luz ambiental y conseguir resultados homogéneos.

Finalmente, un ordenador permite controlar el sistema de adquisición hiperespectral y, guardar las imágenes generadas. Esto se realiza mediante el software Xeneth 2.5, que permite establecer los parámetros de ensayo de la cámara y controlar su funcionamiento. El ordenador cuenta además con el software MATLAB® para el procesado de imágenes.

Para escanear las muestras se ha fijado una distancia de separación entre la lente y la superficie de la muestra de 40 cm, así como una velocidad de la plataforma de 7 mm/s. Además, se ha ajustado una distancia de enfoque de 0,25 m y la máxima apertura del diafragma (f/1.4) en la lente. Las imágenes se han adquirido en el modo de calibración TrueNUC-HG de la cámara, a la máxima velocidad de escaneo (100 Hz) y con un tiempo de integración de 2000 μs . De esta manera, las imágenes tenían las siguientes dimensiones: 320 columnas (0,75 mm/píxel), 256 λ (cada 3,125 nm) y un número variable de filas (en función del tamaño de la hoja, filas escaneadas).

3.5.1 Referencias para calibrar las imágenes

Una parte de la adquisición de imágenes comprende la obtención de las imágenes de referencia, denominadas comúnmente blanco y negro, para poder corregir la reflectancia relativa en las imágenes de las muestras con el máximo y el mínimo nivel de reflectancia que es capaz de detectar el sensor. A continuación se explican detalladamente los dos niveles de reflectancia:

- Negro: se denomina al mínimo nivel de reflectancia que es capaz de detectar la cámara. Para adquirir las imágenes que definen cual es este mínimo nivel de reflectancia, deben darse las condiciones de mínima radiación. Para ello, se coloca la tapa en la lente y, se apaga el sistema de iluminación.
- Blanco: se denomina al máximo nivel de reflectancia que es capaz de detectar la cámara. Para adquirir las imágenes que definen cual es este máximo nivel de reflectancia, se debe colocar un estándar de referencia blanco *Spectralon* (Standard 99%, Labsphere) en la placa portamuestras con el sistema de iluminación encendido.

3.6 Procesado de las imágenes

Antes de analizar la información contenida en las imágenes, es necesario realizar un procesamiento de las mismas para extraer la información útil de las muestras en el formato adecuado

El procesado de las imágenes hiperespectrales se ha realizado con el software MATLAB® R2018b (The MathWorks) utilizando código propio desarrollado específicamente para este fin.

- Formación del hipercubo

En primer lugar, tanto para las muestras de calibración como las de validación del modelo, se ha construido el hipercubo a partir de las imágenes obtenidas con el sistema HSI. La formación del hipercubo consiste en apilar las imágenes adquiridas por la cámara. Como resultado, se pasa de tener aproximadamente 399 imágenes (tantas como filas se han escaneado) con dimensiones 1x320x256, a tener un hipercubo cuyas dimensiones son 399x320x256. Este proceso de formación del hipercubo se realiza con el *script processer.m*.

- Normalización

Una vez que se ha construido el hipercubo, el siguiente paso consiste en normalizar dichas imágenes mediante el *script normalizer.m*. Para ello, como referencia se emplean las dos imágenes: el blanco y el negro, que se corresponden al máximo y mínimo nivel

MATERIAL Y MÉTODOS

de reflectancia que es capaz de detectar la cámara, respectivamente (detallado en el apartado 3.4.1. *Referencias para calibrar las imágenes*).

Los valores de reflectancia obtenidos en las imágenes varían entre 0 y 65.536 (2^{16}). Sin embargo, una vez que se produce este proceso pasan a tener un valor entre 0 y 1. Para la normalización se emplean las imágenes de calibración, teniendo como límite de referencia de 0 a la imagen obtenida para la reflectancia mínima (negro), y como límite de referencia de 1 la imagen obtenida en reflectancia máxima (blanco), según la siguiente ecuación:

$$R_r = \frac{R_m - R_n}{R_b - R_n};$$

donde,

R_r : Reflectancia relativa.

R_m : Reflectancia de la muestra.

R_n : Reflectancia mínima o negro.

R_b : Reflectancia máxima o blanco.

- Segmentación

Una vez formados los hipercubos y normalizados, es importante descartar aquella información que no tiene interés desde el punto de vista espacial, puesto que no todos los píxeles de la imagen proporcionan información espectral útil. Por ello, se debe segmentar la imagen, con el fin de separar la información correspondiente al fondo (plataforma) de la que corresponde a la hoja de vid. Para ello, se utiliza el *script segmenter.m*.

Como resultado del proceso se obtiene una imagen binaria o máscara, donde se asigna el valor 0 a los píxeles del fondo y el valor 1 a los de la muestra, siendo estos últimos las regiones de interés (ROIs).

El siguiente proceso consiste en extraer la información contenida en los hipercubos normalizados, pasando de una matriz 3D (hipercubo) a una matriz 2D que contiene los espectros de reflectancia de todos los píxeles de la hoja. En el caso de las imágenes de las muestras de calibración (18 hojas por grupo) se ha realizado de forma manual con la herramienta Hypertools en MATLAB, seleccionando 10 píxeles de cada una de las imágenes (180 píxeles por grupo). De esta manera para cada muestra se tiene una matriz X de dimensiones 10x256.

MATERIAL Y MÉTODOS

Tal y como se observa en el Figura XXX, en los grupos hojas sanas (Co) y hojas afectadas sin síntomas (Y1) los 10 píxeles se han seleccionado considerando dos anillos en la hoja (5 píxeles por anillo), uno en la zona exterior y otro en el centro, con el fin de conseguir una representación homogénea de los datos. En las hojas con síntomas de yesca (Y2) solamente se han seleccionado los píxeles en aquellas zonas de la hoja que presentaban daños a simple vista.

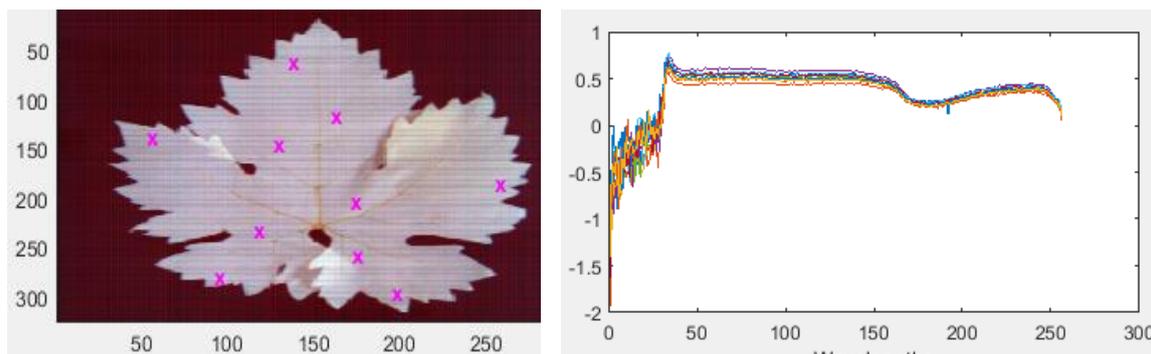


Figura 12: Selección píxeles y sus respectivas longitudes de onda

A partir de las matrices de cada muestra se han generado 3 matrices X de dimensiones 180x256, una para cada grupo (Co, Y1, Y2), que posteriormente se irán combinando en función de los casos de estudio definidos para desarrollar los modelos de calibración: Co-Y1-Y2, Co-Y1, Y1-Y2 y Co-Y2.

Al visualizar los espectros se comprueba como en las primeras longitudes de onda, concretamente entre los 900-1000 nm, aparece mucho ruido instrumental (Figura 13). Por ello, se eliminan las 33 primeras longitudes de onda en cada grupo, empleando los valores comprendidos entre los 1000-1700 nm. De esta forma se reduce a 224 los valores de reflectancia, obteniendo matrices de 180x224 datos por grupo.

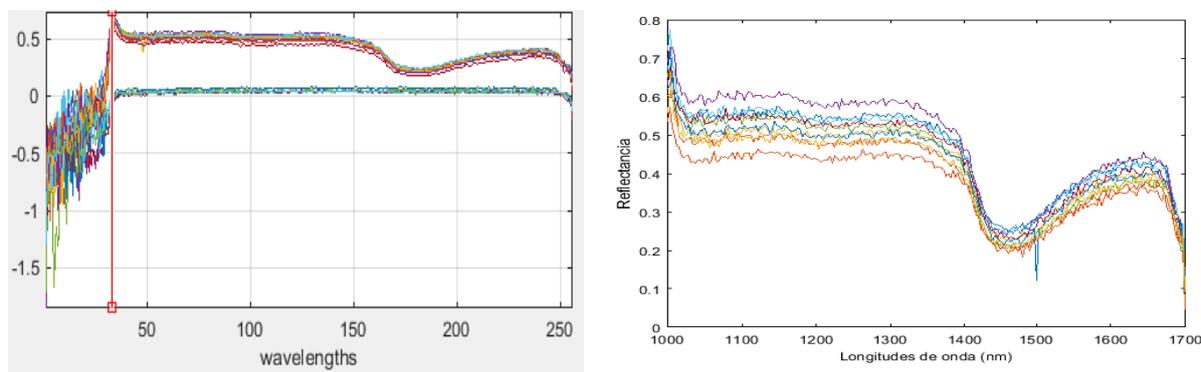


Figura 13: Longitudes de onda con ruido espectral y su eliminación

MATERIAL Y MÉTODOS

En el caso de las imágenes de las muestras de validación (12 hojas por grupo) este proceso se realiza con el *script unfold.m*, que genera una matriz 2D para cada muestra combinando la máscara con el hipercubo normalizado. De esta manera los píxeles del fondo toman valores de 0 mientras que los de la hoja mantienen el valor de reflectancia. En las muestras de validación las matrices tienen una dimensión en las filas igual al número de píxeles que componen la hoja y en las columnas las longitudes de onda medias (256). Al igual que en la calibración, se eliminan del espectro las 33 primeras longitudes de onda al presentar ruido espectral.

3.7 Tratamiento de los datos: Análisis multivariante

Posteriormente, se ha realizado el tratamiento y análisis de los datos mediante la herramienta PLS-Toolbox (Eigenvector Reserach) en MATLAB, con el fin de clasificar las hojas en los grupos considerados a través de sus espectros NIR.

Se ha empleado como método de análisis estadístico el PLS-DA (*Partial Least Square Discriminant Analysis*). Este es un método de análisis cualitativo, que combina la regresión lineal por mínimos cuadrados parciales con el análisis discriminante, mediante el cual se obtiene una separación mayor entre las clases. De esta forma, se establece una relación entre las variables predictivas X (valores de reflectancia en ñas longitudes de onda medias) y la variable dependiente Y (clases en los datos).

La principal ventaja del PLS-DA es que las fuentes relevantes de información que explican la variabilidad en los datos están formadas por las llamadas Variables Latentes (LV). Estas son combinaciones lineales de las variables originales y, como permiten la visualización gráfica y comprensión de los diferentes modelos de datos (Ballabio *et al.*, 2013).

La selección del número de variables latentes a considerar en el desarrollo del modelo se establece como aquel que minimiza tanto el error medio de calibración como de validación cruzada. Por tanto, se selecciona teniendo en cuenta la mínima distancia y valor de errores, y el mayor porcentaje de varianza explicada (Figura 14).

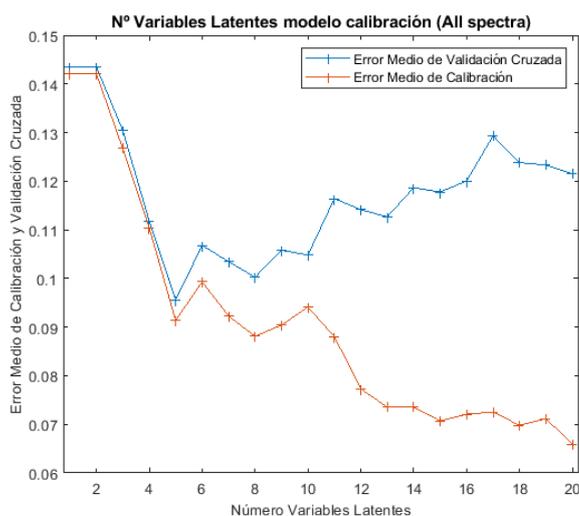


Figura 14: Representación Variables Latentes (LV)

Para el estudio, tal y como se indica en el apartado 3.3 *Material vegetal*, se han realizado 4 tipos de análisis PLS-DA, 1 de ellos con 3 grupos (Co-Y1-Y2) y el resto con 2 grupos (Co-Y1, Y1-Y2, Co-Y2).

Asimismo, se han variado los pretratamientos aplicados a cada grupo de muestras (detallados en el apartado 2.4.5 *Procesado de imágenes*). A todos ellos se ha aplicado a la matriz X por un lado MSC, Detrend, SNV, Smoothing, 1ª derivada y 2ª derivada en solitario y, por otro, combinaciones de dichos pretratamientos. Además, para cada caso de estudio se ha realizado un modelo sin aplicar pretratamientos para comprobar la eficacia de estos. Como resultado, en total se han realizado 52 modelos (13 por cada caso de estudio).

En el caso que considera los 3 grupos de muestras (Co-Y1-Y2) la matriz X tiene una dimensión de 540x224, mientras que en los otros casos (Co-Y1, Y1-Y2, Co-Y2) está formada por las combinaciones de grupos (360x224). Por otro lado, la matriz Y hace referencia a la pertenencia de clase de los datos X, siendo una matriz simulada en código binario con el mismo número de filas que la matriz X y el mismo número de columnas que grupos de clasificación definidos. De este modo, cada fila de Y será un vector de 0 excepto para el componente que pertenece a la muestra de ese grupo que será igual a 1. La dimensión de la matriz Y de los 3 grupos es de y de 360x2 para las matrices formadas por pares de grupos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Validación cruzada: Para garantizar la independencia del modelo se realiza un proceso de validación cruzada dentro de la calibración, que consiste en extraer sucesivamente datos del conjunto de calibración y utilizarlos para validar el modelo generado con el resto. En este estudio se ha usado para la validación cruzada del modelo el método de cortinas venecianas (Venetian Blinds), con 10 divisiones (*splits*) y 1 muestra por división.

Con la finalidad de evaluar la calidad de los modelos, se han empleado diferentes parámetros: la matriz de confusión, de la cual se ha obtenido la sensibilidad, la especificidad y el porcentaje de muestras correctamente clasificadas, así como la varianza explicada.

Matriz de confusión: en esta matriz aparecen plasmados los siguientes parámetros:

- Verdadero positivo (TP, True positive): Indica la cantidad de muestras de la clase “A” clasificadas correctamente en la clase “A”.
- Falso negativo (FN, False Negative): Muestras de la clase “A” que han sido clasificadas como clase “B”.
- Verdadero negativo (TN, True Negative): Indica la cantidad de muestras de la clase “B” clasificadas en la clase “B”.
- Falso positivo (FP, False Positive): Muestras de la clase “B” que han sido clasificadas como clase “A”.

A partir de los parámetros anteriores se define la sensibilidad y la especificidad:

- Sensibilidad: Varía entre 0 y 1. Por tanto, conforme disminuye de 1, el modelo tiene dificultades para diferenciar las muestras de cada grupo.

$$\text{Sensibilidad} = \frac{TP}{TP + FN};$$

- Especificidad: Al igual que en la sensibilidad, la especificidad varía entre 0 y 1.

$$\text{Especificidad} = \frac{TN}{FP + TN};$$

A partir de la matriz de confusión también se obtiene el porcentaje de muestras correctamente clasificadas (CC), el cual indica la cantidad de muestras que el modelo ha clasificado correctamente en el grupo que les corresponde:

$$CC = \frac{TP + TN}{\text{Número de muestras clasificadas}} * 100;$$

MATERIAL Y MÉTODOS

Además de los parámetros mencionados se ha determinado la varianza. Esta medida de dispersión indica la esperanza con que los datos están representados (medida en porcentaje).

Validación externa: Para realizar validación del modelo se han utilizado las matrices X de las muestras de validación (12 por grupo), las cuales no se han considerado en la elaboración del modelo de calibración. Teniendo en cuenta que hay 4 casos de estudio, que en el caso de los 3 grupos se deben validar todas las muestras (36) y que en los demás casos se validan únicamente las muestras correspondientes (24 en cada caso), en total se han realizado 108 modelos de validación.

4. Resultados y discusión

Una vez que se ha realizado el procesado de imágenes y tratamiento de datos para cada uno de los grupos, se ha llevado a cabo el análisis PLS-DA. Inicialmente se generan distintos modelos en los 4 casos de análisis PLS-DA para los datos destinados a la calibración, es decir, para la validación interna del modelo o validación cruzada. Seguidamente, se analiza el mejor modelo en cada grupo a través de las muestras destinadas a la validación externa del modelo.

4.1 Modelos de calibración para la identificación de la yesca

A la hora de desarrollar los modelos de calibración para la identificación de la presencia de yesca en hojas, en primer lugar se ha construido un modelo de calibración para cada uno de los 4 casos de estudio mediante la matriz X y la matriz Y.

Para generar los modelos de calibración se han aplicado diferentes pretratamientos a los datos espectrales descritos en el apartado 3.6 *Tratamiento de los datos*. Tal y como se ha indicado se han realizado 52 modelos, 13 por caso de estudio (12 con pretratamientos y 1 sin pretratamientos).

En la Tabla 2 se muestran los grupos analizados, el número de muestras utilizado para la elaboración del modelo, el número de datos eliminados (outliers), el número de variables latentes (LV), la varianza que explica el modelo, así como el porcentaje de muestras clasificadas correctamente (CC) tanto en la calibración (CAL) como en la validación cruzada (CV). Como observa, se han marcado aquellos modelos con mejores resultados para cada caso de estudio, que son los que posteriormente se validarán externamente. Cabe destacar que, para su elección se han tenido en cuenta otros parámetros que no aparecen en la tabla y se detallan más adelante, como el porcentaje de muestras que el modelo no asigna a ninguno de los grupos, el porcentaje de muestras bien clasificadas dentro de cada grupo o la sensibilidad y especificidad de los modelos.

Tabla 2: Resumen y resultados de los análisis PLS-DA

Casos	N	Outliers	LV	Pretratamientos	Varianza (%)	CC _{CAL} (%)	CC _{CV} (%)
Co-Y1-Y2	540	1	4	-	99,97%	79,6%	78,7%
Co-Y1-Y2	540	10	4	MSC	99,96%	79,2%	78,1%
Co-Y1-Y2	540	0	3	Detrend	98,53%	70,4%	70,4%
Co-Y1-Y2	540	10	4	SNV	99,11%	79,1%	78,1%
Co-Y1-Y2	540	5	4	Smoothing	100%	80,7%	80,0%
Co-Y1-Y2	540	0	5	1ªderivada	98,98%	76,1%	75,4%
Co-Y1-Y2	540	2	5	2ªderivada	91,43%	73,8%	71,4%
Co-Y1-Y2	540	0	3	Smoothing+2ªderivada	96,83%	73,5%	72,2%

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Co-Y1-Y2	540	4	5	Smoothing+MSC	100%	79,9%	79,7%
Co-Y1-Y2	540	4	5	Smoothing+SNV	99,95%	79,7%	79,7%
Co-Y1-Y2	540	2	4	Smoothing+1ªderivada	99,47%	75,5%	74,9%
Co-Y1-Y2	540	2	6	1ªderivada+MSC	98,47%	76,8%	75,7%
Co-Y1-Y2	540	0	5	1ªderivada+SNV	98,45%	78,1%	76,7%
Co-Y1	380	0	4	-	99,97%	91,9%	90,0%
Co-Y1	380	1	3	MSC	99,96%	94,4%	93,9%
Co-Y1	380	0	2	Detrend	98,69%	94,2%	94,2%
Co-Y1	380	1	3	SNV	99,39%	94,4%	93,9%
Co-Y1	380	0	3	Smoothing	99,99%	91,1%	91,1%
Co-Y1	380	0	4	1ªderivada	99,15%	93,6%	93,9%
Co-Y1	380	2	4	2ªderivada	92,67%	91,3%	90,8%
Co-Y1	380	0	2	Smoothing+2ªderivada	97,25%	93,1%	92,8%
Co-Y1	380	0	3	Smoothing+MSC	99,99%	94,4%	94,7%
Co-Y1	380	0	3	Smoothing+SNV	99,91%	94,7%	94,7%
Co-Y1	380	0	2	Smoothing+1ªderivada	99,42%	93,6%	93,6%
Co-Y1	380	0	4	1ªderivada+MSC	98,98%	93,9%	93,9%
Co-Y1	380	0	3	1ªderivada+SNV	91,88%	94,2%	93,6%
Y1-Y2	380	0	3	-	99,97%	91,9%	91,1%
Y1-Y2	380	2	2	MSC	99,95%	90,8%	90,5%
Y1-Y2	380	0	2	Detrend	98,11%	90,8%	89,7%
Y1-Y2	380	6	3	SNV	98,83%	91,0%	90,4%
Y1-Y2	380	0	5	Smoothing	100%	95,3%	94,7%
Y1-Y2	380	0	4	1ªderivada	98,11%	90,6%	90,6%
Y1-Y2	380	2	3	2ªderivada	67,87%	86,6%	85,2%
Y1-Y2	380	0	3	Smoothing+2ªderivada	96,1%	89,7%	88,6%
Y1-Y2	380	0	4	Smoothing+MSC	100%	90,6%	90,0%
Y1-Y2	380	2	4	Smoothing+SNV	99,89%	90,5%	89,9%
Y1-Y2	380	0	2	Smoothing+1ªderivada	98,86%	89,7%	90,0%
Y1-Y2	380	1	6	1ªderivada+MSC	98,19%	93,6%	93,0%
Y1-Y2	380	0	4	1ªderivada+SNV	97,67%	90,8%	90,6%
CO-Y2	380	0	5	-	99,98%	99,2%	99,2%
CO-Y2	380	0	8	MSC	99,97%	100%	99,4%
CO-Y2	380	1	4	Detrend	98,56%	99,7%	99,4%
CO-Y2	380	0	8	SNV	99,12%	100%	99,4%
CO-Y2	380	1	3	Smoothing	99,99%	99,2%	99,2%
CO-Y2	380	0	5	1ªderivada	99,03%	99,4%	99,2%
CO-Y2	380	3	4	2ªderivada	91,21%	99,4%	99,2%
CO-Y2	380	0	3	Smoothing+2ªderivada	96,68%	99,4%	98,9%
CO-Y2	380	4	7	Smoothing+MSC	100%	100%	99,7%
CO-Y2	380	4	7	Smoothing+SNV	99,96%	100%	99,7%
CO-Y2	380	0	4	Smoothing+1ªderivada	99,43%	100%	99,7%
CO-Y2	380	3	6	1ªderivada+MSC	98,69%	100%	99,7%
CO-Y2	380	1	5	1ªderivada+SNV	98,45%	100%	99,7%

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tal y como se observa, en todos los modelos considerados como mejores se aplica el tratamiento Smoothing, y en tres de los cuatro casos es acompañado por SNV. Esto es debido a que con el pretratamiento Smoothing se consigue un suavizado de los datos, reduciendo el ruido, la dispersión, así como la información irregular que se da si no se aplican pretratamientos.

Los porcentajes de muestras clasificadas correctamente varían dependiendo de los pretratamientos aplicados, aunque esta es escasa, especialmente en el caso Co-Y2. En todos los grupos el porcentaje de muestras correctamente clasificadas en la validación cruzada es bastante elevado, superior al 70%. Los menores porcentajes se dan en caso Co-Y1-Y2, puesto que la cuantía de datos de distintos grupos hace que los modelos clasifiquen peor las muestras dentro de su grupo. Además, se han eliminado algunos datos que se comportan de forma distinta al resto (outliers).

Cabe destacar que, en todos los casos de estudio el modelo en el que no se han aplicado pretratamientos tiene un porcentaje de muestras bien clasificadas más bajo que el resto, por lo que se demuestra que la aplicación de pretratamientos es esencial para conseguir un modelo con un porcentaje superior de muestras clasificadas correctamente. Esto también se verifica a partir de los espectros de reflectancia de la matriz X (Figura 15).

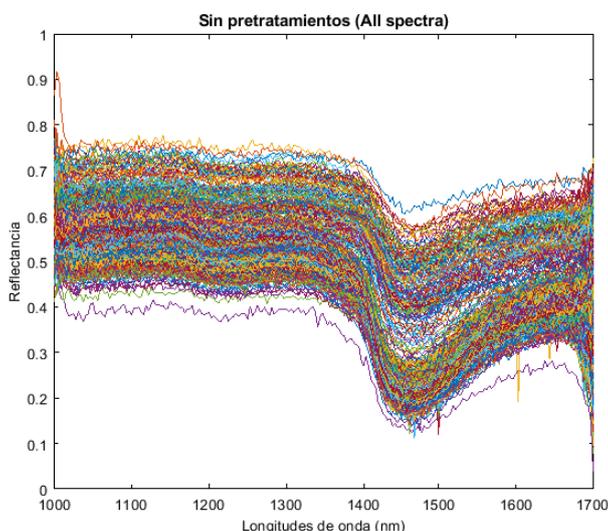


Figura 15: Espectros de reflectancia sin pretratamientos

Una vez que se han aplicado los pretratamientos, se observa como los espectros de reflectancia de la matriz X se suavizan, disminuyendo el ruido espectral e información irregular, tal y como se observa a continuación, donde se muestra el ejemplo de los pretratamientos aplicados al modelo con mejores resultados del caso Co-Y1-Y2.

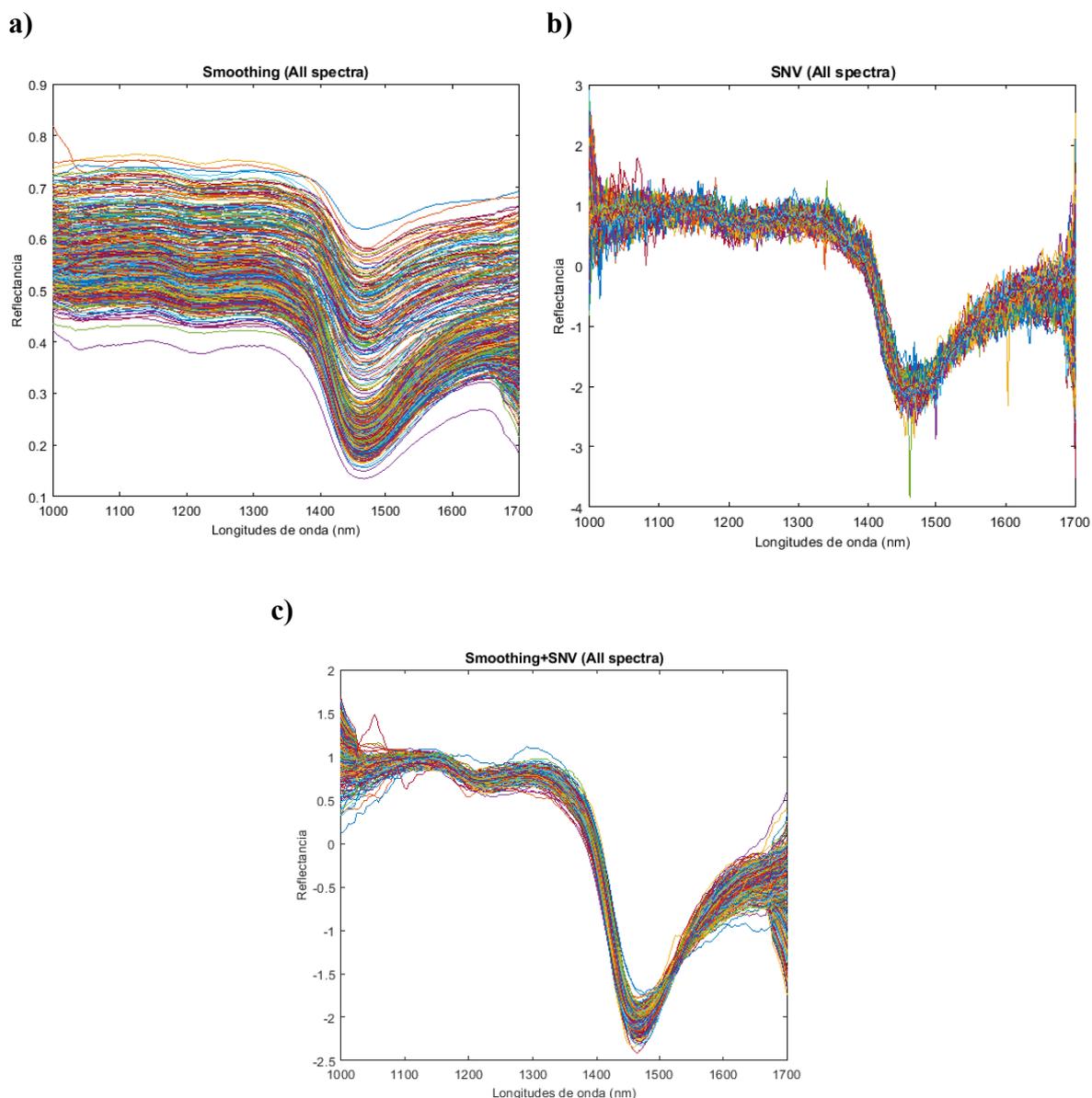


Figura 16: Espectros de reflectancia: a) Smoothing b) SNV c)Smoothing+SNV

A continuación, se detallan los resultados de clasificación obtenidos para los mejores modelos de los 4 casos de estudio.

➤ Co-Y1-Y2

Para clasificar los tres grupos de muestras (Co, Y1, Y2), se han obtenido los mejores resultados con el modelo formado por la combinación de pretratamientos Smoothing+SNV. Las LV consideradas en este modelo han sido 5.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 3: Matriz de confusión para Co-Y1-Y2 con Smoothing+SNV

			Grupo real (%)		
			Co	Y1	Y2
Grupo estimado (%)	Calibración	Co	78,3%	0,6%	0%
		Y1	5,6%	85,6%	9,7%
		Y2	0%	1,1%	75,0%
		Sin asignar	16,1%	12,8%	15,3%
	Validación cruzada	Co	78,9%	1,1%	0%
		Y1	5,0%	85,6%	10,2%
		Y2	0%	1,1%	74,4%
		Sin asignar	16,1%	12,2%	15,3%

En la Tabla 3 se observa que tanto en la calibración como en la validación cruzada se obtienen buenos resultados en la diferenciación del grupo Y1 (yesca sin síntomas) frente a los otros grupos, puesto que clasifica correctamente el 85,6 % de las muestras. En los grupos Co (control) e Y2 (yesca con síntomas), aunque los resultados son algo más bajos (entre 74-80%), también se puede considerar que el modelo es capaz de diferenciar ambos grupos. No obstante, en todos los grupos hay un porcentaje elevado de muestras que el modelo no clasifica dentro de los grupos, siendo el caso de las muestras Co el que mayor porcentaje presenta (16,1%).

Tabla 4: Sensibilidad y especificidad Co-Y1-Y2 con Smoothing+SNV

	Sensibilidad		Especificidad	
	Calibración	Validación cruzada	Calibración	Validación cruzada
Co	0,939	0,944	0,969	0,969
Y1	0,961	0,956	0,770	0,767
Y2	0,835	0,818	0,978	0,972

A través de los parámetros de sensibilidad y especificidad (Tabla XX) se confirma como este modelo clasifica bien los grupos Co e Y2, dado que la sensibilidad, así como la especificidad son elevadas. Sin embargo, esto contrasta con las bajas cifras de especificidad que aparecen en el grupo Y1 (en torno al 0,7), a diferencia de lo que ocurre en la sensibilidad que es de más del 0,95, por lo que el modelo no clasifica de forma óptima el grupo Y1. Esto se debe a que el porcentaje de muestras de los otros grupos (5% de Co y 10% de Y2) se clasifican erróneamente como del grupo Y1, haciendo que disminuya el valor de especificidad de este grupo.

➤ Co-Y1

Para diferenciar el grupo Co frente al Y1 se ha considerado como mejor modelo realizado con los pretratamientos Smoothing+SNV. El número de LV consideradas en este modelo ha sido 3. Se obtiene la matriz de confusión que se presenta en la Tabla 5.

Tabla 5: Matriz de confusión para Co-Y1 con Smoothing+SNV

				Grupo real (%)	
				Co	Y1
Grupo estimado (%)	Calibración	Co	91,1%	1,7%	
		Y1	8,9%	98,3%	
		Sin asignar	0%	0%	
	Validación cruzada	Co	91,1%	1,7%	
		Y1	8,9%	98,3%	
		Sin asignar	0%	0%	

Tal y como se muestra, dicho modelo diferencia muy bien el grupo Y1 del Co, dado que únicamente el 1,7% de las muestras dentro de este grupo, tanto en la calibración como en la validación cruzada, se clasifican erróneamente como del grupo Co. Asimismo, cabe destacar que no se queda ninguna de las muestras sin clasificar dentro de los dos grupos. Este caso de estudio es uno de los más dificultosos de diferenciar a nivel práctico y también el más interesante, dado que las muestras Y1 presentan la enfermedad pero no síntomas a simple vista, por lo que se puede afirmar que el modelo clasifica perfectamente estos dos grupos.

Tabla 6: Sensibilidad y especificidad Co-Y1 con Smoothing+SNV

	Sensibilidad		Especificidad	
	Calibración	Validación cruzada	Calibración	Validación cruzada
Co	0,911	0,911	0,983	0,983
Y1	0,983	0,983	0,911	0,911

Con respecto a los valores de sensibilidad y especificidad obtenidos en la Tabla 6, en todos los casos son superiores a 0,9, lo que demuestra la capacidad del modelo para distinguir los 2 grupos de hojas.

➤ Y1-Y2

El modelo en el que se ha aplicado como pretratamiento Smoothing es el que mejores resultados ha obtenido en la diferenciación de los grupos Y1 e Y2. Las LV consideradas en este modelo han sido 3.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 7: Matriz de confusión para Y1-Y2 con Smoothing.

Grupo estimado (%)	Calibración	Y1 Y2 Sin asignar	Grupo real (%)	
			Y1	Y2
			97,2%	6,7%
Validación cruzada	Y1 Y2 Sin asignar	97,2%	7,8%	
		2,8%	92,2%	
		0%	0%	

Dicho modelo (Tabla 7), clasifica correctamente un 97,2 % de las muestras de Y1, tanto en la validación cruzada como en calibración, así como un 93,3% (calibración) y 92,2% (validación cruzada) en el caso de Y2, por lo que se puede considerar que diferencia correctamente las muestras del grupo Y1 de las Y2. Este caso podría ser el más difícil de clasificar a nivel espectral pero no visualmente, ya que aunque las muestras Y1 no presentan los síntomas visuales se supone que están afectadas por la enfermedad. Por ello se concluye que el modelo clasifica de forma óptima estos grupos.

Tabla 8: Sensibilidad y especificidad para Y1-Y2 con Smoothing

	Sensibilidad		Especificidad	
	Calibración	Validación cruzada	Calibración	Validación cruzada
Y1	0,972	0,972	0,933	0,928
Y2	0,933	0,928	0,972	0,972

Según la sensibilidad y especificidad del modelo, se comprueba cómo este presenta unos valores elevados de sensibilidad dentro del grupo Y1 (0,972) y algo menores de especificidad (0,933), y de forma contraria ocurre con el grupo Y2. Por lo que se verifica que los datos clasificados como Y1 corresponden casi siempre con dicho grupo, aunque hay algunas excepciones.

➤ Co-Y2

Finalmente, el modelo Smoothing+SNV es el que mejores resultados presenta para el caso Co e Y2. En este caso, el número de LV consideradas ha sido de 7. Con este modelo se han obtenido los resultados de la matriz de confusión (Tabla 9):

Tabla 9: Matriz de confusión para Co-Y2 con Smoothing+SNV

			Grupo real (%)	
			Y1	Y2
Grupo estimado (%)	Calibración	Co	100%	0%
		Y2	0%	100%
		Sin asignar	0%	0%
	Validación cruzada	Co	100%	0,6%
		Y2	0%	99,4%
		Sin asignar	0%	0%

Sin duda alguna este modelo diferencia a la perfección entre los datos del grupo Co y los del grupo Y2, ya que en ambos casos el porcentaje de muestras clasificadas correctamente dentro de los grupos se puede considerar del 100%.

Tabla 10: Sensibilidad y especificidad para Co-Y2 con Smoothing+SNV

	Sensibilidad		Especificidad	
	Calibración	Validación cruzada	Calibración	Validación cruzada
Co	1	1	1	0,994
Y2	1	0,994	1	1

Los valores de sensibilidad y especificidad (Tabla 10) demuestran lo percibido en la matriz de confusión. Este modelo no tiene ningún problema en discriminar entre el grupo Co e Y2, ya que en ambos grupos la sensibilidad y especificidad ronda el 1.

4.2 Validación de los modelos de clasificación de la yesca

Una vez generados los modelos de calibración se realiza la validación externa de los mismos. Para ello, como se ha mencionado anteriormente, se han utilizado las matrices X de las muestras de validación (12 muestras por grupo). Teniendo en cuenta que hay 4 casos de estudio y que el número de muestras a validar es diferente en cada caso (36 para el de 3 grupos y 24 para los de 2), se han llevado a cabo un total de 108 modelos de validación (cada muestra se valida de forma independiente).

A continuación, se muestran los resultados obtenidos en la validación de los mejores modelos considerados para cada caso de estudio. Para ello se ha necesitado obtener de cada muestra su respectivo hipercubo normalizado (eliminando las 33 primeras longitudes de onda), la máscara, la probabilidad de pertenencia de cada uno de los píxeles a las clases consideradas, así como el porcentaje de píxeles de los diferentes grupos dentro de la imagen. Todo se ha realizado empleando *scripts* desarrollados para ese fin.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Únicamente se van a detallar los resultados de los casos de estudio Co-Y1-Y2 y Co-Y1, puesto que el primero es el ensayo más completo al reunir los tres grupos, y el segundo es el que realmente interesa ya que posibilita la identificación precoz de la enfermedad.

➤ Co-Y1-Y2

En la Figura 17 se muestra el gráfico en el que se representan el porcentaje de píxeles que se han clasificado en cada grupo. En este hay que fijarse en los tres ejes (porcentajes T1, T2 y T3) que hacen referencia a Co, Y1 e Y2 respectivamente. Cada punto (muestra) se traslada a los tres ejes dependiendo de las líneas que cruzan el gráfico. En el caso del porcentaje T1 hay que fijarse en las líneas que cruzan en el sentido oeste-sur, para el porcentaje T2 en las este-sur y para el porcentaje del eje T3 en las líneas horizontales.

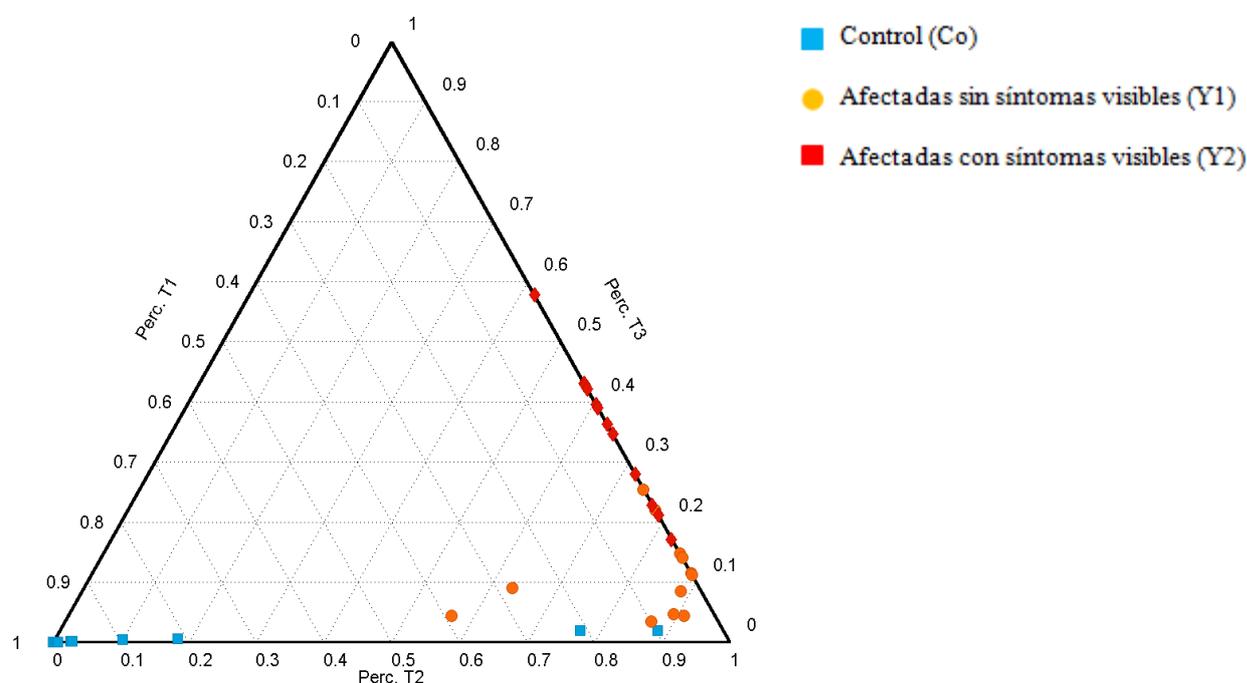


Figura 17: Porcentaje de píxeles clasificados dentro de cada muestra, caso Co-Y1-Y2

Tal y como se observa, en el grupo Control la mayoría de las muestras poseen entre un 80 y 100% de píxeles de T1 (Co), mientras que tan solo entre un 0 y 20% de T2 (Y1) y un 0% de T3 (Y2). Respecto al grupo de hojas enfermas sin síntomas visibles (Y1), gran parte de las muestras tienen 80-90% de píxeles de T2 (Y1), entre 0-10% de T1 (Co) y un 0-20% de T3 (Y2). Finalmente todas las hojas enfermas con síntomas poseen entre 20-60% de píxeles de T3 (Y2), entre 40-85% de T2 (Y1) y 0% de T1 (Co).

A continuación, se comparan algunas de las visualizaciones del caso de estudio Co-Y1-Y2 con sus respectivas fotografías de las hojas, tomadas en el momento de su recogida, con el fin de comprobar si la visualización corresponde con la realidad

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

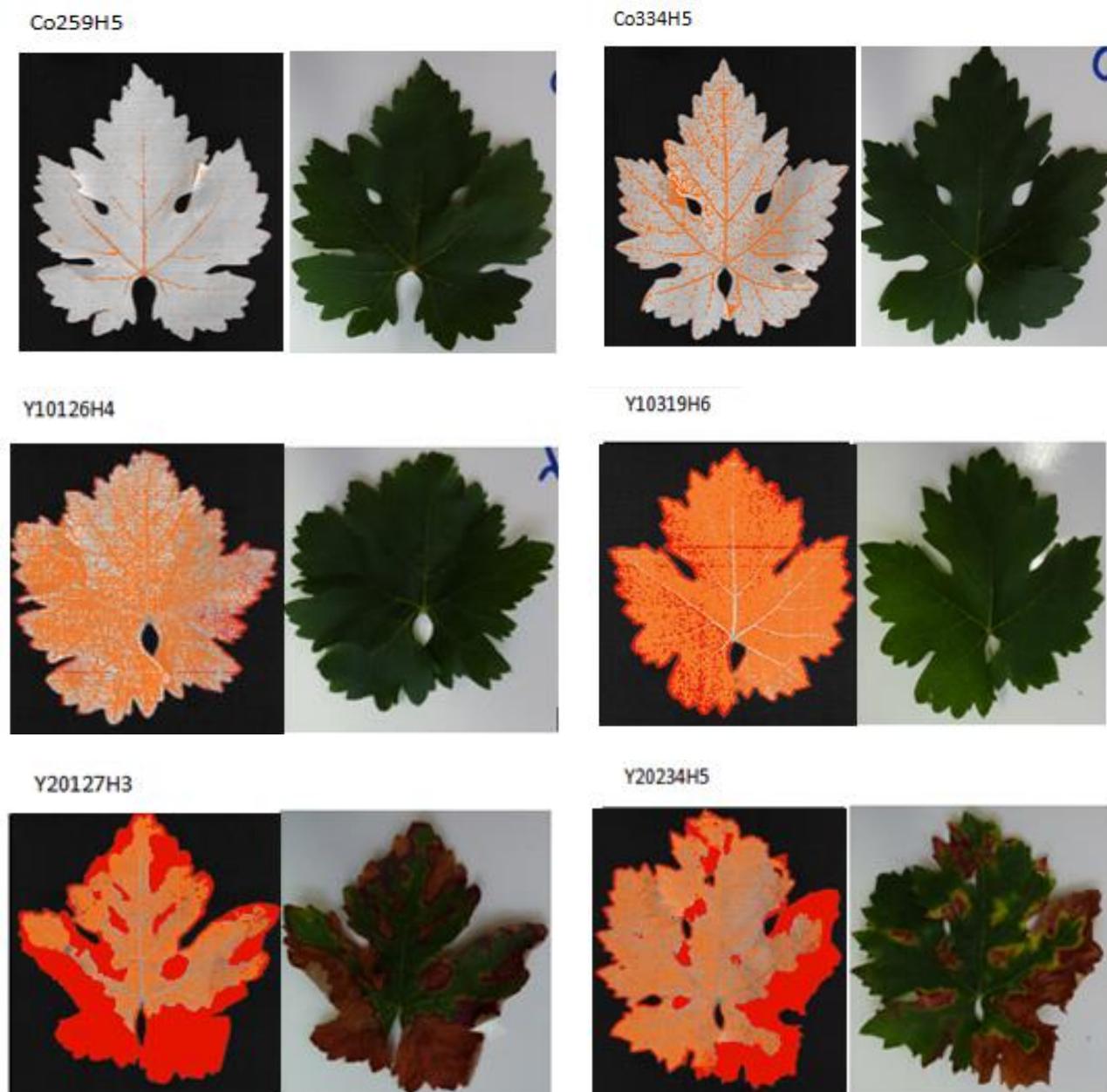


Figura 18: Comparativa entre visualización (rojo: enfermo visible, naranja: enfermo no visible, gris: sano) y hoja real

A partir de las visualizaciones (Figura 18), siendo el color rojo píxeles enfermos visibles, el naranja píxeles con enfermedad no visible y el gris píxeles sanos, se comprueba como en las hojas sanas (Co) los píxeles naranjas, debidos principalmente a la representación de los nervios de la hoja, son poco significativos. Además, no aparecen píxeles rojos. Por tanto se puede asegurar que las visualizaciones concuerdan con la información del gráfico, y que este modelo (Smoothing+SNV) clasifica perfectamente las muestras Co.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En cuanto a las muestras con síntomas no visibles (Y1) en las visualizaciones aparecen una gran parte de los píxeles con enfermedad no visible, una menor parte de la hoja la forman sanos y apenas se observan píxeles enfermos visibles. Esto se asemeja a lo dictado por el gráfico, ya que aproximadamente el 90% de los píxeles pertenecen a T2 (Y1). Por lo tanto se confirma que, el modelo diferencia correctamente las hojas con enfermedad no visible (Y1) de las control (Co) y las que tienen síntomas visibles (Y2). Por último, con respecto al grupo Y2, en las visualizaciones concuerdan los píxeles enfermos visibles en rojo con las zonas afectadas en la imagen real, y además se verifica la información que aporta el gráfico ya que clasifica una gran parte de los píxeles pertenecientes como T3 (Y2) y otra fracción más pequeña a T2 (Y1).

Esto se asemeja a lo obtenido por Levasseur-Garcia et al. (2016), puesto que en este ensayo se consiguió un 80% de muestras afectadas correctamente identificadas. Su objetivo era estudiar un sistema de diagnóstico para detectar los agentes que causan las enfermedades de la madera en vid en el espectro del MIR (2500-22222 nm) mediante la utilización del análisis multivariante PCA y aplicando diferentes pretratamientos a los datos (Sin pretratamientos, 1ª derivada, 2ª derivada, SNV). Asimismo, Picon et al. (s.f.) en su estudio basado en la detección temprana de mildiu en viñedos mediante imágenes hiperespectrales en las longitudes del NIR (970-2500 nm), estimó que su ensayo predecía correctamente en más de un 97% las muestras sanas y enfermas.

➤ Co_Y1

A continuación, se representa el porcentaje de píxeles que se han clasificado como sanos en cada una de las muestras validadas en este caso de estudio.

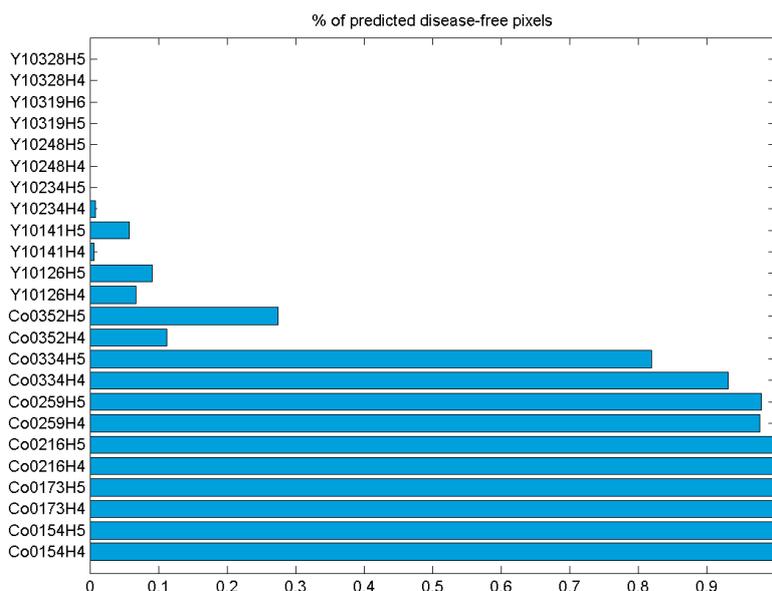


Figura 19: Porcentaje de píxeles clasificados como sanos dentro de cada muestra, caso Co-Y1

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como se observa en la Figura 19, gran parte de las muestras control (Co) apenas poseen píxeles enfermos (100% píxeles sanos), a excepción de dos muestras. Todo lo contrario ocurre con las muestras enfermas sin síntomas visibles (Y1), las cuales casi no tienen píxeles sanos (entre 0-10% píxeles sanos).

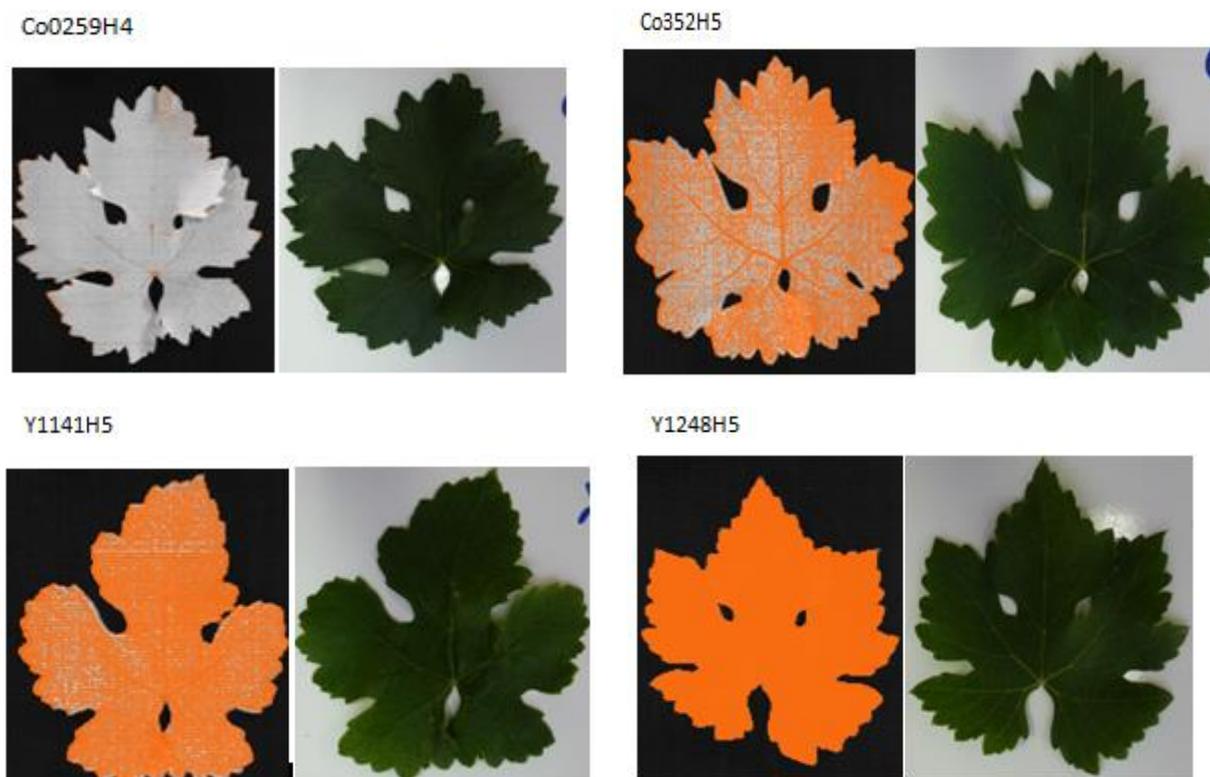


Figura 20: Comparativa entre visualización (naranja: enfermo no visible, gris: sano) y hoja real

La información de las visualizaciones concuerda con la que proporciona el gráfico, dado que las muestras control apenas tienen píxeles naranjas, es decir, enfermos no visibles. Sin embargo, las muestras con enfermedad no visible apenas poseen píxeles sanos. Por tanto el modelo Smoothing+SNV clasifica perfectamente los píxeles enfermos frente a los sanos, y por ende las muestras Y1 frente a Co.

En el caso Y1-Y2 (datos no mostrados) como cabe esperar las muestras con síntomas (Y2) poseen píxeles Y1 (algunas hasta un 70% de píxeles Y1), ya que no solamente las zonas visibles se encuentran enfermas, sino que la hoja al completo está afectada. En el caso de estudio Co frente a Y2, el modelo diferencia adecuadamente los píxeles enfermos con síntomas visibles de los sanos.

5. Conclusiones

A partir de los resultados observados anteriormente, se concluye lo siguiente:

- Las enfermedades de la madera en vid son una de las preocupaciones actuales del sector vitivinícola, ya que producen graves impactos económicos en el sector.
- En casi todos los modelos de calibración en los que se ha obtenido los mejores resultados se ha aplicado el tratamiento Smoothing junto a SNV, consiguiendo un porcentaje de muestras correctamente clasificadas superior al 79,7%.
- En cuanto al análisis quimiométrico PLS-DA del experimento Co-Y1-Y2, en primer lugar se concluye que el modelo clasifica perfectamente las muestras control (80-100% píxeles). Respecto a la muestras Y1, no se observa enfermedad a simple vista, sin embargo, se ha comprobado como casi la totalidad de la hoja (80-90% píxeles) se encuentra afectada. Por otro lado, se puede deducir que en las hojas infectadas con síntomas visibles (Y2) también hay síntomas no apreciables a simple vista (Y1).
- El análisis quimiométrico PLS-DA para el experimento Co_Y1 vuelve a corroborar que las muestras control apenas poseen píxeles clasificados como con síntomas, sin embargo, en las muestras con síntomas no visibles (Y1) el 90% de la superficie de la hoja está afectada aunque no aparezcan síntomas visibles.
- En este ensayo se certifica que a pesar de no existir síntomas visibles en toda la superficie de la hoja, cuando la enfermedad penetra se propaga por ella infectando a todas las células de la hoja, y cuando el grado de enfermedad es elevado los síntomas se hacen visibles pudiendo ser tarde para llevar a cabo medidas de control. No obstante, el modelo diferencia las muestras sanas de las infectadas sin síntomas, por lo que cabría la posibilidad de tomar medidas de control acertadas en las hojas enfermas al encontrarse en un estadio temprano de la enfermedad.
- El empleo de imágenes hiperespectrales posee un gran potencial para detectar los síntomas en hojas de vid, que son provocados por enfermedades como la yesca.
- Es necesario continuar realizando ensayos en un futuro, con el fin de conseguir detectar en qué momento de la enfermedad los síntomas pasan a ser visibles para que el tratamiento sea eficaz.

6. Bibliografía

- Abad, J.M.; Alameda, D. & Galán, J. (2018). El vino en el mundo: Italia el que más produce, España el que más consume y EEUU donde se lo beben. Economía. Datos. El País.
https://elpais.com/economia/2018/04/26/actualidad/1524755902_232432.html
- Amigo, J.M.; Babamoradi, H & Elcoroaristizabal, S. (2015). Hyperespectral image analysis. A tutorial. *Analytical Chimica Acta* 1-18
- Armengol, J. (2017). Enfermedades fúngicas de la madera de la vid. Una visión general del problema. *Enoviticultura. Especial 2017. Enfermedades de la madera de la vid. Cómo cuidar los viñedos para que vuelvan a vivir 100 años.* (46), 6-15.
- Ballabio, D. & Consonni, V. (2013). Classification tolos in chemistry. Part 1: linear models. PLS-DA. Tutorial Review. *Analytical methods.* (5), 3790.
- Benito Sáez, P. (2015). Morfología de la vid (*Vitis vinifera L.*)
<http://urbinavinos.blogspot.com/2015/08/morfologia-de-la-vid-vitis-vinifera-l.html>
- Beltrán, R.; Ledó, C.; Armengol, J. & García-Jiménez, J. (2004). Variabilidad temporal de la expresión de síntomas externos en una parcela de vid afectada de “yesca”. *Bol. San. Veg. Plagas. Patología.* (30), 77-84.
<https://www.miteco.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/plagas/BSVP-30-01-01-077-084.pdf>
- De Cara García, J.A (s.f.). Características agroclimáticas de la vid (*Vitis vinifera L. subsp. vinifera*). Servicio de Aplicaciones Agrícolas e Hidrológicas. AEMet
<http://www.divulgameteo.es/uploads/Caracter%C3%ADsticas-vid.pdf>
- Dorrepaal, R.; Malegori, C. & Gowen, A. (2016). Tutorial: Time series hyperespectral image analysis. *Near Infrared Spectrosc* (24), 89-107.
- ElMasry, G.; Kamruzzaman, M.; Sun, D.W. & Allen, P. (2012). Principles and Applications of Hyperespectral Imaging in Quality Evaluation of Agro-Food Products: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition.* (52 :11), 999-1023
- ElMasry, G. & Nakauchi, S. (2016). Image analysis operations applied to hyperspectral images for non-invasive sensing of food quality- A comprehensive review. *Biosystems Engineering* (142), 53-82.
- Gramaje, D.; Instituto de Ciencias de la Vid y el Vino (ICVV); Gobierno de la Rioja;

BIBLIOGRAFÍA

- Universidad de la Rioja; CSIC & Viveros Villanueva (2018) Poster Yesca.
- Gramaje, D. (2017). Enfermedades de la madera de la vid: situación actual y estrategias de control. Jornadas Vitivinícolas. Instituto de Ciencias de la Vid y del Vino (ICVV). <http://www.agro-alimentarias.coop/ficheros/doc/05562.pdf>
- Gramaje, D. (2017). Enfermedades de la madera de la vid: ¿Han estado los hongos siempre ahí? Enoviticultura. *Especial 2017. Enfermedades de la madera de la vid. Cómo cuidar los viñedos para que vuelvan a vivir 100 años.* (46), 16-27.
- Gobierno de Navarra. (2018). Vida Rural. Observatorio Agrario. Otras estadísticas. Programas anuales de estadística https://www.navarra.es/home_es/Temas/Ambito+rural/Vida+rural/Observatorio+agrario/Otras+estadisticas/Programas+Anuales+de+Estadistica/2016/
- Gobierno de Navarra. (2019). Meteo Navarra. Meteorología y climatología de Navarra. Fichas climáticas. Estación Olite MAN. http://meteo.navarra.es/climatologia/fichasclimaticas_estacion.cfm?IDestacion=186
- Gobierno de Navarra. (2019). Sistema de Información Territorial de Navarra (SITNA). <http://sitna.navarra.es/>
- Gowen, A.A.; O'Donnell, C.P.; Cullen, P.J., Downey, G. & Frias, J.M. (2007) Hyperspectral imaging-an emerging process analytical tool for food quality and safety control. *Trends in Food Science & Technology.* (18), 590-598.
- Levasseur-Garcia, C. ; Malaurie, H. & Mailhac, N. (2016). An infrared diagnostic system to detect causal agents trunk diseases. *Journal of Microbiological Methods* (131), 1-6.
- López Maestresalas, A. (2016). Near-infrared spectroscopy and hyperspectral imaging for non-destructive quality inspection of potatoes.
- Martín, M.P.; Barreto, L. & Fernandez, C. (s.f.) Teledetección y agricultura de precisión: un ejemplo de aplicación a la cartografía de malas hierbas en cultivos de cereal. http://www.age-geografia.es/tig/docs/XII_2/072%20-%20Martin%20Isabel%20et%20al.pdf
- Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (MAPA). (1998). Los parásitos de la vid: estrategias de protección razonada.
- Organisation Internationale de la Vigne et du Vin (OIV) (2017). Aspectos de la coyuntura mundial <http://www.oiv.int/public/medias/5288/oiv-noteconjmars2017->

[es.pdf](#)

- Organisation Internationale de la Vigne et du Vin (OIV) (2018) Los datos de la coyuntura vitivinícola mundial. Comunicado de prensa. <http://www.oiv.int/public/medias/6305/oiv-comunicado-de-prensa-los-datos-de-la-coyuntura-vitivin-c.pdf>
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). (2018). Estadísticas. Datos <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC>
- Picon, A.; Rodriguez-Vaamonde, S. & Díez-Navajas, A. (s.f.). Early detection of downy mildew in vineyards based on hyperspectral imaging.
- Royo, J.B.; Palacios, J. & Santesteban, L.G. (2017). Importancia del manejo del viñedo para la prevención de las enfermedades de la madera. *Enoviticultura. Especial 2017. Enfermedades de la madera de la vid. Cómo cuidar los viñedos para que vuelvan a vivir 100 años.* (46), 46-67
- Siesler, H. (2008). *Near-Infrared Spectroscopy: Principles, Instruments, Applications.*
- Smart, R. (2017). El protocolo “Timely Trunk Renewal (TTR), una solución para las enfermedades de la madera de la vid. *Enoviticultura. Especial 2017. Enfermedades de la madera de la vid. Cómo cuidar los viñedos para que vuelvan a vivir 100 años* (46), 78-84.
- Sun, D.W. & Wu, D. (2013). Advanced applications of hyperspectral imaging technology for food quality and safety analysis and assessment : A review-Part I : Fundamentals. *Innovative Food Science and Emerging Technologies.* (19); 1-14.
- Terral, J.F.; Tabard, E.; Bouby, L.; Ivorra, S.; Pastor, T.; Figueiral, I.; Picq, S.; Chevance, J.B.; Jung, C.; Fabre, L.; Tardy, C.; Compan, M.; Bacilieri, R.; Lacombe, T. & This, P. (2010). Evolution and history of grapevine (*Vitis vinifera*) under domestication: new morphometric perspectives to understand seed domestication syndrome and reveal origins of ancient European cultivars 105(3), 443–455.
- UPM. (s.f.). Morfología de la vid (*Vitis vinifera* L.) Grupo de investigación en viticultura <http://ocw.upm.es/produccion-vegetal/viticultura/contenidos/tema1morfologia.pdf>
- Yáñez, F. (s.f.) Origen, Historia y Evolución del Cultivo de la Vid <http://genderi.org/origen-historia-y-evolucion-del-cultivo-de-la-vid.html>